

СОВРЕМЕННЫЕ БИОМАРКЕРЫ СТАРЕНИЯ И КОГНИТИВНЫХ РАССТРОЙСТВ

Е. Хаммад, кандидат медицинских наук
Лечебно-реабилитационный центр Минздрава России, Москва
E-mail: info@med-rf.ru

Приведены современные новые биомаркеры старения. Обозначены перспективные возможности биомолекулярной медицины в ранней диагностике когнитивных расстройств. Представлены данные о таких новых маркерах, как неконъюгированный билирубин, конечные продукты гликации, металлопротеины, метилирование ДНК, микроРНК.

Ключевые слова: геронтология, биомаркеры старения, когнитивные расстройства, ранняя диагностика, неконъюгированный билирубин, конечные продукты гликации, металлопротеины, метилирование ДНК, микроРНК.

БИОМАРКЕРЫ СТАРЕНИЯ. РАННЯЯ ДИАГНОСТИКА РИСКА РАЗВИТИЯ КОГНИТИВНЫХ РАССТРОЙСТВ (КР)

Старение – естественный мультифакторный процесс, который характеризуется накоплением дегенеративных процессов в ответ на множественные изменения и повреждения молекулярных путей. Эти изменения и повреждения подвергают опасности нормальное функционирование клеток и тканей организма. Как таковой процесс старения является абсолютным фактором риска (ФР) развития практически всех не связанных между собой видов патологии: сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ), рака, диабета, неврологических болезней. К механизмам, влияющим на процесс старения и развитие указанных заболеваний, относят: повреждение структуры ДНК; изменения в генах и экспрессии некодирующих микроРНК (миРНК); генотоксичность; оксидативный стресс; укорочение теломера. Для объяснения феномена старения предложено множество теорий, но ни одна из них не может полностью объяснить механизмы старения на фундаментальном уровне. Однако в понимании процесса старения за последние годы произошел значительный прогресс благодаря осмыслению данных этих теорий. Исходя из главных их выводов, старение представляет собой мультифакторный процесс взаимодействия между биологическими и молекулярными механизмами. На сегодня не существует единого набора биомаркеров, которые было бы легко выявить и применить для корректной оценки естественного процесса старения. Однако выявление таких биомаркеров – важнейшая задача, решение которой обеспечило бы возможность анализа состояния здоровья в процессе старения и прогнозирования нарушений на самых ранних этапах их развития [1, 2].

Не менее важно научиться определять состояние здоровья, оптимальное для пациентов того или иного возраста. Необходимо также различать нормальное биологическое старение и состояние, при котором здоровье подвержено наибольшему риску. Определение критериев такой оценки – серьезная задача, над решением которой сегодня ломают головы

лучшие ученые мира. Однако экспериментальных данных на этот счет пока очень мало, отсутствуют «золотой стандарт» оценки здорового процесса старения и единственный биомаркер, который обладал бы высокой чувствительностью и специфичностью [2].

Одна из наиболее сложных проблем всех развитых стран – ранняя диагностика риска развития КР. Разработаны шкалы и опросники, но они не подтверждены биомолекулярными данными. Критерием, позволяющим заподозрить риск развития КР, является дефицит массы тела, что обусловлено взаимодействием синдрома мальнутриции, приводящего к дефициту массы тела и недостатку питательных веществ, и синдрома КР [3].

Данные, касающиеся показателей пищеварения, довольно разнообразны, хотя исследовалась лишь небольшая группа микроэлементов, включая витамины D, B₁₂, B₆ и фолиевую кислоту. Результаты этих исследований неубедительны и имеют слабую доказательную базу; так, утверждается, что снижение уровня витамина D ведет к высокому риску заболеваемости и КР [4].

