

ОБЗОР

©Коллектив авторов

ДЕСЯТЬ ЛЕТ РОССИЙСКОЙ МЕТАБОЛОМИКЕ: ИСТОРИЯ РАЗВИТИЯ И ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

П.Г. Лохов, Е.Е. Балашова*, О.П. Трифонова, Д.Л. Маслов, А.И. Арчаков

¹Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича,
119121, Москва, Погодинская ул., 10; *эл. почта: balashlen@mail.ru

Метабомика — одна из омических наук, технологии которой широко используются сегодня во многих науках о жизни. Её применение дало импульс для открытия новых биомаркеров заболеваний, описания биохимических процессов, протекающих во многих организмах, заложило основы для клинической лабораторной диагностики нового поколения. Целью данного обзора было показать, насколько метаболмика представлена в исследованиях российских ученых, какие основные направления исследований были ими выбраны, продемонстрировать успехи и заслуги отечественной науки в данной области. В обзоре также рассмотрена история возникновения метаболмики, основные её направления, существующие проблемы и место российской метаболмики в их решении.

Ключевые слова: метаболмика; масс-спектрометрия; российская наука; Институт биомедицинской химии; диагностика заболеваний

DOI: 10.18097/PBMC20206604279

ВВЕДЕНИЕ

Метабомика известна как наука, технологическая платформа которой направлена на выявление и количественное измерение совокупностей молекул с низким молекулярным весом, называемых метаболитами. Метаболиты являются субстратами и продуктами почти всех биохимических реакций, протекающих в организме; они играют ключевую роль в генерации энергии, передаче сигналов в клетке, несут информацию о физиологическом состоянии живого организма и протекающих патологических процессах [1-3]. Метабомика является относительно

новой наукой и самой молодой из триады основных омических наук, включающей геномику и протеомику, системно описывающих биологические объекты (рис. 1). Хотя термин “метабол” был впервые предложен в 1998 году, основное развитие метаболмика получила после 2010 года [4].

Изначально метаболмика была описана как инструмент для функциональной геномики, который может быть использован для анализа всех метаболитов, производимых клеткой [5, 6]. Со временем в метаболмике произошли кардинальные события, постепенно меняющие

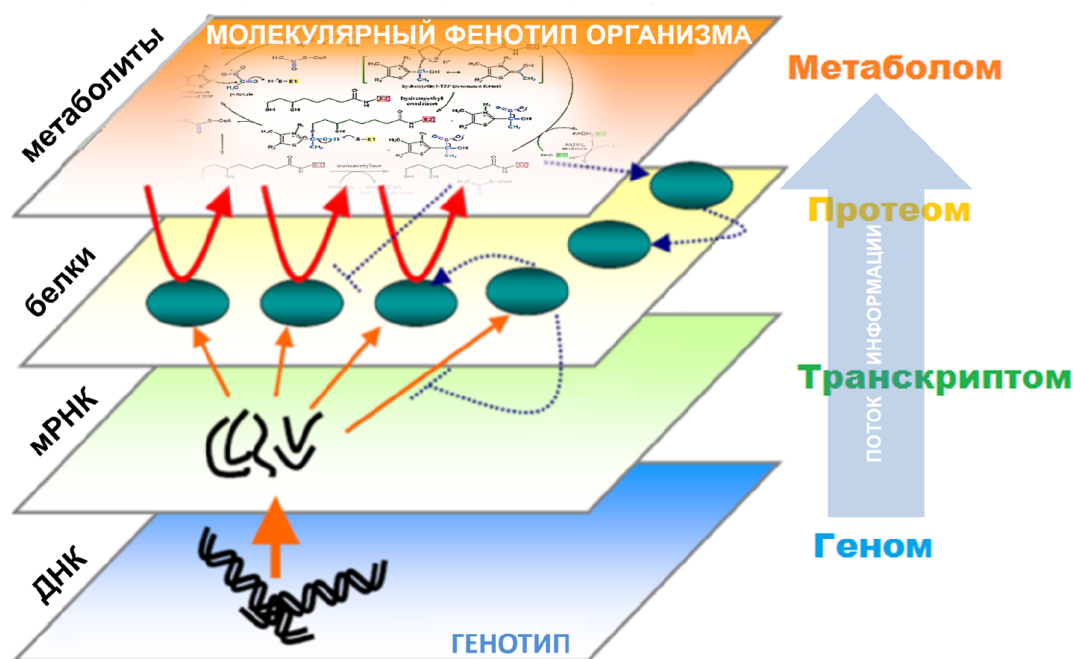


Рисунок 1. Последовательная взаимосвязь “-омов”, из которых состоит живая система, отражающая поток информации, заложенной в генах, к молекулярному фенотипу организма — метаболу.

отношение к ней и усиливающие её возможности и значение [7, 8]. Так, в 2005 году была создана база данных METLIN (Metabolite and Tandem MS Database), которая включала более 10000 метаболитов и данные их масс-спектрометрии [9]. В настоящее время она содержит данные о более чем 240000 метаболитов. Проект “Метаболом человека” завершил первый этап в 2007 году созданием базы данных приблизительно из 2500 метаболитов, а также 1200 лекарств и 3500 пищевых компонентов. С момента реализации этого проекта было проведено несколько аналогичных мероприятий и с некоторыми видами растений, такими как *Medicago truncatula* и *Arabidopsis thaliana*.

Развитие метаболомики характеризуется применением новых, постоянно совершенствующихся высокопроизводительных аналитических методов и глубокой биоинформатической обработкой получаемых данных [8, 10]. Хотя первоначальные исследования метаболомики проводили с использованием преимущественно нецелевых подходов (то есть “панорамного” анализа, целью которого является одновременное измерение наибольшего количества метаболитов в биологических пробах), вскоре стало очевидно, что данный подход вряд ли обеспечит полноценный обзор метаболитов сложных биологических объектов [11, 12]. Поэтому в метаболомике помимо панорамного подхода параллельно развивался и целевой анализ, как правило, направленный на детальное исследование определённых групп метаболитов (относящихся к одному или нескольким представляющим интерес метаболитическим путям). Целевые метаболомные подходы используют комбинации различных, ориентированных под определённые группы метаболитов, аналитических методов, чему способствуют имеющиеся сегодня достижения в области аналитической химии. В настоящее время целевой метаболомный анализ позволяет количественно определять сотни метаболитов одновременно в одном биологическом образце, тем самым заполняя пробелы в панорамном анализе [13].

Как и во всех омиксных науках, исследования в метаболомике имеют направления, достижения в которых могут принести значительную пользу человечеству. Как правило, метаболомные исследования могут дать представление о биохимических процессах, лежащих в основе реакции организма на внутренние и внешние стимулы. Некоторые примеры включают определение веществ, загрязняющих окружающую среду [14], а также характеристику продуктов питания и пищевых производных [15-17]. Многие исследования в метаболомике направлены на поиск биомаркеров для диагностики заболеваний или патологических состояний, которые могут быть клинически не очевидными. Применение метаболомики в биомедицинских исследованиях уже позволило обнаружить множество биомаркеров таких заболеваний, как диабет [18, 19], болезни сердца [20], рак [21-23], а также подвело основы для оптимизации лекарственной терапии [24].

1. РАЗВИТИЕ МЕТАБОЛОМНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ

В конце 1940-х годов Roger Williams предположил, что у каждого человека может быть “метаболический профиль”, который находит своё отражение в его биологических жидкостях [25]. Правомочность своей гипотезы он подтвердил, исследуя у пациентов с шизофренией закономерности метаболитических компонентов биологических жидкостей, таких как моча и слюна, при помощи бумажной хроматографии.

Несколько десятилетий спустя достижения в технологии позволили проводить количественные измерения метаболитов. В 1971 году Horning и его команда впервые предложили термин “метаболический профиль” для описания обнаруженных ими соединений, присутствующих в моче или экстрактах из тканей, которые могут быть измерены с помощью газовой хроматографии, совмещенной с масс-спектрометрией (ГХ-МС) [25].

В то же время для обнаружения метаболитов в необработанных биологических образцах стали использовать измерения на основе ядерного магнитного резонанса (ЯМР). ЯМР был первоначально открыт в 1940-х годах, но начал использоваться в исследованиях метаболомики в 1970-х годах. Со временем чувствительность измерений на основе ЯМР возросла в результате использования более сильных магнитных полей и углового вращения. В 1984 году профессор Jeremy Nicholson продемонстрировал возможное использование ЯМР-спектроскопии в диагностике сахарного диабета [25].

В ЯМР-спектроскопии наблюдается поглощение электромагнитного излучения образцом. Это поглощение происходит из-за определённых ядер молекулы, генерирующих спектр ЯМР, который является записью частот пиков поглощения в зависимости от их интенсивности. Число различных ориентаций, которые может принимать ядро при помещении в однородном магнитном поле, называемое числом спинов, представляет момент импульса движущегося заряда. Это число может быть определено по массе и атомному номеру ^1H и ^{13}C , которые наиболее часто используются в ЯМР, хотя также используют ^{15}N , ^{19}F и ^3P [26].

Одним из преимуществ использования ЯМР в метаболомике является минимальная и неразрушающая пробоподготовка образцов, которая широко используется для биологических жидкостей или твёрдых биологических материалов, таких как ткани организма. Основными ограничениями метода являются разрешение и спектральная чувствительность, которые могут улучшаться при использовании сильных магнитных полей (более 500 МГц). Другим ограничением является количество идентифицированных метаболитов, которое меньше, чем при использовании других методов, таких как масс-спектрометрия (МС) [27, 28].

В МС сочетаются высокая чувствительность и селективность. Этот метод предоставляет собой получение высокоспецифичной информации, которая непосредственно связана со структурой соединения, например, точная молекулярная масса

вещества, изотопное распределение, характерное для определённой элементной формулы, массы фрагментов соединения, которые в совокупности или в той или иной комбинации участвуют в идентификации метаболитов. Другим важным фактором является высокая чувствительность МС, которая позволяет обнаруживать и измерять пико- и фемтомоли метаболитов. Эти преимущества делают МС основным аналитическим инструментом в метаболомике [29].

