

©Коллектив авторов

МЕТАБОЛОМНОЕ ПРОФИЛИРОВАНИЕ В ИЗУЧЕНИИ ПРОЦЕССОВ СТАРЕНИЯ

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

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

Старение живого организма тесно связано с системными метаболическими изменениями, но из-за многоуровневого и сетевого характера метаболических путей возникает сложность понимания этих связей. Сегодня эту проблему решают с помощью одного из основных подходов метаболомики — ненаправленного метаболомного профилирования. Цель данной работы — систематизировать результаты метаболомных исследований, основанных на таком профилировании и выполненных как на модельных животных, так и на человеке.

Ключевые слова: метаболомика; метаболомное профилирование; старение; животные модели; человек

DOI: 10.18097/PBMC20226805321

ВВЕДЕНИЕ

Последние несколько десятилетий продолжительность жизни людей в мире неуклонно растёт на фоне снижения рождаемости [1]. Старение населения стало глобальным явлением и, возможно, одной из наиболее значительных социальных трансформаций XXI века, повлёкших за собой проблемы для экономики, а также сложные социальные проблемы, в частности, для здравоохранения, поскольку старение часто сопровождается инвалидностью, сердечно-сосудистыми заболеваниями, хроническими заболеваниями дыхательных путей, болезнью Альцгеймера, артритом и диабетом [2, 3]. Таким образом, возникла необходимость изучения молекулярных механизмов старения с целью уменьшения или устранения связанных с ним симптомов [4].

При старении происходит множество преобразований в организме на всех уровнях его организации, от клеточных органелл до систем органов, которые приводят к широкому спектру функциональных и органических изменений. За последние 30 лет геронтологические исследования привели к впечатляющим успехам в понимании генетического контроля старения [5]. Генетические исследования уделяют большое внимание факторам, влияющим как на продолжительность жизни, так и на успешное старение, которое учёные понимают как отсутствие хронических заболеваний и способность эффективно функционировать на физиологическом и психологическом уровне [5-8]. Продолжительность жизни определяется сложным взаимодействием множества факторов (от генетических до многочисленных факторов окружающей среды) [9]. Базовые постгеномные “омиксные” науки, такие как транскриптомика, протеомика и метаболомика, могут предоставить дополнительную информацию об изменениях в организме на “надгенных” молекулярных уровнях (от транскриптов до низкомолекулярных веществ) [10]. При этом метаболомика занимает особое место, поскольку метаболом, являясь конечной точкой всех

биологических событий, протекающих в организме, способен обеспечить исчерпывающей информацией для понимания молекулярных механизмов старения.

1. ТЕОРИИ СТАРЕНИЯ

В свете применения метаболомики для изучения старения прежде всего необходимо обратить внимание на связанные с метаболитами теории старения, такие как теория свободных радикалов и теория ограничений калорий [4, 11, 12] (рис. 1).

Свободнорадикальная теория старения, одна из наиболее старейших, впервые предложена Harman в 50-х гг. прошлого века [4, 13]. Согласно этой теории, свободные радикалы представляют наибольшую опасность для ДНК. Если ДНК необратимо повреждена, это имеет серьезные последствия для здоровья человека, что проиллюстрировано несколькими наследственными нарушениями репарации ДНК, которые ведут к проявлению признаков преждевременного старения [14]. Повреждение больших молекул свободными радикалами известно как окислительный стресс, и именно его Harman предложил как причину старения, а затем как фактор хронического воспаления. В 1970-х годах Harman сделал предположение о ключевой роли митохондрий в образовании свободных радикалов, повреждающих клетки, и предложил митохондриальную теорию старения [15]. Согласно этой теории, старение происходит из-за кумулятивного воздействия свободных радикалов на митохондриальную ДНК. Первоначально теорию не слишком поддержало научное сообщество. Она получила признание лишь с открытием супероксиддисмутазы (СОД, фермента, разлагающего супероксидный радикал) и выяснением роли митохондрий в генерации пероксида водорода. Позже в подкрепление митохондриальной теории старения появились исследования, демонстрирующие, что эктоплазматическая экспрессия “поглотителей радикалов”, таких как каталаза и СОД, способствует увеличению продолжительности жизни в экспериментальных