Очень интересные биомаркеры старения – N-терминальный мозговой натрийуретический пропептид (NT-proBNP) и сердечный тропонин. Оба маркера связаны с повреждением кардиомиоцитов. Недавно было доказано, что NT-proBNP, уровень которого повышается при сердечной недостаточности, связан с мультиморбидным состоянием, КР и смертностью. Это делает NT-proBNP информативным биомаркером нарушения функции сердечной мышцы при старении. Сердечный тропонин связан с физиологическим обновлением (ремоделированием) миокарда и значимо коррелирует с NT-proBNP. NT-proBNP и сердечный тропонин пригодны как предикторы повреждения сердечной мышцы и развития ССЗ. С другой стороны, их уровень повышается по мере старения вплоть до очень пожилого возраста у здоровых мужчин и женщин, что дает основание расценивать их как биомаркеры старения [5].

СОВРЕМЕННЫЕ НОВЫЕ БИОМАРКЕРЫ СТАРЕНИЯ И РИСКА РАЗВИТИЯ КР

Одним из наиболее удивительных биомаркеров является билирубин – тетрапиррол (белок из 4 пиррольных колец, связанных метановыми мостиками), происходящий из гема – составной части гемоглобина. Билирубин изучается как потенциальный биомаркер резистентности к хроническим неинфекционным заболеваниям. По некоторым данным, небольшое увеличение концентрации билирубина в сыворотке крови ассоциируется с пониженным риском смерти от ССЗ. Следовательно, есть все основания полагать, что билирубин в будущем сможет рассматриваться как биомаркер низкого риска развития хронических заболеваний, а также как новый биомаркер здорового старения [6].

Интересная группа биомаркеров – конечные продукты гликации (КПГ, или Advanced Glycation End products – AGEs), которые тоже относятся к потенциальным биомаркерам здорового старения. Образование после неферментативного гликирования белковых модификаций – нормальное посттрансляционное изменение, возникающее в результате взаимодействия между глюкозой и белковыми аминокислотами. Данный механизм известен также как реакция Майера. Он приводит к образованию КПГ. Примечательно, что КПГ таких долгоживущих белков, как коллаген, накапливаются при нормальном процессе старения и могут участвовать в развитии ССЗ, заболеваний почек и нейроде-

генеративных изменений непосредственно либо опосредованно — через взаимодействия со своими специфическими AGE-рецепторами [7].

Гликирование (неферментативное гликозилирование, реакция Майера) — процесс взаимодействия сахаров с белками или липопротеинами, который приводит к образованию КПП. Последние могут служить ФР развития множества дегенеративных заболеваний, таких как атеросклероз, хроническая почечная недостаточность и болезнь Альцгеймера, а также играют ключевую роль в процессе старения.

КПП влияют практически на все виды клеток организма и рассматриваются как один из ФР развития хронических заболеваний в процессе старения. Считается, что КПП играют также важную роль в возникновении осложнений со стороны сердечно-сосудистой системы при сахарном диабете (СД) типа 2. Под влиянием определенных патологических условий, например под действием оксидативного стресса, у пациентов с гипергликемией и гиперлипидемией образование КПП может значительно превышать допустимый уровень. Известно также, что КПП выступают в роли провоспалительных медиаторов при гестационном СД [7, 8].

Образование и накопление КПП запускает механизмы развития заболеваний, связанных с процессом старения. КПП инициируют внутриклеточные повреждения путем образования поперечных (межмолекулярных) связей (*cross linking*) и вызывают апоптоз, образуют фотосенсибилизаторы в хрусталике глаза, что объясняет их участие в развитии катаракты. Сниженная функция мышечной ткани также ассоциирована с КПП.

КПП вызывают повышенную проницаемость сосудов, повышение АД, ингибируют сосудистую дилатацию при взаимодействии с оксидом азота (NO), запускают процесс окисления липопротеидов низкой плотности в стенках артерий (главный фактор риска развития атеросклероза), связываются с эндотелиальными и мезангиальными клетками и вызывают секрецию цитокинов, усиливают влияние оксидативного стресса на клетку [8].