В рамках МС могут применяться несколько различных методов, имеющих разные принципы. МС-анализ может быть прямым, характеризующимся быстротой исполнения и относительно хорошей воспроизводимостью результатов, но не всегда эффективным при анализе сложных биологических объектов. Иногда для предварительного разделения соединений, а также для проведения комплексного анализа метаболома необходим тандем с хроматографией. Среди наиболее часто используемых в тандеме методов — газовая хроматография (ГХ-МС), жидкостная хроматография (ЖХ-МС), высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ-МС) и разделение с помощью капиллярного электрофореза (КЭ-МС) [11, 29].

В настоящее время прогресс в области МС привёл к формированию довольно унифицированных методов, таких как метаболический фингерпринтинг и метаболическое профилирование [27], которые позволяют определять тысячи метаболитов в одном биологическом образце и поэтому составляют “современный портрет метаболомики”. Очень подробно основные характеристики этих методов, способы разделения и анализ метаболитов методом МС были описаны в обзоре Лохова и Арчакова [27]. Примеры, приведенные в обзоре, позволяют оценить эти методы и сравнить их достоинства и недостатки.

2. АНАЛИЗ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКИХ МЕТАБОЛОМНЫХ ДАННЫХ

Последние достижения в области МС и других аналитических методов позволяют получать большой объём ценной информации, которая может применяться в многочисленных областях биомедицинских исследований. На этих аналитических платформах создаются спектры, которые требуют биоинформационной обработки для получения из них нужной информации. Поэтому проведённая надлежащим образом биоинформатическая обработка является определяющей в интерпретации полученных, в частности, масс-спектрометрических метаболомных данных [13].

Первым шагом является стандартизация или нормализация таких данных, чтобы минимизировать их неоднородность из-за биологических вариаций и изменчивости методов измерения. Нормализация образцов может быть выполнена с помощью подсчёта средних значений, медиан или референсных значений. За нормализацией обычно следуют нелинейные преобразования, такие как логарифмические преобразования, которые помогают уменьшить

неоднородность данных, обеспечивая большую симметрию между кривыми распределения данных, требуемыми для применения линейных методов [30]. Далее выполняется масштабирование данных, при котором каждая переменная делится на коэффициент масштабирования, в качестве которого может быть использована мера дисперсии данных (например, стандартное отклонение) или другая величина (например, среднее значение) [30].

Выбор статистических методов обработки полученных данных зависит от цели исследования [31, 32]. Для классификации образцов обычно выбирают кластерный анализ, метод главных компонент (PCA, Principal component analysis) или метод независимых компонент (ICA, Independent component analysis). Для метаболомного анализа предпочтительным является PCA, который может быть выполнен с использованием большинства статистических программ [33, 34]. ICA — это ещё один полезный метод в метаболомике в тех случаях, когда выбор компоненты не так критичен; это позволяет пользователю игнорировать техническую вариабельность МС-данных, полученных на разных приборах, тем самым, улучшая результаты анализа [35]. Часто более эффективным оказывается совместное использование нескольких разных методов [36, 37].

В исследованиях, ориентированных на поиск и идентификацию диагностических биомаркеров, применяют методы, работающие на группах образцов, с заранее известными параметрами (например, принадлежность образцов больным или здоровым субъектам); это помогает идентифицировать биомаркеры более достоверно [38]. Одним из наиболее часто используемых методов оценки диагностической значимости идентифицированных биомаркеров является кривая Receiver-Operator Characteristic (ROC-кривая) [39]. Для того, чтобы получить численное значение, вычисляют площадь под ROC-кривой — AUC (Area Under ROC Curve). Если AUC равна 0,5 (нижний предел), то переменные распределяются поровну между случаями и контролями, и диагностический тест бесполезен для диагностики. Однако если площадь под кривой ROC равна 1, происходит полное разделение на две группы, и образцы могут быть классифицированы с 100% чувствительностью (без ложно-отрицательных результатов) и 100% специфичностью (без ложно-положительных результатов).

Оценка риска развития заболевания при наличии какого-то фактора достигается путём подсчёта коэффициента несогласия или отношение шансов (OR, Odds Ratio) [40, 41]. OR указывает на соотношение вероятностей развития заболевания у лиц, подвергшихся и не подвергшихся воздействию данного фактора. Если OR больше 1, то вероятность развития заболевания, при наличии интересующего нас фактора, больше, чем в случае его отсутствия. Если OR меньше 1, то вероятность развития заболевания при данных условиях низка. Если OR равен 1, то развитие заболевания не связано с указанным фактором.

Из-за наблюдаемого в последнее время увеличения числа метаболомных исследований стала актуальной разработка специального программного обеспечения для анализа масс-спектров метаболитов (например, MET-IDEA [42], MathDAMP [43] и TagFinder [44]). Многие фирмы-производители оборудования для МС предлагают свои собственные программные пакеты для анализа метаболомных данных. Так, начиная с 2007 года, “Bruker Daltonics Ltd.” (США) поставляет оборудование вместе с программой Metabolic Profiler. Это коммерческое программное обеспечение позволяет проводить предварительную обработку метаболомных данных и сравнительный анализ профилей метаболитов с использованием получаемых МС данных.

Помимо оценки диагностической значимости идентифицированных биомаркеров (чувствительность/специфичность), оценки относительного риска развития заболевания, а также эффективности/токсичности лекарственных препаратов, анализ полученных метаболитических профилей может представлять интерес и для более глубокого понимания биохимических путей, затронутых в происходящих патофизиологических процессах. Информацию о том, в каких именно метаболитических путях задействованы выявленные метаболиты, можно получить, спроецировав данные метаболомного анализа на такие базы данных как KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes) и HMDB (Human Metabolome Database) [33, 45].

3. МЕТАБОЛОМИКА В ИССЛЕДОВАНИЯХ РОССИЙСКИХ УЧЁНЫХ

Первое системное развитие омиксных наук в нашей стране получили в начале 2000-х гг. в Научно-исследовательском институте биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича (ИБМХ) в Москве. К тому времени в ИБМХ, занимающемся проблемами биологической и медицинской химии под руководством академика А.И. Арчакова, активно развивались постгеномные технологии, такие как транскриптомика, протеомика, биоинформатика [46–52]. В 2000 г. в ИБМХ был создан первый в стране Отдел протеомных исследований и центр коллективного пользования “Протеом человека” (с 2003 г. по 2010 г. Центр коллективного пользования “Центр постгеномных технологий”, в настоящее время ЦКП “Протеом человека”). Это позволило перейти к концепции системной биологии, рабочим определением которой в то время было “изучение биологии как интегрированной системы генетических, белковых, метаболитических событий, которые постоянно изменяются и взаимосвязаны” [53]. Другими словами, основная задача ЦКП состояла в том, чтобы получать и интегрировать данные протеомики, транскриптомики и метаболитической информации для более целостного исследования живых организмов. Техническая база и технологические возможности, накопленные в ИБМХ, стали точкой роста для подобных исследований и способствовали открытию первой в стране

метаболомной лаборатории — “Лаборатории масс-спектрометрической метаболомной диагностики” под руководством д.б.н. П.Г. Лохова. Спустя некоторое время в лаборатории были развёрнуты различные метаболомные исследования биологических жидкостей организма для характеристики биологических объектов на молекулярном уровне с целью создания диагностики на основе метаболитов. Основным материалом исследования стала плазма крови человека как наиболее информативная в плане лабораторной диагностики и доступная в клинике биологическая жидкость организма. Основным методом исследования метаболитов плазмы крови — МС анализ. Результатом работы лаборатории стали первые российские метаболомные данные, опубликованные в 2009–2010 гг. в журналах “Metabolomics” и “Биомедицинская химия” [54, 55]. Данные этих научных публикаций можно считать точкой отсчёта Российской метаболомики.

В последние годы метаболомика получает своё развитие в различных областях отечественной науки. Изучаются факторы, увеличивающие риск возникновения заболеваний у человека, последствия воздействия на организм экологических факторов, наличие патологических процессов, состояние больного и эффективность проводимой лекарственной терапии. В нескольких исследовательских областях используются метаболомные подходы для лучшего понимания механизмов развития патологических процессов и процессов старения организма, как у людей, так и у животных (таблица).

Значительные результаты были достигнуты в Международном томографическом центре Сибирского отделения РАН (Новосибирск), где в 2010 г. был создан Центр коллективного пользования СО РАН “Масс-спектрометрические исследования” под руководством д.х.н. Ю.П. Центалович. На предварительном этапе основной задачей ЦКП была установка и освоение современного масс-спектроскопического оборудования, а также методов пробоподготовки биологических образцов. В 2015 г. на базе ЦКП была открыта лаборатория протеомики и метаболомики. Сейчас в лаборатории проводятся работы, направленные на изучение изменений в биохимическом составе тканей при старении и при развитии офтальмологических заболеваний, в частности катаракты и кератоконуса. Целью этих работ является разработка новых подходов к диагностике, профилактике и лечению этих заболеваний (таблица).