Рисунок 1. Теории старения, связанные с метаболизмом (теория свободных радикалов и теория ограничения калорий). Адаптировано из [4]. Согласно свободнорадикальной теории старения причиной старения является окислительный стресс (повреждение больших молекул свободными радикалами). Эктопическая экспрессия “поглотителей радикалов”, таких как каталаза и СОД, способствует увеличению продолжительности жизни модельных животных. Снижение окислительного стресса вследствие ограничения калорийности (ОК) или интервального голодания, а также воздействия химических соединений, имитирующих условия ОК, также увеличивает продолжительность жизни. Во время ОК активируются или инактивируются сигнальные молекулы – сиртуины, TOR-киназа и АМР-зависимая протеинкиназа. Одна из целей этих сигналов – транскрипционный фактор FOXO, который активирует “поглотители радикалов”. Розовым цветом обозначено влияние, приводящее к снижению уровня окислительного стресса и замедлению старения организма. Голубым цветом обозначено активирующее (→) или ингибирующее (⊣) влияние на процессы, связанные со старением.

моделях [16, 17]. Кроме того, генетические манипуляции с целью увеличения продолжительности жизни сопровождаются увеличением уровня антиоксидантов, например, у мышей [18].

Теория ограничения калорий говорит о том, что ограничение калорийности (ОК) или интервальное голодание (ИГ) эффективно увеличивают продолжительность жизни (ПЖ) модельных животных. Когда потребление калорий снижается на 20-30%, ПЖ увеличивается на 20% и более у таких животных, как мыши, мухи, рыбы, пауки и т.д. [4, 19]. Во время ОК наблюдается снижение окислительного стресса, что указывает на его роль в рамках данной теории [20]. Во время ОК активируются или инактивируются некоторые сигнальные молекулы, такие как сиртуин, TOR-киназа, АМР-активируемая протеинкиназа. Одна из мишеней для этих сигналов — транскрипционный фактор FoxO семейства Fox (Forkhead box), который активирует группу генов “мусорщиков” радикалов [21-24] и действует как опухолевый супрессор. Транскрипционный фактор FoxO участвует также в регуляции пролиферации, дифференцировки клеток, апоптоза, клеточного ответа на стресс, а также старения и продолжительности жизни на уровне организма [25]. Результаты недавно проведенного исследования свидетельствуют в пользу того, что модуляция FoxO сигнальными молекулами индуцирует устранение

стареющих клеток в организме [26]. Интересно, что химические соединения, имитирующие условия ОК, эффективны как для увеличения продолжительности жизни организма в экспериментальных моделях, так и для лечения болезней, связанных со старением: ресвератрол (активатор сиртуинов) против ожирения, рапамицин (ингибитор TOR-киназы) как противоопухолевый препарат или иммуносупрессор, метформин (активатор АМР-активируемой протеинкиназы) в терапии диабета [27-30]. О влиянии ОК или голодания на ПЖ человека пока мало что известно. Есть данные, что некоторые из метаболитов взаимодействуют с сигнальными молекулами или служат в качестве антиоксидантов [4].

Митохондриальная теория старения стала подвергаться сомнению примерно с 2005 года. Недавние генетические исследования показывают, что ПЖ нематод *Caenorhabditis* и дрозофил увеличивается за счёт частичной инактивации митохондриальной СОД, белка митохондриального комплекса III и митохондриальных рибосомных белков [31]. Более того, было замечено, что низкий уровень активных форм кислорода может улучшить системные защитные механизмы, вызвав адаптивный ответ (“митогормезис” [32]) и увеличить ПЖ нематод. На основании новых данных выдвинута гипотеза о том, что митогормезис может протекать в макрофагах млекопитающих [33].