Белки подвергаются гликированию под действием остатков лизина. В ядрах клеток располагаются гистоны, наиболее богатые лизином. Рецепторы КПП (RAGE) обнаруживаются во многих клетках (эндотелиальные клетки, клетки гладкой мускулатуры, иммунной системы) тканей легких, печени и почек. Связывание рецепторов с КПП приводит к развитию хронических воспалительных заболеваний, сопровождающих процесс старения (атеросклероз, артрит, инфаркт миокарда, нефропатия, ретинопатия, нейропатия и др.). Их патогенез обусловлен активацией ядерного фактора каппа-би (NF-κB) после присоединения КПП к специфическим рецепторам RAGE. NF-κB, в свою очередь, контролирует экспрессию нескольких генов, отвечающих за воспалительный процесс в организме [9].

Кислород очень важен для синтеза биологически активных веществ (например, гормонов и аденозинтрифосфата). Кислород активирует множество внутриклеточных ферментов, вовлекая их в разные стороны жизнедеятельности клетки. Несмотря на то, что кислород — необходимый элемент нормальной жизнедеятельности клетки, активные формы кислорода (АФК) иногда повреждают такие внутриклеточные молекулы, как ДНК и белки (оксидативный стресс). АФК появляются в результате метаболизма, под воздействием ионизирующей радиации и канцерогенов, которые непосредственно взаимодействуют со структурой ДНК и приводят к ее повреждению. В процессе метаболизма небольшая часть

кислорода преобразуется в супероксид-анионы (высокотоксичные кислородные радикалы) из-за потери 1 электрона; затем супероксид-анион последовательно превращается в кислород и пероксид водорода под действием супероксиддисмутазы (СОД). Пероксид водорода восстанавливается до воды с помощью каталазы или глутатионпероксидазы. Однако если ферменты не справляются со своей функцией, ионы железа (II) окисляются пероксидом водорода с образованием крайне реактивного гидроксильного радикала, что вызывает разрушение многих органических веществ клетки (реакция Фентона). Гидроксильный радикал образуется также под воздействием на организм ультрафиолетового облучения или ионизирующей радиации. Гидроксильный радикал взаимодействует с липидами, образуя липидный пероксид. NO, известный также как эндотелиальный фактор релаксации (EDRF), образуется с помощью NO-синтетазы. NO и супероксид-анион могут взаимодействовать с образованием цитотоксичного пироксинитрита [10].

В последнее время оксидативный стресс активно изучался. Целями таких исследований являлись расширение знаний о механизмах защиты и взаимосвязи между оксидативным повреждением и процессом старения. Разработано множество методов обнаружения веществ, относящихся к АФК (супероксид-анионы, СОД, глутатионы, глутатионредуктаза, глутатионпероксидаза и др.) [11].

NO известен также как эндотелиальный фактор релаксации и антиагрегатное вещество. Он играет роль нейротрансмиттера в отношении нейтрофилов и цитотоксического вещества в активированных макрофагах, взаимодействует с супероксид-анионом с образованием высокотоксичного пироксинитрита. Скорость реакции между NO и супероксид-анионом больше таковой при взаимодействии последнего с СОД в 3 раза. Главная роль NO — активация гуанилатциклазы. В связи с тем, что NO является свободным радикалом, он проявляет высокую нестабильность. Все метаболиты NO обладают высокой активностью [12].

К числу новейших биомаркеров старения относятся металлопротеины — низкомолекулярные белки, богатые цистеином. Их функция значительно снижена у пожилых людей. Металлопротеины играют жизненно важную роль в цинковой регуляции транскрипции генов, ответственных за рост, пролиферацию, дифференцировку множества клеток, а также за развитие ключевых молекулярных путей, активирующихся при нервной деятельности. Есть экспериментальные доказательства того, что защитные механизмы, инициированные металлопротеинами, активируются по мере старения мозга и приводят к смягчению последствий оксидативного и нитративного стресса. Металлопротеины могут также выступать в роли акцепторов свободных радикалов и ингибировать формирование телец Чарноли (Charnoly body), сохраняя таким образом защитную функцию митохондрий и их положительное влияние на защиту нервных клеток в процессе старения головного мозга [13].