С каждым годом актуальность использования метаболомных технологий возрастает в самых разных областях науки. Большое направление посвящено метаболомному анализу растений, причём появляется всё больше исследований, которые выполняются не на модельных объектах, а с использованием генетических ресурсов культурных растений (пшеницы, риса, картофеля, гороха, кукурузы и др.). Так, изучению метаболитических процессов, происходящих в растениях картофеля, входящего в десятку наиболее востребованных культур, посвящена совместная

Таблица. Использование метаболомики в различных областях науки в России

Метаболомные исследования	Научные учреждения, на базе которых проводятся метаболомные исследования	Ссылки
МЕТАБОЛОМНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА		
Метаболомные диагностические сигнатуры	Лаборатория масс-спектрометрической метаболомной диагностики ИБМХ (Москва) совместно с: • Эндокринологическим исследовательским центром (Москва) • Национальным медицинским научно-исследовательским центром онкологии (Москва) • Институтом биологии развития им. Н.К. Кольцова (Москва) и Казанским государственным медицинским университетом (Казань) • НИИ питания (Москва)	[55] Рак простаты [56] Нарушенная толерантность к глюкозе [57, 58] Рак лёгкого [59] Болезнь Паркинсона [60] Ожирение
Метаболическое профилирование крови человека	Лаборатория масс-спектрометрической метаболомной диагностики ИБМХ (Москва)	[61-63]
Терапевтический лекарственный мониторинг	Лаборатория масс-спектрометрической метаболомной диагностики ИБМХ (Москва)	[64, 65]
МЕТАБОЛОМИКА ПРОЦЕССОВ СТАРЕНИЯ		
	Лаборатория масс-спектрометрической метаболомной диагностики ИБМХ (Москва)	[66, 67]
МЕТАБОЛОМИКА РАЗВИТИЯ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ		
Патогенез катаракты	Лаборатория протеомики и метаболомики Международного томографического центра Сибирского отделения РАН (Новосибирск)	[68-70]
Метаболическая основа ответа хозяина на гельминтную инфекцию	Лаборатория клинической метаболомики Томского государственного университета (Томск) совместно с Центральной исследовательской лабораторией Сибирского государственного медицинского университета (Томск)	[71, 72]
МЕТАБОЛОМИКА РАСТЕНИЙ		
Метаболические процессы, происходящие в растениях картофеля	Санкт-Петербургский государственный университет» (Санкт-Петербург) совместно с Федеральным исследовательским центром Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова (Санкт-Петербург) и Ботаническим институтом им. В.Л. Кольцова РАН (Санкт-Петербург)	[73-76]

работа группы учёных из Санкт-Петербурга — Санкт-Петербургского государственного университета, Федерального исследовательского центра Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова и Ботанического института им. В.Л. Кольцова РАН (таблица).

Стандартизация протоколов метаболомного анализа и методов обработки полученных результатов позволяет использовать метаболомику не только как важнейший компонент фундаментальных исследований, но и как основу мониторинга коллекционных образцов, создаваемых сортов и гибридов картофеля. Полученные данные

свидетельствуют о перспективности такого подхода для фенотипирования различных генотипов картофеля, а также для выявления форм, устойчивых к различным типам неблагоприятных воздействий.

4. МЕТАБОЛОМНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА В РОССИИ

В последнее время в клинически ориентированных научных исследованиях всё больше возрастает роль метаболомных исследований крови человека как с целью поиска биомаркеров заболеваний и изучения развивающихся при этом в организме

процессов, так и оценки эффективности и токсичности лекарственных препаратов [77, 78]. Они позволяют учесть влияние всех возможных факторов (как эндогенных, так и экзогенных), оказывающих влияние на организм, и уже на основании этих данных сделать необходимое заключение как о механизме заболевания, диагностических маркерах, так и предсказать индивидуальные вариации ответа на введение лекарственных средств. Анализ метаболома крови, позволяющий одновременно получить информацию о сотнях и тысячах метаболитов, уже сейчас в руках российских ученых показывает значимые результаты в решении большого количества научных и клинических задач. Возможности подобного анализа подробно описаны в обзоре Лохова и Арчакова [27]. Наибольший успех у российских ученых в данной области был достигнут с применением прямой инъекции образца крови в подкисленном метаноле в электроспрейный источник ионизации квадруполь-времетра-масс-спектрометра (DIMS, Direct Infusion Mass Spectrometry) [79, 80]. Полученный масс-спектр отражал “картину метаболома, статистический анализ которого в группе с метаболомами здоровых добровольцев позволил установить нормативность метаболитов, выявить ксенобиотики, низкомолекулярные биомаркеры заболеваний, применить метаболомные диагностические сигнатуры” [27]. Следует отметить, что для проведения подобного метаболомного анализа требовалось не более 1 мкл крови, поэтому объем забора определялся исключительно удобством проведения манипуляций и мог быть осуществлён даже вне лаборатории, например, в домашних условиях с применением метода “сухой капли крови” [81].

В конце 2000-х гг. группой под руководством академика А.И. Арчакова в ИБМХ была исследована возможность применения метаболомического фингерпринтинга плазмы крови для диагностики второй стадии рака предстательной железы, одного из наиболее распространённых видов рака у мужчин [55]. Полученные данные по чувствительности (95%), специфичности (96,7%) и точности (95,7%) диагностики существенно превышали данные применяемого в клинической практике иммуноферментного теста на простатический специфический антиген (ПСА-теста) (35%, 83,3% и 51,7% соответственно) для той же выборки пациентов. Площадь под ROC-кривой (AUC), составляющая 0,994, свидетельствует о том, что предложенный подход к диагностике рака предстательной железы на основе метаболомического фингерпринтинга эффективен и применим в клинической практике [55]. Путём статистического анализа интенсивностей пиков метаболитов в масс-спектрах было обнаружено, что шесть различных метаболитов являются специфичными для рака простаты. Два метаболита — ацилкарнитин и арахидоноламин — имеют AUC 0,97 и 0,86 соответственно, что выше, чем в ПСА-тесте (0,59), что определяет данные метаболиты как потенциально подходящие маркеры для ранней диагностики рака предстательной железы [82].

В первой половине 2010-х гг. группой, возглавляемой академиком И.И. Дедовым (Эндокринологический исследовательский центр, Москва) было инициировано исследование возможности применения метаболомики для диагностики нарушенной толерантности к глюкозе, чтобы использовать её в клинической практике в качестве альтернативы существующему тесту на толерантность к глюкозе [56]. Нарушенная толерантность к глюкозе (НТГ) является преддиабетическим состоянием, которое связано с резистентностью к инсулину и повышенным риском сердечно-сосудистой патологии. Более того, показано, что НТГ предшествует сахарному диабету 2 типа на протяжении многих лет [83]. В настоящее время пероральный глюкозотолерантный тест (ГТТ) представляет собой “золотой стандарт” для выявления НТГ. Тем не менее, несмотря на то, что он считается полезным для диагностики НТГ, а также диабета и других сердечно-сосудистых факторов риска, этот тест показал низкую воспроизводимость [84-86]. Кроме того, ГТТ занимает много времени (около 2 ч), и некоторые люди могут испытывать гипергликемический шок во время него. Следовательно, крайне актуален более быстрый и воспроизводимый тест для диагностики НТГ.

Исследование было проведено совместно с ИБМХ. Прямая масс-спектрометрия метаболитов плазмы крови и в данном случае показала себя как быстрый, одностадийный и воспроизводимый метод анализа метаболитов. Более того, как метод, который может послужить прототипом для клинических анализов, способных заменить используемый в настоящее время тест на толерантность к глюкозе более дружелюбным для пациента анализом. Всего был обнаружен 51 ион метаболитов, тесно связанных с НТГ [56]. Площадь под ROC-кривой (AUC) составила 0,93 (точность 90%, специфичность 90% и чувствительность 90%). Соответствующая воспроизводимость составила 85%. Выявленные метаболиты, соответствующие факторам риска, ранее связанным с развитием диабета [56], были использованы для составления метаболомной сигнатуры — набора значений переменных, формирующего специфическую картину (рис. 2).

Национальным медицинским научно-исследовательским центром онкологии (Москва) совместно с ИБМХ был разработан метод ранней диагностики рака лёгких — заболевания, которое является одним из наиболее распространённых видов рака у мужчин и женщин и является основной причиной смерти от рака в России [57]. Раннее выявление рака лёгких может существенно снизить уровень смертности. Поэтому чрезвычайно важно разработать лабораторные тесты для выявления рака лёгких человека, в том числе на клинически бессимптомных стадиях. С этой целью был проведён МС-анализ метаболитов на образцах крови, взятых у пациентов с раком лёгких и контрольных по возрасту. Полученные масс-спектры были преобразованы в двоичный формат, выровнены, сведены к нескольким переменным с помощью анализа основных компонент (PCA) и, наконец,