Противоречивые данные о взаимосвязи окислительного стресса и долголетия нельзя игнорировать. В клинических испытаниях добавка с антиоксидантами, бета-каротином, витамином А или витамином Е снижает смертность у людей [34]. Что касается “гипотезы ограничения калорий”, долгосрочные клинические исследования по ОК у людей очень затруднительны, за исключением ожирения или диабета. Например, некоторые эпидемиологические исследования показывают, что люди с небольшим избыточным весом живут дольше [35]. Помимо ОК изучаются добавки некоторых метаболитов, например никотинамидмононуклеотида (NMN) [36], как интервенционный подход против старения человека. Комбинация упражнений и добавок аминокислот с разветвлённой цепью укрепляет мышцы нижних конечностей при физической слабости [37].

Таким образом, некоторые из существующих теорий старения указывают на то, что старение сопровождается системными метаболическими изменениями, исследование которых требует панорамных методов измерения множества метаболитов, что обеспечивается методами метаболомики.

2. МЕТАБОЛОМНОЕ ПРОФИЛИРОВАНИЕ

Метаболомика — самая молодая и быстро развивающаяся среди “омиксных” наук, дающая возможность получить картину текущего метаболического статуса организма, связанного с физиологическими и патофизиологическими процессами [38, 39]. Предметом исследования метаболомики являются многочисленные низкомолекулярные вещества как эндогенного,

так и экзогенного происхождения. Они являются участниками метаболических путей и могут служить биомаркерами, указывающими на различные физиологические и/или патологические состояния организма [4, 40]. Более того, метаболом является финальной точкой каскадов биологических событий, возникающих в результате сложного взаимодействия генов, экспрессии белков, биохимических реакций и результата воздействия окружающей среды [41], что делает метаболические профили источником новых данных для гипотез молекулярных механизмов старения [42–48].

В последние годы панорамное профилирование метаболитов превратилось в эффективный инструмент исследования биологических процессов, связанных со старением [41, 42, 46]. Метаболомное профилирование — это новый метод, который направлен на одновременное измерение большого количества низкомолекулярных веществ в биологических образцах [49–51]. Сильная сторона профилирования метаболитов заключается в его нецелевом характере, что позволяет выявлять новые знания, отслеживая изменения во всём разнообразии метаболитов [45]. Пример такого ненаправленного метаболомного профилирования в исследовании процессов старения представлен на рисунке 2. Ненаправленное профилирование метаболитов практически с клинической точки зрения, а именно для мониторинга процесса старения, а также внедрения профилактических и терапевтических антиэйджинговых стратегий [52–54].

Информацию о сотнях или тысячах метаболитов в исследуемом образце за один анализ обеспечивает спектрометрия на основе