Совсем недавно была усовершенствована любопытная модель «эпигенетических часов», дополненная анализом мононуклеарных клеток, выделенных из периферической крови долгожителей и их потомков. Модель «эпигенетических часов» представляет собой мультивариантный способ оценки хронологического возраста по уровню метилирования 353 динуклеотидных маркеров, известных также как CpG-островки. Протяженность и структура CpG-островков независимо коррелирует с хронологическим возрастом и смертностью. Необходимы дальнейшие исследования для

ответа на вопрос: являются ли изменения в CpG-участках и старение организма 2 сочетанными механизмами или эти процессы находятся в отношениях причинно-следственной связи. Эпигенетические изменения — лишь один из изучаемых маркеров нарушения молекулярных процессов при старении, который в будущем может стать предиктором здорового старения.

В последнее время изучался новый молекулярный маркер p16NK4a, известный своей способностью ингибировать циклинзависимую киназную активность. Длительная экспрессия p16NK4a способствует физиологическому старению клетки вследствие угнетения ее регенеративной способности и инициации необратимого ареста клеточного цикла. Однако p16NK4a играет важную роль в поддержании гомеостаза, контролируя супрессию опухолевого роста и биологические процессы старения. Сейчас p16NK4a изучается в разных популяциях с использованием разных видов клеток; результаты исследований в дальнейшем позволят использовать его как один из биомаркеров естественного процесса старения [14].

Наконец, миРНК — одноцепочечные некодирующие молекулы РНК, состоящие из 21–23 нуклеотидов, которые регулируют огромный спектр биологических процессов; они также рассматриваются в качестве маркеров старения. Изначально считалось, что эти маленькие молекулы РНК приводят к старению только у круглых червей (*Caenorhabditis elegans*) и по-разному экспрессируют у молодых и пожилых особей. Интересно, что миРНК представляют собой стабильные молекулы даже в сыворотке/плазме, что делает их идеальными маркерами для использования в клинической практике. Из многочисленных миРНК, которые экспрессируют в геноме человека, потенциальными кандидатами для применения в анализе естественного процесса старения являются молекулы miR-146, miR-155, miR-21 и miR-126. Их детальное изучение позволило выявить корреляцию между старением и ухудшением здоровья. В частности, при изучении миРНК удалось дифференцировать начальную стадию болезни Альцгеймера и острых КР с молекулярными процессами у здоровых людей; миРНК могут также служить в качестве циркулирующих биомаркеров старения сердечно-сосудистой системы и других нарушений. Предстоит изучить чувствительность и специфичность миРНК, чтобы научиться отличать нормальный процесс старения от патологического. Как правило, миРНК вызывают «молчание» генов путем связывания с таргетными участками, расположенными на 3'-конце определенной миРНК, что препятствует образованию белка.

Доказано, что миРНК вовлечены в ряд биологически значимых процессов (контроль клеточного цикла, апоптоз, процесс дифференцировки стволовых клеток, гематопоэз, гипоксия, развитие скелетной и сердечной мышц, нейрогенез, секреция инсулина, метаболизм холестерина, механизм старения, иммунный ответ и др.). Помимо этого, высокая тканеспецифическая экспрессия и регуляция экспрессии в строго определенные временные интервалы в ходе эмбриогенеза показывают, что миРНК играют ключевую роль в процессах дифференцировки и обеспечения жизнедеятельности различных тканей [14, 15].

В заключение следует отметить, что на сегодня с использованием самых передовых технологий тестируются огромное множество новых биомаркеров. В перспективе это позволит детальнее изучить нарушения на молекулярном уровне и объяснить последующие изменения, возникающие в клетке.