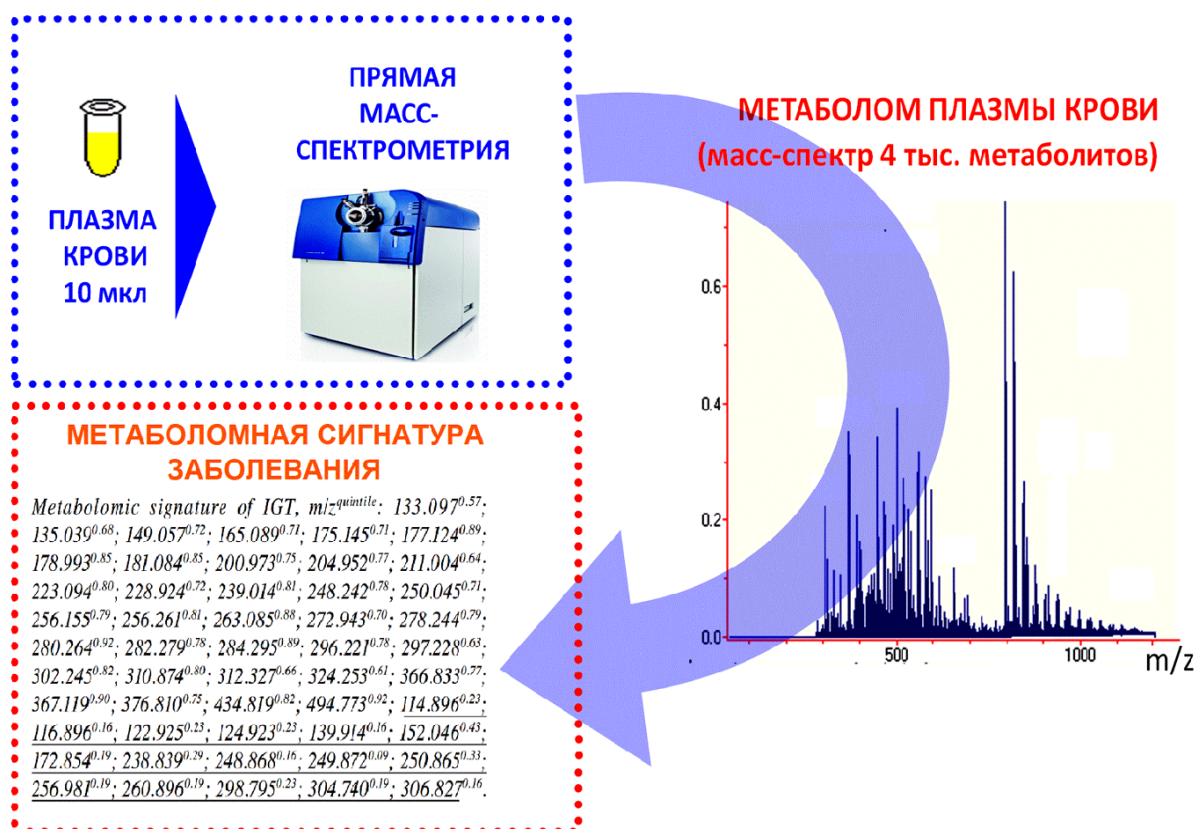


Рисунок 2. Получение диагностической сигнатуры на примере нарушенной толерантности к глюкозе (НТГ). Образцы плазмы крови обрабатывали метанолом для осаждения белка, а фракции с низкой молекулярной массой анализировали методом прямой инжекции метаболитов плазмы крови в электроспрейный источник масс-спектрометра. Ионы метаболитов, которые проявляли статистически достоверную связь с НТГ, были включены в состав диагностической сигнатуры. Для ионов, включенных в сигнатуру, установлено соответствие конкретным метаболитам в базах данных метаболитов. Масс-спектрометрическая сигнатура записана в унифицированной форме: указаны молекулярные массы ионов веществ, детектируемых при прямой масс-спектрометрии плазмы крови, в верхнем регистре указано пороговое значение в квантилях, при превышении которого диагностический показатель повышается на единицу.

классифицированы как случаи рака, по сравнению с контролем, с помощью алгоритма “метод опорных векторов” (SVM, support vector machine). Повторная проверка случайных подвыборок показала точность классификации до 93,3% (чувствительность 94,1%, селективность 92,4%), что убедительно свидетельствует о том, что МС с прямой инжекцией низкомолекулярной фракции крови в электроспрейный источник ионизации (DIMS) обеспечивает большой клинический потенциал в диагностике ранней стадии рака лёгких человека [57].

В процессе исследования были обнаружены сотни метаболитов, связанных с раком лёгких, и, как минимум, 70 ионов метаболитов были связаны с наличием рака лёгких очень тесно [58]. Исследование показало, что эти метаболиты потенциально могут быть маркерами и, таким образом, могут быть связаны с повышенным риском развития рака лёгких в популяционных исследованиях [58]. Таким образом, выводы исследования обеспечивают стратегию профилактики и раннего выявления рака лёгких. Например, мониторинг этих, связанных с раком метаболитов, обеспечивает инструмент, с помощью

которого врачи могут идентифицировать людей с высоким риском развития рака лёгких. Соответственно, людям с высоким риском следует попытаться свести к минимуму их подверженность факторам риска и воспользоваться другими диагностическими возможностями, уже существующими в клинической практике. Эта стратегия имеет потенциал для снижения уровня рака лёгких и увеличения продолжительности жизни пациентов путём облегчения раннего выявления рака.

В конце 2010-х гг. ИБМХ совместно с группой, возглавляемой академиком М.В. Угрюмовым (Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова, Москва), и группой учёных из Казанского государственного медицинского университета, был апробирован новый метод ранней диагностики болезни Паркинсона (БП), основанный на метаболомном анализе плазмы крови [59]. Ионы метаболитов, которые проявляли сильную связь с БП, были включены в состав диагностической сигнатуры, и были рассчитаны соответствующие характеристики для диагностики БП. Для ионов метаболитов, включенных в сигнатуру, было установлено соответствие специфическим метаболитам

в базах данных метаболитов. Всего 21 ион метаболитов, которые были тесно связаны с БП, был использован для составления метаболомной сигнатуры [87]. Площадь под ROC-кривой (AUC) для диагностики БП, рассчитанная для сигнатуры, составила 0,95 (точность 94%, специфичность 95% и чувствительность 94%). Метаболиты, выявленные в этом исследовании, соответствовали факторам, которые ранее были связаны с развитием БП [59]. Метаболомные исследования БП российскими учеными продолжаются и в настоящее время [88, 89].

Одно из последних метаболомных исследований ИБМХ было проведено совместно с НИИ питания (Москва) [60]. Как уже было сказано выше, в настоящее время учёные используют лишь небольшую часть информации, содержащейся в метаболоме крови. Идентификация метаболитов является огромной проблемой, потому что только хорошо разделенные соединения, находящиеся в большой концентрации, могут быть легко идентифицированы в сложных биологических образцах. Однако появились новые подходы, которые улучшают идентификацию соединений; среди них недавняя разработка — идентификация соединений, основанная на их участии в определённых биологических процессах [60]. В этой работе

подход был впервые применён для идентификации метаболитов в образцах крови и использовался для исследования плазмы крови пациентов с ожирением. Было обнаружено, что предлагаемый подход обеспечивает статистически обоснованный обзор биохимических путей, предоставляя, таким образом, дополнительную информацию на молекулярном уровне об ожирении. Показано, что прогрессирование ожирения сопровождается заметными изменениями в стероидогенезе, метаболизме андростендиона и метаболизме андрогена и эстрогена [60]. Ожидается, что этот алгоритм подойдёт для изучения других болезней обмена веществ, а также для мониторинга реакции организма на лечение.

К последним разработкам российских учёных в области метаболомики можно отнести развитие цифровых технологий. Так, всеобщий тренд на цифровизацию технологий в экономике стал предпосылкой для внедрения в медицину прецизионных цифровых методов лабораторной диагностики. Российскими учёными был предложен метод оцифровки метаболома крови человека, измеренного по стандартному протоколу, для получения цифрового изображения конкретного пациента [63] (рис. 3). Цифровое изображение

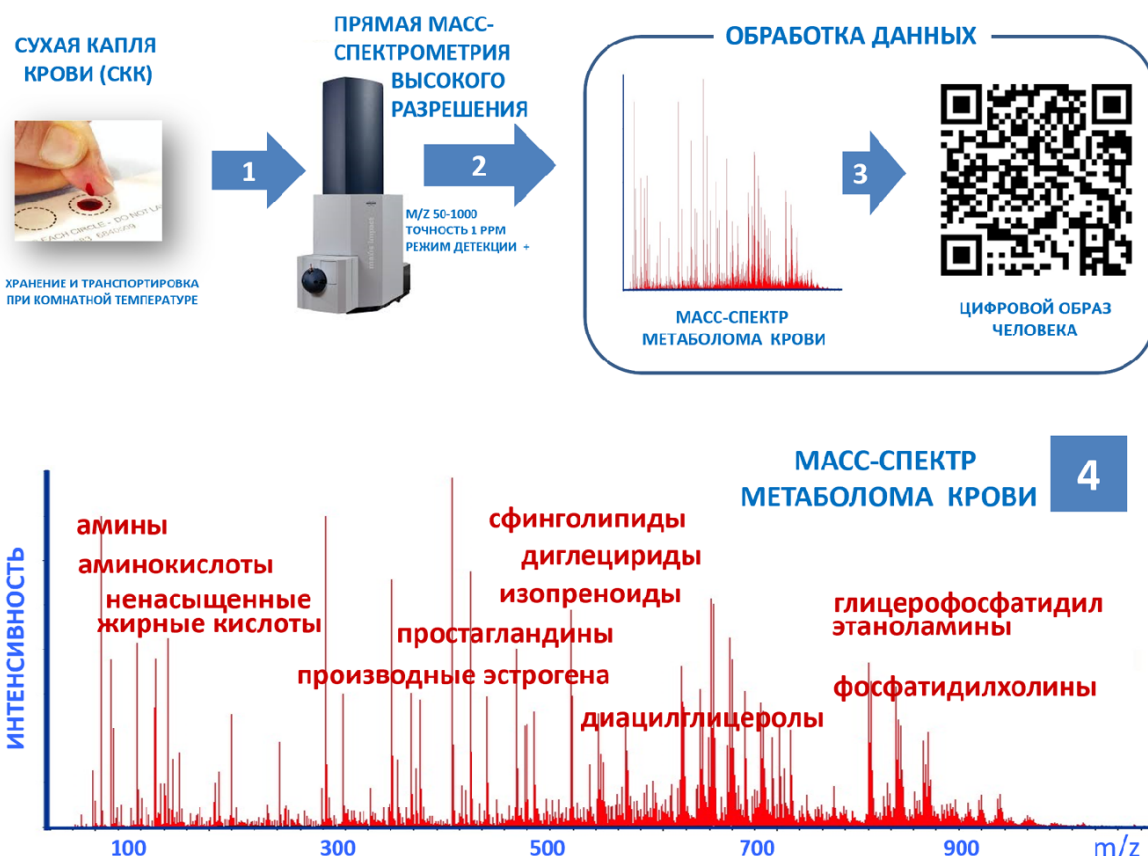


Рисунок 3. Схема получения цифрового изображения человека на основе масс-спектрометрических данных метаболома крови. [1] Сухая капля капиллярной крови на фильтровальной бумаге отправляется в лабораторию для метаболомных исследований. Далее низкомолекулярные вещества извлекаются из образца крови, а масс-спектр метаболитов крови [2] получается с использованием DIMS. Затем масс-спектр оцифровывается [3] в соответствии с протоколом, представленным в публикации [65]. В приведённом ниже примере [4] представлен масс-спектр, полученный путём прямой масс-спектрометрии (DIMS), который показывает основные зарегистрированные группы метаболитов.

содержит информацию, достаточную для точной диагностики любого заболевания. Оно компактно, портативно на любых цифровых и бумажных носителях и считывается обычными мобильными устройствами (смартфонами). Цифровое изображение удобно для каталогизации и архивирования медицинских данных и телемедицины. Кроме того, оно также подходит для мониторинга физического состояния человека и проведения продольных и популяционных медицинских исследований [63]. Широко распространённое применение цифрового изображения человека, его дальнейшее тестирование на выборках большого размера, включающих когорты пациентов с различными заболеваниями и стратифицированных по полу, возрасту и образу жизни, поможет сделать этот подход более надёжным и унифицированным и прояснит ограничения его применения в медицине.

5. ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЙ ЛЕКАРСТВЕННЫЙ МОНИТОРИНГ

Одно из потенциальных применений метаболомики — это идентификация профилей метаболитов в биологических жидкостях организма, способных предсказать эффективность и токсичность лекарств, так называемая фармакометаболомика, ориентированная на персонализацию медикаментозной терапии [90]. Метаболический профиль отображает метаболизм ксенобиотиков в организме. То есть, метаболический профиль содержит всю информацию, необходимую для расчета эффективной дозы лекарственного средства для конкретного больного, учитывающую не только особенности индивидуальной фармакокинетики лекарственного вещества, но и реакцию организма на него [91, 92]. Ряд работ отечественных учёных демонстрирует успехи метаболомики в этом направлении.

Учёными лаборатории масс-спектрометрической метаболомной диагностики ИБМХ был разработан новый метод терапевтического лекарственного мониторинга (ТЛМ), основанный на прямой МС низкомолекулярной фракции крови [64]. Данная методика позволила провести ТЛМ всех препаратов, задействованных в исследовании. Универсальность и высокая производительность прямой МС существенно упрощают его широкое применение. Более того, возможность использования метода в большинстве случаев медикаментозной терапии рассматривается как инструмент контроля доз лекарств, рациональности лекарственной терапии и качества используемых препаратов. Кроме того, метод может быть применён как основное средство повышения качества и персонализации лекарственной терапии, обеспечивая прогнозирование индивидуальной вариабельности лекарственной реакции и контроль эффективности медикаментозного лечения, а также корректировку его с учётом индивидуальных параметров пациентов [64].

Кроме того, совместно с группой академика И.И. Дедова (Эндокринологический исследовательский центр, Москва), был освоен

новый метод анализа липидов крови (липидома) человека, основанный на прямой МС липофильной низкомолекулярной фракции плазмы крови [65]. Такая методика позволяет количественно определять сотни различных типов липидов, и это меняет существующие представления о диагностике нарушений липидов и связанных с ними заболеваний. Метод показал свою универсальность и быстроту, что значительно упрощает его широкое использование. Этот метод применим для диагностики атеросклероза, сахарного диабета, рака и других заболеваний. Детализация липидного состава плазмы на молекулярном уровне с помощью МС позволяет оценить эффективность терапии и оптимизировать лекарственную терапию сердечно-сосудистых заболеваний фосфолипидными препаратами [65].

6. МЕТАБОЛОМИКА СТАРЕНИЯ

Сегодня ни у кого не вызывает сомнения, что метаболомика является многообещающим инструментом для изучения старения, поскольку она является мощным средством каталогизации изменений в организме, протекающих во времени на молекулярном уровне. Старение — это чётко детерминированный процесс в живых организмах, для которого характерно постепенное снижение физиологической активности и репродуктивной способности, а также увеличение частоты смертности с течением времени. Тем не менее, старение остаётся одним из наиболее загадочных и до конца неисследованных биологических явлений. Посредством измерения многочисленных малых молекул, которые в идеале представляют весь спектр метаболических путей, метаболомика может потенциально помочь в идентификации процессов, которые связаны со старением или даже приводят к нему [93-95]. Существует ряд различных животных, которые относятся к долгоживущим и короткоживущим видам и демонстрируют различную скорость старения, обеспечивая идеальные модели для изучения механизмов старения.

Возможность для изучения механизмов, ответственных за существенные различия в скорости старения [96], даёт нам разнообразие, наблюдаемое в продолжительности жизни среди видов рыб, причём долгоживущие виды (незначительно стареющие) могут рассматриваться как своеобразные антивозрастные модели. Исследование этих видов может облегчить определение путей, которые эффективно защищают от связанных со старением дегенеративных процессов. И напротив, быстро стареющие виды могут рассматриваться как модели ускоренного старения. Комплексные исследования различных видов могут помочь выявить механизмы, связанные с быстрым развитием возрастных патологий [97, 98].

В лаборатории масс-спектрометрической метаболомной диагностики ИБМХ были проведены первые исследования метаболома рыб с различной скоростью старения [66, 67]. Метаболомные профили плазмы крови рыб с различной скоростью старения —

незначительным старением (щука (*Esox Lucius*) и стерлядь (*Acipenser ruthenus*)), постепенным старением (судак (*Sander lucioperca*) и окунь (*Perca fluviatilis*)) и быстрым старением (кета (*Oncorhynchus keta*) и горбуша (*Oncorhynchus gorbuscha*)) — оценивали с помощью прямой МС. Основанное на метаболомике исследование трёх хорошо фенотипированных когорт рыб с различной скоростью старения предназначалось для выявления метаболитов крови, связанных со скоростью старения, и оценки взаимосвязи идентифицированных метаболитов с долголетием. С помощью метаболомного анализа удалось выявить пятнадцать метаболитов, относящихся к дипептидам, жирным кислотам, глицеролипидам, фосфоэтанолaminaм и фосфатидилхолинам, которые были в значительной степени связаны со скоростью старения, независимо от вида рыб [66].

В продолжение работы было проведено метаболомное исследование мышц рыб с различной скоростью старения [67], поскольку прогрессирующее снижение мышечной массы и силы, приводящее к ухудшению физиологических функций организма, а также к развитию возрастных нарушений, является одним из наиболее заметных признаков старения [99]. Скелетные мышцы играют ключевую роль в поддержании здорового и активного образа жизни, так как они участвуют во многих важных функциях: контроль движения и позы, физическая функция, участие в обмене веществ (например, скелетные мышцы имеют решающее значение для поддержания уровня гликемии) и т.д. К сожалению, наши знания о патофизиологии потери мышечной массы и силы в процессе старения всё ещё ограничены [100].

Метаболомное исследование скелетных мышц путём прямой МС на квадрупольном времяпролетном масс-спектрометре также было проведено на трёх группах рыб. Первая группа включала в себя долгоживущие виды рыб (щука (*Esox Lucius*) и стерлядь (*Acipenser ruthenus*)), вторая группа — виды с постепенным старением, таким же, как наблюдается у многих видов млекопитающих аналогичного размера (судак (*Sander lucioperca*) и окунь (*Perca fluviatilis*)) и третья группа — виды с очень коротким жизненным циклом (кета (*Oncorhynchus keta*) и горбуша (*Oncorhynchus gorbuscha*)). Многофакторный анализ метаболитических профилей позволил выявить около 80 особенностей, связанных с аминокислотами, липидами, биогенными аминами, промежуточными звеньями гликолиза, гликогенолиза и цикла лимонной кислоты, коррелирующих со сроком жизни рыб [67].

7. ПАТОГЕНЕЗ КАТАРАКТЫ

Одним из интересных направлений в отечественной метаболомике занята лаборатория протеомики и метаболомики под руководством Ю.П. Центаловича (Международный томографический центр СО РАН, Новосибирск), которая изучает биохимические и фотохимические процессы, происходящие в живых организмах и ответственные за развитие заболеваний [68-70].

Одно из направлений исследования лаборатории — изучение метаболитического состава тканей человека и лабораторных животных, поскольку развитие патологических процессов приводит к значительным изменениям метаболитического состава ткани: уменьшению или увеличению концентрации различных метаболитов. Изменения метаболитического содержания ткани изучают методами хроматографии, МС и ЯМР-спектроскопии. В лаборатории проводят анализы тканей человека и лабораторных животных: крысы, кролика, телёнка, рыбы. Основное внимание сосредоточено на тканях и биологических жидкостях, связанных с глазом: хрусталике, роговице, стекловидном теле, крови. Основная цель работ — определить изменения биохимического состава тканей при нормальном старении и развитие глазных заболеваний, таких как катаракта и кератоконус. Используя эту информацию, можно понять механизмы формирования и развития этих нежелательных процессов и оценить эффективность лекарственных препаратов для профилактики и лечения данных заболеваний.

В 2016 сочетании методов ¹H ЯМР и ВЭЖХ-МС установлен количественный метаболомный состав биологических тканей и жидкостей человека, полученных от доноров при жизни и после смерти. Проведена идентификация и установление концентраций широкого спектра метаболитов в образцах роговицы, хрусталика, сыворотки крови и внутриглазной жидкости. Полученные результаты могут быть использованы для диагностики офтальмологических заболеваний, а также для более глубокого понимания молекулярных механизмов развития заболеваний [68].

В 2017 г. установлены изменения в метаболомном составе человеческого хрусталика, обусловленные развитием катаракты, что в дальнейшем позволило установить детальные механизмы катарактогенеза и предложить новые подходы для профилактики и лечения возрастной катаракты [69]. Концентрации 86 метаболитов были определены для четырёх групп образцов, включая хрусталик глаза и внутриглазную жидкость от пациентов с катарактой от человеческих трупов. Было показано, что в катарактном хрусталике наиболее распространёнными метаболитами являются (в порядке убывания): мио-инозит, лактат, ацетат, глутамат, глутатион; во внутриглазной жидкости — лактат, глюкоза, глутамин, аланин, валин. Концентрации большинства метаболитов в нормальных посмертных образцах хрусталика и внутриглазной жидкости выше, чем в образцах пациентов с катарактой [70].

Сравнение концентраций метаболитов в хрусталике и соответствующих внутриглазных жидкостях показывает, что наиболее важные для защиты хрусталика метаболиты синтезируются в эпителиальных клетках хрусталика. В катарактальных хрусталиках были обнаружены пониженные уровни антиоксидантов, УФ-фильтров и осмолитов, что нельзя объяснить посмертными изменениями в нормальном хрусталике;

это указывает на то, что возрастное развитие катаракты может происходить из-за дисфункции эпителиальных клеток хрусталика.