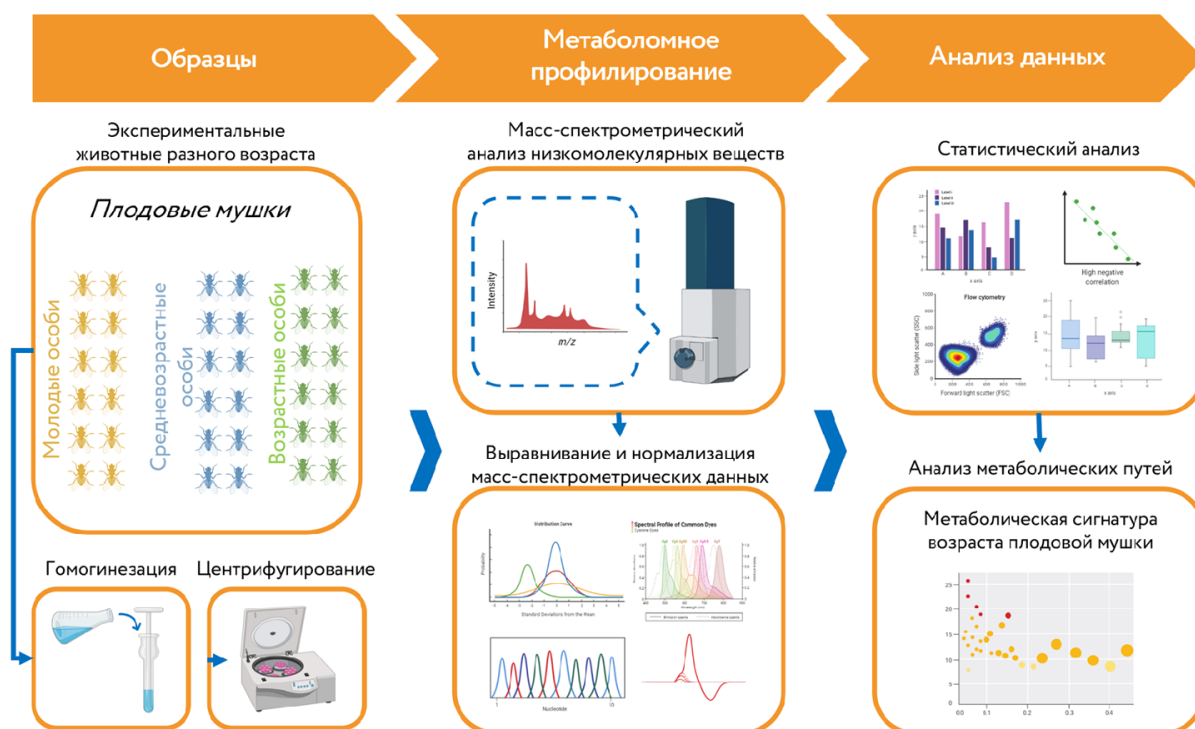


Рисунок 2. Пример метаболомного профилирования плодовой мушки в исследовании процессов старения. Адаптировано из [55].

ядерного магнитного резонанса (ЯМР) или масс-спектрометрии (МС), которая может быть сопряжена с высокоэффективной жидкостной (ВЭЖХ) или с газовой хроматографией (ГХ) [56, 57]. Каждый из этих инструментов обладает своими преимуществами и недостатками, и может быть использован для поиска биомаркеров, а также предоставления информации о метаболических профилях тканей, клеток, биологических жидкостей, тем самым описывая молекулярный фенотип здоровья и болезней, в том числе старения [58]. Основными достоинствами ЯМР-спектроскопии являются: возможность использования одних и тех же образцов для многочисленных измерений, высокая воспроизводимость, универсальность и возможность измерения метаболитов без их предварительного разделения хроматографией. Но ЯМР-спектроскопия имеет существенно более низкую чувствительность, чем МС, и может использоваться только для анализа метаболитов с относительно высокой концентрацией [56]. Масс-спектрометры же позволяют анализировать сотни или тысячи метаболитов в одном образце в пико- и фемтомольных концентрациях как после предварительного разделения веществ образца с помощью хроматографии или электрофореза, так и без разделения, то есть методом так называемой прямой масс-спектрометрии (англ. Direct Infusion Mass Spectrometry, DIMS), которая предусматривает непосредственное внесение анализируемого биоматериала в источник ионизации масс-спектрометра [56]. Это делает МС основным аналитическим инструментом в метаболомике [59].

Для панорамного анализа, когда нужно получить данные о множестве метаболитов, относящихся к различным химическим классам и метаболическим путям, требуются доступные в настоящее время масс-спектрометры высокого разрешения [60]. МС с прямой инъекцией образца и МС, сопряжённая с высокоэффективной жидкостной хроматографией (ВЭЖХ-МС), являются сегодня методами выбора и широко используются для метаболомного профилирования сложных биологических объектов [61-63].