В связи с востребованностью изучения информативных биомаркеров старения с каждым годом растет число потенциальных кандидатов на проведение молекулярно-генетических исследований. Ожидается, что с помощью метабомики, протеомики и геномики удастся собрать воедино все необходимые знания и выбрать новые, высокоинформативные биомаркеры старения. Однако чтобы окончательно доказать неэффективность классических методов для определения состояния здоровья в процессе старения, может потребоваться дополнительное время. В ближайшем будущем предстоит выяснить, какие именно маркеры получат статус надежных предикторов биологически нормального старения и помогут выявить оптимальный метод оценки состояния здоровья, связанного со старением.

Литература

1. Хавинсон В.Х., Линькова Н.С., Трофимов А.В. и др. Морфофункциональные основы пептидной регуляции старения // Успехи соврем. биол. — 2011; 131 (2): 115–21.
2. Пальцев М.А., Кветной И.И. Руководство по нейроиммуноэндокринологии / М.: Медицина, 2006; 384 с.
3. Larner A. Neurological signs of possible diagnostic value in the cognitive disorders clinic // Pract. Neurol. — 2014; 14 (5): 332–5.
4. Schlogl M., Holick M. Vitamin D and neurocognitive function // Clin. Interv. Aging. — 2014; 2 (9): 76–93.
5. Mirza S., Koudstaal P. The N-terminal pro B-type natriuretic peptide, and risk of dementia and cognitive decline: a 10-year follow-up study in the general population // J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry. — 2016; 87 (4): 356–62.
6. McCarty M. Serum bilirubin may serve as a marker for increased heme oxygenase activity and inducibility in tissues — a rationale for the versatile health protection associated with elevated plasma bilirubin // Med. Hypotheses. — 2013; 81 (4): 607–10.
7. Xue J., Ray R., Singer D. et al. The receptor for advanced glycation end products (RAGE) specifically recognizes methylglyoxal-derived AGEs // Biochemistry. — 2014; 53 (20): 3327–35.
8. Ashraf J., Ahmad S., Choi I. Recent advances in detection of AGEs: Immunochemical, bioanalytical and biochemical approaches // IUBMB Life. — 2015; 67 (12): 897–913.
9. Jahan H., Choudhary M. Glycation, carbonyl stress and AGEs inhibitors: a patent review // Exp. Opin. Ther. Pat. — 2015; 25 (11): 1267–84.
10. Martin D., Grocott M. Oxygen therapy in critical illness: precise control of arterial oxygenation and permissive hypoxemia // Crit. Care Med. — 2013; 41 (2): 423–32.
11. Frijhoff J., Winyard P., Zarkovic N. Clinical Relevance of Biomarkers of Oxidative Stress // Antioxid. Redox. Signal. — 2015; 23 (14): 1144–70.
12. Avdagić N., Začiragić A., Babić N. Nitric oxide as a potential biomarker in inflammatory bowel disease // Bosn. J. Basic Med. Sci. — 2013; 13 (1): 5–9.
13. Thirumoorthy N., Shyam Sunder A., Manisenthil Kumar K. A review of metallothionein isoforms and their role in pathophysiology // World J. Surg. Oncol. — 2011; 9: 54–62.
14. Pashkovskiy P., Ryazansky S. Biogenesis, evolution, and functions of plant microRNAs // Genetics. — 2013; 13 (5): 1156–9.
15. Buermans H., Ariyurek Y., Van Ommen G. New methods for next generation sequencing based microRNA expression profiling // BMC Genomics. — 2010; 11: 716.

MODERN BIOMARKERS OF AGING AND COGNITIVE DISORDERS

E. Hammad, Candidate of Medical Sciences
Medical rehabilitation center, Moscow

The article presents the review of modern new biomarkers of aging. We have given the promising capabilities of biomolecular medicine in the early diagnosis of cognitive disorders. We presents the data on this new marker as an unconjugated bilirubin, end products of glycation, metalloprotein, DNA methylation, microRNA.

Key words: gerontology, biomarkers of aging, cognitive impairment, early diagnosis, an unconjugated bilirubin, end products of glycation, metalloprotein, DNA methylation, microRNA.