8. МЕТАБОЛИЧЕСКАЯ ОСНОВА ОТВЕТА ХОЗЯИНА НА ГЕЛЬМИНТНУЮ ИНФЕКЦИЮ

Совместный проект Лаборатории клинической метабомики Томского государственного университета и Центральной исследовательской лаборатории Сибирского государственного медицинского университета (Томск) посвящен всестороннему описанию метаболического ответа на описторхоз (точнее, *Opisthorchis felineus*). Инфекция, вызванная трематодами семейства *Opisthorchiidae*, запускает развитие патологий гепатобилиарной системы, таких как хронические формы холецистита, холангита, панкреатита и желчнокаменной болезни, и увеличивает риск внутрипечёночной холангиокарциномы.

Работа была выполнена на животной модели. Тридцать золотистых хомяков были разделены на три группы: с тяжёлой инфекцией (50 метацеркариев на хомяка), с лёгкой инфекцией (15 метацеркариев на хомяка) и неинфицированные (растворитель — фосфатно-солевой буферный раствор — PBS). Каждая группа состояла из равного количества животных мужского и женского пола. Образцы мочи (в первой части проекта) и плазмы крови (во второй части проекта) были подвергнуты ¹H спектроскопии ЯМР и многомерному статистическому моделированию. В сумме обе части проекта формируют первое систематизированное описание метаболического ответа на описторхоз на животной модели с использованием двух легкодоступных биологических жидкостей.

В первой части проекта [71] образцы мочи собирали каждые две недели в течение нескольких месяцев. Анализ показал, что наиболее заметная тенденция (30% от всех отклонений) в данных была связана с гендерными различиями, на ранней стадии заражения реакция организма развивается в зависимости от пола. Было отобрано 24 метаболита, связанных с наблюдаемыми эффектами, и предоставлен ряд гипотез для поиска более специфических метаболических маркеров инфекции *Opisthorchiidae* [71].

Во второй части проекта [72] образцы плазмы крови собирали за день до заражения, а затем каждые две недели до 22 недель после заражения. Исследование метаболического ответа в плазме на инфекцию *Opisthorchis* показало, что метаболический ответ в плазме крови разворачивается по тому же сценарию, что и в моче, достигая своего пика на 4-й неделе и стабилизируясь после 10-й недели после заражения. Тем не менее, в отличие от реакции, описанной в моче, наблюдаемый метаболический ответ в плазме менее специфичен для пола. Основными направлениями метаболического ответа на инфекцию в плазме крови являются кратковременное истощение незаменимых аминокислот и увеличение концентрации липопротеинов и холестерина [72].

9. МЕТАБОЛОМИКА КАРТОФЕЛЯ

Изучению метаболических процессов, происходящих в растениях картофеля, посвящена совместная работа группы учёных из научных учреждений Санкт-Петербурга — Федерального исследовательского центра Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова, Санкт-Петербургского государственного университета и Ботанического института им. В.Л. Кольцова РАН.

По данным FAO (Food and Agricultural Organization of the United Nation) Организации Объединённых Наций, картофель представляет собой четвертую по объёмам производства продовольственную культуру после риса, пшеницы, кукурузы и первую среди клубнеплодных и корнеплодных культур. Важность картофеля сложно переоценить, это ценный источник углеводов, антиоксидантов и витаминов. В последние годы большое число исследований сосредоточено на изучении метаболома картофеля с точки зрения расшифровки механизмов, ответственных за продуктивность и накопление соединений, которые определяют вкус и пищевые качества, сохраняя качество клубней, устойчивость растений и т.д. [73]. Комплексные исследования метаболического разнообразия с использованием современных хроматографических подходов и высокоточной ЯМР и масс-спектрометрической детекции отдельных соединений обнаружили специфичность метаболомных спектров как на клеточном, так и на организменном уровне под влиянием как внутренних, так и внешних стимулов [74]. Метаболомные подходы используются для фенотипирования доступных линий и сортов картофеля, для оценки устойчивости растений картофеля к экологическим факторам, для обнаружения изменений в клубнях при длительном хранении [74]. Метаболомное профилирование широко используют для изучения различий между генетически модифицированными формами картофеля и нетрансформированными исходными растениями. В будущем исследования метаболома картофеля смогут дополнить традиционные и молекулярно-генетические подходы к селекции для создания новых линий и сортов — носителей ценных признаков [73].

Учёными из Санкт-Петербурга было показано, что метаболом картофеля вида *Solanum phureja* Juz.&Buk. на стадии цветения насчитывает 234 соединения, из которых 117 идентифицировано [75]. Наиболее представленная группа среди них содержит сахара и их производные, что согласуется с интенсивным углеводным обменом тканей и органов картофеля. Молодые листья и развивающиеся репродуктивные органы характеризуются широким спектром органических и аминокислот, азотсодержащих соединений и липидов, а также соединений вторичного метаболизма, которые могут указывать на интенсивность обменных процессов и формирование защитных механизмов. Истощение метаболического профиля в стареющих листьях согласуется с идеей ослабления синтетических процессов в них и начала оттока метаболитов

в формирующиеся привлекающие органы картофеля. Выявлена специфика метаболических профилей, соответствующих возрасту и физиологическому статусу органов или тканей картофеля [75].

Как уже было сказано выше, обыкновенный картофель, *Solanum tuberosum* L., является четвёртой по значимости сельскохозяйственной культурой в мире. До недавнего времени вегетативное размножение клубнями было основным методом выращивания картофеля. Смещение интереса к половому размножению картофеля настоящими ботаническими семенами связано с появлением новой стратегии гибридной селекции семян, успешное применение которой для многих видов сельскохозяйственных культур было поддержано мужской стерильностью. Проведённое метаболомное исследование было сосредоточено на изучении различий в профилях пыльников на стадии зрелой пыльцы от мужского фертильного и мужского стерильного генотипов *S. tuberosum* [76]. Применение ГХ в сочетании с МС позволило выявить метаболические профили для 192 соединений. Дальнейший анализ данных с несколькими библиотеками полностью идентифицировал 75 метаболитов; аналогичное количество было определено до класса. Метаболические профили в пыльниках фертильных генотипов значительно отличаются от стерильных накоплением углеводов, в то время как пыльники стерильных генотипов содержат большее количество аминокислот. По сравнению с мужскими фертильными растениями, мужские стерильные генотипы имеют неразвитые признаки пыльцевого зерна; то есть, меньший размер зерна, более толстую экзину, “постоянные тетрады”, которые не распались на микроспоры, и отсутствие пыльцевых апертур, что может быть связано с нарушением обмена углеводов и жирных кислот [76].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Являясь наиболее молодой омиксной наукой, метаболомика успела зарекомендовать себя в различных областях исследований, и достижения российской метаболомики внесли в это ощутимый вклад. Спустя 10 лет с момента появления метаболомики в России можно уверенно утверждать, что метаболомные исследования в нашей стране идут широким фронтом, охватывают исследования различных биологических объектов, выполняются в соответствии с самими высокими международными стандартами. При этом российская метаболомика имеет свои приоритетные объекты исследования, оригинальные научные работы, что придаёт ей самобытный и интересный характер, не позволяя затеряться в общем интенсивном потоке метаболомных исследований в мире. Следует отметить роль ИБМХ как точки роста метаболомных исследований в России и основного места проведения работ по медицинской метаболомике. Работы, осуществлённые коллективом данного института, составляют на сегодняшний день основной пул научных публикаций российской метаболомики.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена в рамках Программы фундаментальных научных исследований государственных академий наук на 2013-2020 годы.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Данная работа не содержит каких-либо исследований с использованием людей и животных в качестве объектов исследования

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Gieger C., Geistlinger L., Altmaier E., de Angelis M.H., Kronenberg F., Meitinger T., Mewes H.W., Wichmann H.E., Weinberger K.M., Adamski J., Illig T., Suhre K. (2008) PLoS Genet., **4**, DOI: 10.1371/journal.pgen.1000282.
2. Johnson C.H., Ivanisevic J., Siuzdak G. (2016) Nat. Rev. Mol. Cell Biol., **17**, 451-459.
3. Mathew A.K., Padmanaban V.C. (2013) Int. J. Pharm. Pharm. Sci., **5**, 45-48.
4. Pinu F.R., Goldansaz S.A., Jaine J. (2019) Metabolites, **9**, DOI: 10.3390/metabo9060108.
5. Oliver S.G., Winson M.K., Kell D.B., Baganz F. (1998) Trends Biotechnol., **16**, 373-378.
6. Fiehn O. (2002) in: Functional Genomics (Town C., ed.), Springer, Dordrecht, pp. 155-171. DOI: 10.1007/978-94-010-0448-0_11.
7. Wishart D.S. (2016) Nat. Rev. Drug Discov., **15**, 473-484.
8. Kell D.B., Oliver S.G. (2016) Metabolomics, **12**, DOI: 10.1007/s11306-016-1108-4.
9. Smith C.A., O'Maille G., Want E.J., Qin C., Trauger S.A., Brandon T.R., Custodio D.E., Abagyan R., Siuzdak G. (2005) Therapeutic Drug Monitoring, **27**, 747-751.
10. Beger R.D., Dunn W.B., Bandukwala A., Bethan B., Broadhurst D., Clish C.B., Dasari S., Derr L., Evans A., Fischer S., Flynn T., Hartung T., Herrington D., Higashi R., Hsu P.C., Jones C., Kachman M., Karuso H., Kruppa G., Lippa K., Maruvada P., Mosley J., Ntai I., O'Donovan C., Playdon M., Raftery D., Shaughnessy D., Souza A., Spaeder T., Spalholz B., Tayyari F., Ubhi B., Verma M., Walk T., Wilson I., Witkin K., Bearden D.W., Zanetti K.A. (2019) Metabolomics, **15**, DOI: 10.1007/s11306-018-1460-7.
11. Beale D.J., Pinu F.R., Kouremenos K.A., Poojary M.M., Narayana V.K., Boughton B.A., Kanojia K., Dayalan S., Jones O.A.H., Dias D.A. (2018) Metabolomics, **14**, DOI: 10.1007/s11306-018-1449-2.
12. Zhang A., Sun H., Wang P., Han Y., Wang X. (2012) Analyst, **137**, 293-300.
13. Meier R., Ruttkies C., Treutler H., Neumann S. (2017) J. Biotechnol., **261**, 137-141.
14. Skelton D.M., Ekman D.R., Martinović-Weigelt D., Ankley G.T., Villeneuve D.L., Teng Q., Collette T.W. (2014) Environ. Sci. Technol., **48**, 2395-2403.
15. Wishart D.S. (2008) Trends Food Sci. Technol., **19**, 482-493.
16. Kim S., Kim J., Yun E.J., Kim K.H. (2016) Curr. Opin. Biotechnol., **37**, 16-23.