В результате применения современной МС формируется большой массив данных, который требует дальнейшей биоинформатической обработки для выявления нужной информации [64]. В первую очередь, МС данные подвергают стандартизации или нормализации с целью приведению их к единому формату [56]. Далее, чтобы уменьшить размерность данных, потеряв наименьшее количество информации, используют, например, метод главных компонент (англ. Principal Component Analysis, PCA) или метод независимых компонент (англ. Independent Component Analysis, ICA). PCA является предпочтительным для метаболомного анализа и может быть выполнен большинством статистических программ [65, 66]. ICA используют в метаболомике, когда выбор компоненты не так критичен, так как позволяет игнорировать техническую вариабельность масс-спектров, полученных на разных приборах [67]. Также возможно совместное использование нескольких методов [68, 69].

Выбор дальнейшего метода обработки полученных данных напрямую зависит от цели исследования [60, 70]. Классификация образцов обычно требует применения кластерного анализа. Для идентификации биомаркеров, применяют методы, работающие на группах образцов, с заранее известными параметрами (например, принадлежность образцов субъектам разного возраста) [71]. Одним из наиболее часто используемых методов оценки диагностической или прогностической силы молекулярных биомаркеров является площадь под ROC-кривой (англ. Area Under Receiver-Operator Characteristic Curve, AUC) [72].

В последнее время из-за нарастающего числа метаболомных исследований стала актуальной разработка специального программного обеспечения для анализа спектров метаболитов (например, MET-IDEA [73], MathDAMP [74] и TagFinder [75]). Многие фирмы-производители масс-спектрометрического оборудования предлагают свои собственные программные пакеты для анализа метаболомных данных. Например, коммерческое программное обеспечение Metabolic Profiler ("Bruker Daltonics Ltd", США) позволяет проводить предварительную обработку получаемых масс-спектрометрических метаболомных данных и сравнительный анализ профилей метаболитов.

Помимо идентификации биомаркеров, относящихся к процессу старения, анализ полученных метаболических профилей позволяет системно анализировать изменения в метаболических путях. Информацию о том, в каких именно метаболических путях задействованы выявленные метаболиты, можно получить в таких базах данных как KEGG (англ. Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes) или HMDB (англ. Human Metabolome Database) [65, 76]. Известные на сегодняшний день метаболические изменения, связанные с возрастом, находятся в базе данных MetaboAgeDB [77]. При этом аннотации метаболитов включают химический состав, метод обнаружения метаболита, концентрационные данные для нормы и патологических состояний, а также информацию о метаболических путях, в которые вовлечены метаболиты.

3. НЕНАПРАВЛЕННОЕ МЕТАБОЛОМНОЕ ПРОФИЛИРОВАНИЕ В ИЗУЧЕНИИ ПРОЦЕССОВ СТАРЕНИЯ НА ЖИВОТНЫХ МОДЕЛЯХ

Старение — это фундаментальный биологический процесс, механизм которого до сих пор в значительной степени неизвестен из-за его сложной и многофакторной природы. Модели на животных упрощают его изучение, поэтому значительный объём знаний получен именно в таких исследованиях [78]. Сложные взаимодействия между факторами, оказывающими влияние на старение и ПЖ, и генами, которые влияют на долголетие, легче изучать у короткоживущих, более простых организмов. Дрожжи, черви, плодовые мушки или модели млекопитающих, таких как мыши, собаки, обезьяны, уже помогли пролить свет на процессы

старения [79]. Основываясь на генетических исследованиях на животных моделях, стало известно несколько механизмов старения, связанных с метаболизмом [80-83].

Несмотря на то, что низшие организмы не кажутся моделью, пригодной для исследования биологических процессов и заболеваний млекопитающих, тем не менее, их широко используют в качестве эффективной модели для выяснения молекулярных основ старения. Многие внутриклеточные и межклеточные сигнальные пути, а также молекулярные взаимодействия между тканями организма имеют высокую степень гомологии даже среди эволюционно удаленных организмов [84]. Основные преимущества и недостатки модельных организмов представлены в таблице 1.

Преимущества животных моделей заключаются в снижении затрат, простоте содержания исследуемых организмов и возможности моделирования экспериментов в лабораторных условиях [87-89]. Короткая ПЖ простых организмов является ещё одним ключевым преимуществом в исследованиях старения, что позволяет проводить как параллельные, так и серийные эксперименты в разумные сроки [79]. Безусловно, прямая экстраполяция биологических механизмов, обнаруженных у беспозвоночных, рыб и т.д., на организмы млекопитающих может быть не совсем корректной, но она проливает свет на существующее в природе разнообразие молекулярных основ ПЖ и долголетия.

Следует отметить ряд метаболомных исследований старения, выполненных на животных моделях как млекопитающих (мыши, крысы, собаки) [58, 78, 90, 91], так и не относящихся к млекопитающим (позвоночные и беспозвоночные) [55, 92, 93] (табл. 2). Как правило, ранние работы были составной частью комплексных исследований, включающих в себя, помимо метаболомики, гистологические, биохимические и генетические исследования.

3.1. Метаболомное профилирование дрозофил

Дрозофила — один из наиболее изученных и широко используемых модельных организмов для различных биомедицинских исследований. Высокая степень гомологии внутриклеточных процессов с клетками млекопитающих делает фруктовых мушек привлекательным инструментом для проведения исследований в клеточной биологии, генетике, в изучении болезней человека.

В работе Маслова и соавт. в основе выявления признаков долголетия лежало сравнительное изучение метаболомного состава 12 видов *Drosophila* с разной ПЖ (*D. virilis*, *D. ananassae*, *D. saltans*, *D. simulans*, *D. austrosaltans*, *D. bipectinata*, *D. yakuba*, *D. melanogaster*, *D. willistoni*, *D. erecta*, *D. kikkawai*, *D. biarmipes*) [55]. У изучаемых видов идентичное строение тела и жизненный цикл [108], в то же время в результате длительной эволюции они приобрели значительные фенотипические различия (размер, вес, и т.п.) [109]. В качестве оценки степени старения был предложен относительный возраст, который выражали в процентах

от максимальной ПЖ вида. Таким образом, образцы равного относительного возраста от каждого вида были отобраны и объединены в когорты для сравнительного анализа (долгоживущие виды, среднеживущие виды и короткоживущие виды) [55]. Для анализа метаболитических профилей была использована прямая МС.

Результаты метаболомного профилирования показали существенное различие в метаболитах, относящихся к разным химическим классам: углеводы, аминокислоты, карнитины, биогенные амины и липиды [55]. Самый высокий уровень отличий в метаболитах наблюдался у долгоживущих видов. Было высказано предположение, что такой уровень может быть вызван активацией путей, включающих эти метаболиты. Проекция метаболитов на метаболитические пути позволила выявить семь задействованных метаболитических путей: биосинтез аминокислот-гРНК, биосинтез валина, лейцина и изолейцина, биосинтез аргинина, метаболизм аргинина и пролина, метаболизм аланина, аспартата и глутамата, метаболизм глицина, серина и треонина, метаболизм крахмала и сахарозы [55]. Результаты сравнительного анализа метаболитического состава позволили определить биологические пути, которые эволюционно разошлись между близкородственными видами [55]. Некоторые из этих путей могут быть связаны с быстрым или медленным темпом развития возрастных процессов, в особенности те, которые связаны с энергетическим обменом. Усиление энергетического метаболизма клеток является одним из потенциальных механизмов, связанных с долголетием [55].

В работе Аванесова и соавт. использовали нецелевую ЖХ с tandemной МС для определения профиля метаболитов, чтобы изучить возрастные изменения >15000 метаболитов у самцов *D. melanogaster*, с контрольным рационом питания и с ограниченным рационом, увеличивающим ПЖ [45]. Авторы обнаружили, что с возрастом наблюдается увеличение разнообразия метаболитов, ассоциированных с возрастом, и их низким содержанием, что предположительно указывает на кумулятивный эффект, в результате которого многочисленные повреждения могут оказывать аддитивное воздействие на ПЖ организма. Содержание целевых метаболитов изменялось аналогично нецелевым метаболитам, но разнообразие не увеличивалось. Целевое профилирование также выявило более медленный метаболизм и накопление молекул, ограничивающих ПЖ. Авторы делают вывод, что старение характеризуется постепенным ремоделированием метаболома, а замедление этого ремоделирования связано с молекулярным повреждением и ПЖ [45].