17. Pinu F.R. (2015) Food Res. Int., **72**, 80-81.
18. Savolainen O., Fagerberg B., Lind M.V., Sandberg A.S., Ross A.B., Bergström G. (2017) PLoS One, **12**, DOI: 10.1371/journal.pone.0177738.
19. Liu J., Semiz S., van der Lee S.J., van der Spek A., Verhoeven A., van Klinken J.B., Sijbrands E., Harms A.C., Hankemeier T., van Dijk K.W., van Duijn C.M., Demirkan A. (2017) Metabolomics, **13**, DOI: 10.1007/s11306-017-1239-2.
20. Shah S.H., Kraus W.E., Newgard C.B. (2012) Circulation, **126**, 1110-1120.
21. Shajahan-Haq A.N., Cheema M.S., Clarke R. (2015) Metabolites, **5**, 100-118.
22. Mehta K.Y., Wu H.-J., Menon S.S., Fallah Y., Zhong X., Rizk N., Unger K., Mapstone M., Fiandaca M.S., Federoff H.J., Cheema A.K. (2017) Oncotarget, **8**, DOI: 10.18632/oncotarget.20324.
23. Jelonek K., Widlak P. (2018) Wspolczesna Onkol., **22**, 135-140.
24. Corona G., Rizzolio F., Giordano A., Toffoli G. (2012) J. Cell Physiol., **227**, 2827-2831.
25. van der Greef J., van Wietmarschen H., van Ommen B., Verheij E. (2013) Mass Spectrom. Rev., **32**, 399-415.
26. Markley J.L., Brüschweiler R., Edison A.S., Eghbalnia H.R., Powers R., Raftery D., Wishart D.S. (2017) Curr. Opin. Biotechnol., **43**, 34-40.
27. Лохов П.Г., Арчаков А.И. (2008) Биомедицинская химия, **54**, 497-511 [Lokhov P.G., Archakov A.I. (2008) Biomeditsinskaya Khimiya, **54**, 497-511.]
28. Reo N.V. (2002) Drug Chemical Toxicol., **25**, 375-382.
29. Lei Z., Huhman D.V., Sumner L.W. (2011) J. Biol. Chem., **286**, 25435-25442.
30. van den Berg R.A., Hoefsloot H.C.J., Westerhuis J.A., Smilde A.K., van der Werf M.J. (2006) BMC Genomics, **7**, DOI: 10.1186/1471-2164-7-142.
31. Trifonova O., Lokhov P., Archakov A. (2013) Omi. A J. Integr. Biol., **17**, 550-559. DOI: 10.1089/omi.2012.0121.
32. Sugimoto M., Kawakami M., Robert M., Soga T., Tomita M. (2012) Curr. Bioinform., **7**, 96-108.
33. Dunn W.B., Broadhurst D.I., Atherton H.J., Goodacre R., Griffin J.L. (2011) Chem. Soc. Rev., **40**, 387-426.
34. Jolliffe I.T., Cadima J. (2016) Philos. Trans. R Soc. A Math. Phys. Eng. Sci., **374**, DOI: 10.1098/rsta.2015.0202.
35. Scholz M., Gatzek S., Sterling A., Fiehn O., Selbig J. (2004) Bioinformatics, **20**, 2447-2454.
36. Smilde A.K., Jansen J.J., Hoefsloot H.C.J., Lamers R.J.A.N., van der Greef J., Timmerman M.E. (2005) Bioinformatics, **21**, 3043-3048.
37. Vis D.J., Westerhuis J.A., Smilde A.K., van der Greef J. (2007) BMC Bioinformatics, **8**, DOI: 10.1186/1471-2105-8-322.
38. Jonsson P., Bruce S.J., Moritz T., Trygg J., Sjöström M., Plumb R., Granger J., Maibaum E., Nicholson J.K., Holmes E., Antti H. (2005) Analyst, **130**, 701-707.
39. Linden A. (2006) J. Eval. Clin. Pract., **12**, 132-139.
40. Bland J.M., Altman D.G. (2000) BMJ, **320**, 1468. DOI: 10.1136/bmj.320.7247.1468.
41. Westergren A., Karlsson S., Andersson P., Ohlsson O., Hallberg I.R. (2001) J. Clin. Nurs., **10**, 257-267.
42. Broeckling C.D., Reddy I.R., Duran A.L., Zhao X., Sumner L.W. (2006) Anal. Chem., **78**, 4334-4341.
43. Baran R., Kochi H., Saito N., Suematsu M., Soga T., Nishioka T., Robert M., Tomita M. (2006) BMC Bioinformatics, **7**, DOI: 10.1186/1471-2105-7-530.
44. Luedemann A., Strassburg K., Erban A., Kopka J. (2008) Bioinformatics, **24**, 732-737.
45. Denkert C., Budczies J., Weichert W., Wohlgemuth G., Scholz M., Kind T., Niesporek S., Noske A., Buckendahl A., Dietel M., Fiehn O. (2008) Mol. Cancer, **7**, DOI: 10.1186/1476-4598-7-72.
46. Govorun V.M., Moshkovskii S.A., Tikhonova O.V., Goufman E.I., Serebryakova M. V., Momynaliev K.T., Lokhov P.G., Khryapova E.V., Kudryavtseva L.V., Smirnova O.V., Toropyguine I.Y., Maksimov B.I., Archakov A.I. (2003) Biochemistry (Moscow), **68**, 42-49.
47. Lokhov P.G., Tikhonova O.V., Moshkovskii S.A., Goufman E.I., Serebriakova M.V., Maksimov B.I., Toropyguine I.Y., Zgoda V.G., Govorun V.M., Archakov A.I. (2004) Proteomics, **4**, 633-642.
48. Kanaeva I.P., Petushkova N.A., Lisitsa A.V., Lokhov P.G., Zgoda V.G., Karuzina I.I., Archakov A.I. (2005) Toxicol. Vitro, **19**, 805-812.
49. Lokhov P., Balashova E., Dashtiev M. (2009) Rapid Commun. Mass Spectrom., **23**, 680-682.
50. Balashova E.E., Dashtiev M.I., Lokhov P.G. (2012) Mol. Cell Proteomics, **11**, DOI: 10.1074/mcp.M111.014480.
51. Moshkovskii S., Pyatnitsky M., Lokhov P., Baranova A. (2015) in: Biomarkers in Disease: Methods, Discoveries and Applications: Biomarkers in Cancer (Preedy V.R. and Patel V.B., eds.) Springer Nature Switzerland AG, pp. 3-30. DOI: 10.1007/978-94-007-7681-4_14.
52. Balashova E.E., Lokhov P.G. (2010) J. Cancer Sci. Ther., **2**, 126-131.
53. Davidov E.J., Holland J.M., Marple E.W., Naylor S. (2003) Drug Discov. Today, **8**, 175-183.
54. Lokhov P.G., Dashtiev M.I., Moshkovskii S.A., Archakov A.I. (2010) Metabolomics, **6**, 156-163.
55. Лохов П.Г., Даутиев М.И., Бондарцов Л.В., Лисица А.В., Мошковский С.А., Арчаков А.И. (2009) Биомедицинская химия, **55**, 247-254. [Lokhov P.G., Dashtiev M.I., Bondartscov L.V., Lisitsa A.V., Moshkovskii S.A., Archakov A.I. (2009) Biomeditsinskaya Khimiya, **55**, 247-254.]
56. Lokhov P.G., Trifonova O.P., Maslov D.L., Balashova E.E., Archakov A.I., Shestakova E.A., Shestakova M.V., Dedov I.I. (2014) PLoS One, **9**, e105343. DOI: 10.1371/journal.pone.0105343.
57. Lokhov P.G., Kharybin O.N., Archakov A.I. (2012) Int. J. Mass Spectrom., **309**, 200-205.
58. Lokhov P.G., Trifonova O.P., Maslov D.L., Archakov A.I. (2013) Eur. J. Cancer Prev., **22**, 335-341.
59. Balashova E.E., Lokhov P.G., Maslov D.L., Trifonova O.P., Khasanova D.M., Zalyalova Z.A., Nigmatullina R.R., Archakov A.I., Ugrumov M.V. (2017) Curr. Metabolomics, **6**, DOI: 10.2174/2213235x05666170221161735.
60. Lokhov P.G., Balashova E.E., Trifonova O.P., Maslov D.L., Ponomarenko E.A., Archakov A.I. (2020) Int. J. Mol. Sci., **21**, DOI: 10.3390/ijms21020568.
61. Лохов П.Г., Лисица А.В., Арчаков А.И. (2017) Биомедицинская химия, **63**, 232-240. [Lokhov P.G., Lisitsa A.V., Archakov A.I. (2017) Biomeditsinskaya Khimiya, **63**, 232-240.]
62. Lokhov P.G., Maslov D.L., Kharibin O.N., Balashova E.E., Archakov A.I. (2017) BioData Min., **10**, DOI: 10.1186/s13040-017-0132-x.
63. Balashova E.E., Lokhov P.G., Ponomarenko E.A., Markin S.S., Lisitsa A.V., Archakov A.I. (2019) Per. Med., **16**, 133-144.
64. Лохов П.Г., Маслов Д.Л., Трифонова О.П., Балашова Е.Е., Арчаков А.И. (2014) Биомедицинская химия, **60**, 201-216. [Lokhov P.G., Maslov D.L., Trifonova O.P., Balashova E.E., Archakov A.I. (2014) Biomeditsinskaya Khimiya, **60**, 201-216.]

65. Лохов П.Г., Маслов Д.Л., Балашова Е.Е., Трифонова О.П., Медведева Н.В., Торховская Т.И., Ипатова О.М., Арчаков А.И., Малышев П.П., Кухарчук В.В., Шестакова Е.А., Шестакова М.В., Дедов И.И. (2015) Биомедицинская химия, **61**, 7-18. [Lokhov P.G., Maslov D.L., Balashova E.E., Trifonova O.P., Medvedeva N.V., Torkhovskaya T.I., Ipatova O.M., Archakov A.I., Malyshev P.P., Kukharchuk V.V., Shestakova E.A., Shestakova M.V., Dedov I.I. (2015) Biomeditsinskaya Khimiya, **61**, 7-18.]
66. Trifonova O.P., Maslov D.L., Mikhailov A.N., Zolotarev K.V., Nakhod K.V., Nakhod V.I., Belyaeva N.F., Mikhailova M.V., Lokhov P.G., Archakov A.I. (2018) Fishes, **3**, DOI: 10.3390/fishes3040039.
67. Maslov D.L., Trifonova O.P., Mikhailov A.N., Zolotarev K.V., Nakhod K.V., Nakhod V.I., Belyaeva N.F., Mikhailova M.V., Lokhov P.G., Archakov A.I. (2019) Fishes, **4**, DOI: 10.3390/fishes4020025.
68. Snytnikova O.A., Yanshole L.V., Isakov I.A., Yanshole V.V., Chernykh V.V., Stepanov D.A., Novoselov V.P., Tsentalovich Y.P. (2017) Metabolomics, **13**, DOI: 10.1007/s11306-017-1281-0.
69. Snytnikova O.A., Khlichkina A.A., Yanshole L.V., Yanshole V.V., Isakov I.A., Egorova E.V., Stepanov D.A., Novoselov V.P., Tsentalovich Y.P. (2017) Metabolomics, **13**, DOI: 10.1007/s11306-016-1144-0.
70. Yanshole V.V., Yanshole L.V., Snytnikova O.A., Tsentalovich Y.P. (2019) Metabolomics, **15**, DOI: 10.1007/s11306-019-1495-4.
71. Kokova D.A., Kostidis S., Morello J., Dementeva N., Perina E.A., Ivanov V.V., Ogorodova L.M., Sazonov A.E., Saltykova I.V., Mayboroda O.A. (2017) PLoS Negl. Trop. Dis., **11**, DOI: 10.1371/journal.pntd.0006044.
72. Kokova D., Verhoeven A., Perina E.A., Ivanov V.V., Knyazeva E.M., Saltykova I.V., Mayboroda O.A. (2020) PLoS Negl. Trop. Dis., **14**, e0008015. DOI: 10.1371/journal.pntd.0008015.
73. Пузанский Р.К., Емельянов В.В., Гавриленко Т.А., Шишова М.Ф. (2017) Вавиловский журнал генетики и селекции, **21**(1), 112-123. [Puzanskiy R.K., Yemelyanov V.V., Gavrilenko T.A., Shishova M.F. (2017) Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektii, **21**(1), 112-123.]
74. Пузанский Р.К., Емельянов В.В., Шишова М.Ф. (2018) Сельскохозяйственная биология, **53**, 15-28. [Puzanskiy R.K., Yemelyanov V.V., Shishova M.F. (2018) Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya, **53**, 15-28.]
75. Пузанский Р.К., Емельянов В.В., Шаварда А.Л., Гавриленко Т.А., Шишова М.Ф. (2018) Физиология растений, **65**(6), 451-462. [Puzanskiy R.K., Yemelyanov V.V., Shavarda A.L., Gavrilenko T.A., Shishova M.F. (2018) Fiziologiya Rasteniy, **65**(6), 451-462.]
76. Shishova M., Puzanskiy R., Gavrilova O., Kurbanniazov S., Demchenko K., Yemelyanov V., Pendinen G., Shavarda A., Gavrilenko T. (2019) Metabolites, **9**, DOI: 10.3390/metabo9020024.
77. Трифонова О.П., Лохов П.Г., Арчаков А.И. (2014) Биомедицинская химия, **60**, 281-294. [Trifonova O.P., Lokhov P.G., Archakov A.I. (2014) Biomeditsinskaya Khimiya, **60**, 281-294.]
78. Лисица А.В., Лохов П.Г., Пономаренко Е.А., Арчаков А.И. (2016) Вестник Российской Академии Медицинских Наук, **71**, 255-260. [Lisitsa A.V., Ponomarenko E.A., Lokhov P.G., Archakov A.I. (2016) Vestn. Ross. Akad. Meditsinskikh Nauk, **71**, 255-260.]
79. Lokhov P.G., Voskresenskaya A.A., Trifonova O.P., Maslov D.L., Shestakova E.A., Balashova E.E., Lisitsa A.V. (2015) Int. J. Mass. Spectrom., **388**, 53-58.
80. Maslov D.L., Trifonova O.P., Balashova E.E., Lokhov P.G. (2019) Int. J. Mol. Sci., **20**, DOI: 10.3390/ijms20235957.
81. Trifonova O.P., Maslov D.L., Balashova E.E., Lokhov P.G. (2019) Metabolites, **9**, DOI: 10.3390/metabo9110277.
82. Lokhov P.G., Dashtiev M.I., Moshkovskii S.A., Archakov A.I. (2009) Metabolomics, **6**, 156-163.
83. Tabák A.G., Herder C., Rathmann W., Brunner E.J., Kivimäki M. (2012) Lancet, **379**, 2279-2290.
84. McDonald G.W., Fisher G.F., Burnham C. (1965) Diabetes, **14**, 473-480.
85. Ko G.T.C., Chan J.C.N., Woo J., Lau E., Yeung V.T.F., Chow C.C., Cockram C.S. (1998) Ann. Clin. Biochem., **35**, 62-67.
86. Temelkova-Kurktschiev T.S., Hanefeld M. (2002) Clin. Lab., **48**, 143-152.
87. Lokhov P.G., Balashova E.E., Voskresenskaya A.A., Trifonova O.P., Maslov D.L., Archakov A.I. (2016) Biomed. Rep., **4**, 122-126.
88. Lokhov P.G., Trifonova O.P., Maslov D.L., Lichtenberg S., Balashova E.E. (2020) Diagnostics, **10**(5), 332. DOI: 10.3390/diagnostics10050332.
89. Trifonova O.P., Maslov D.L., Balashova E.E., Urazgildeeva G.R., Abaimov D.A., Fedotova E.Y., Poleschuk V.V., Illarionov S.N., Lokhov P.G. (2020) Diagnostics, **10**(5), 339. DOI: 10.3390/diagnostics10050339.
90. Маслов Д.Л., Балашова Е.Е., Лохов П.Г., Арчаков А.И. (2017) Биомедицинская химия, **63**, 115-123. [Maslov D.L., Balashova E.E., Lokhov P.G., Archakov A.I. (2017) Biomeditsinskaya Khimiya, **63**, 115-123.]
91. Maslov D.L., Balashova E.E., Trifonova O.P., Lokhov P.G. (2018) Curr. Pharmacogenomics Person. Med., **16**, 192-198.
92. Balashova E.E., Maslov D.L., Lokhov P.G. (2018) J. Pers. Med., **8**, DOI: 10.3390/jpm8030028.
93. Psychogios N., Hau D.D., Peng J., Guo A.C., Mandal R., Bouatra S., Sinelnikov I., Krishnamurthy R., Eisner R., Gautam B., Young N., Xia J., Knox C., Dong E., Huang P., Hollander Z., Pedersen T.L., Smith S.R., Bamforth F., Greiner R., McManus B., Newman J.W., Goodfriend T., Wishart D.S. (2011) PLoS One, **6**, DOI: 10.1371/journal.pone.0016957.
94. Mishur R.J., Rea S.L. (2012) Mass Spectrom. Rev., **31**, 70-95.
95. He Y., Yu Z., Giegling I., Xie L., Hartmann A.M., Prehn C., Adamski J., Kahn R., Li Y., Illig T., Wang-Sattler R., Rujescu D. (2012) Transl. Psychiatry, **2**, e149. DOI: 10.1038/tp.2012.76.
96. Gorbunova V., Seluanov A., Zhang Z., Gladyshev V.N., Vijg J. (2014) Nat. Rev. Genet., **15**, 531-540.
97. Selman C., Withers D.J. (2011) Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci., **366**, 99-107.
98. Moskalev A.A., Pasyukova E.G. (2014) Front. Genet., **5**, DOI: 10.3389/fgene.2014.00276.
99. Rosenberg I.H. (2011) Clin. Geriatr. Med., **27**, 337-339.
100. Payne B.A.I., Chinnery P.F. (2015) Biochim Biophys Acta – Bioenerg., **1847**, 1347-1353.

Поступила в редакцию: 11. 05. 2020.
После доработки: 11. 06. 2020.
Принята к печати: 20. 06. 2020.

**TEN YEARS OF THE RUSSIAN METABOLOMICS:
HISTORY OF DEVELOPMENT AND ACHIEVEMENTS**

P.G. Lokhov, E.E. Balashova, O.P. Trifonova, D.L. Maslov, A.I. Archakov*

Institute of Biomedical Chemistry,
10 Pogodinskaya str., Moscow, 119121 Russia; *e-mail: balashlen@mail.ru

Metabolomics is one of the omics sciences, the technologies of which are widely used today in many life sciences. Its application influenced the discovery of new biomarkers of diseases, the description of biochemical processes occurring in many organisms, laid the basis for a new generation of clinical laboratory diagnostics. The purpose of this review is to show how metabolomics is represented in the studies of Russian scientists, to demonstrate the main directions and achievements of the Russian science in this field. The review also highlights the history of metabolomics, existing problems and the place of Russian metabolomics in their solution.

Key words: metabolomics; mass spectrometry; Russian science; Institute of Biomedical Chemistry; diagnosis of diseases

Funding. The work was performed within the framework of the Program for Basic Research of State Academies of Sciences for 2013-2020.

Received: 11.05.2020, revised: 11.06.2020, accepted: 20.06.2020.