В работе Hoffman и соавт. [44] описывается влияние возраста, пола, генотипа и их взаимодействия на полученные с помощью ЖХ-МС метаболитические профили 15 инбредных линий *D. melanogaster*. Среди 6800 проанализированных масс-спектрометрических пиков метаболитов, более четверти были в значительной степени связаны с возрастом, полом, генотипом или

Таблица 1. Основные характеристики различных модельных организмов для исследования старения. Адаптировано из Allard J.B. et al. [85], Taormina G. et al. [79] и Strange K. [86]

Модельный организм	Дрозофила	Рыбы				Мыши	Крысы	Собаки
		Щука	Сазан	Лосось тихоокеанский				
Продолжительность жизни*	4-6 недель	7-10 лет	20 лет	Несколько лет	1-3 года	2-3 года	6-16 лет	
Размер генома	8 хромосом 14065 генов	18 хромосом ~22000 генов	104 хромосомы	52-74 хромосомы до 40000 генов	40 хромосом 29083 гена	42 хромосомы ~25000 генов	78 хромосом 36322 гена	
Сходство с геномом человека	~50%	>70%	>70%	>70%	~83%	~90%	~85%	
Возраст половой зрелости*	10 дней	3-5 лет	2-5 лет	2-5 лет	9-12 недель	1,5-3 месяца	14-18 месяцев	
Размер потомства*	~120 яиц	от 18000 до 220000 икринок	до 1,5 млн икринок	не более 20000 икринок	6-12 детёнышей	8-10 детёнышей	3-8 детёнышей	
Преимущества	<ul style="list-style-type: none">– короткий жизненный цикл– быстрое наступление половой зрелости и высокая плодовитость– простота в разработке модели заболевания– низкая стоимость и содержания– нет необходимости в соблюдении этических требований– широкий спектр фенотипов– некоторые внутриклеточные процессы схожи или гомологичны клеткам человека	<ul style="list-style-type: none">– относятся к позвоночным– высокая плодовитость– нет необходимости в соблюдении этических требований– большинство внутриклеточных процессов и многие физиологические процессы аналогичны млекопитающим				<ul style="list-style-type: none">– млекопитающие– относительно короткоживущие– доступны для многих генетических манипуляций– высокая степень сродства с геномом человека– большинство клеточных процессов и физиологических процессов аналогичны человеку– большое количество фенотипов– линии могут быть заархивированы путём криоконсервации эмбрионов и спермы		<ul style="list-style-type: none">– млекопитающие– высокая степень сродства с геномом человека– большинство клеточных процессов и физиологических процессов аналогичны человеку
Недостатки	<ul style="list-style-type: none">– эволюционно удалены от человека– линии необходимо поддерживать постоянно	<ul style="list-style-type: none">– эволюционно удалены от человека– длинный жизненный цикл				<ul style="list-style-type: none">– длинный жизненный цикл– дорогое содержание и стоимость животных– необходимость в соблюдении этических требований– чрезмерное доверие, как к доклиническим моделям: многие препараты, эффективные у мышей и крыс, не работают на людях		<ul style="list-style-type: none">– длинный жизненный цикл– очень дорогое содержание и стоимость животных– необходимость в соблюдении этических требований– необходимость в соблюдении этических требований

Примечание: * – среднее значение.

Таблица 2. Объекты, методы и основные результаты исследований, представленных в обзоре

Объект исследования	Методы профилирования	Материал исследования	Метаболиты и метаболические пути, изменяющиеся при старении	Год публикации	Ссылка
Дрозофилы	МС с прямой инъекцией	Целые мухи	Углеводы, аминокислоты, карнитины, биогенные амины, липиды	2021	[55]
	ЖХ-МС	Целые мухи	Динамика многих метаболитов на протяжении жизни	2014	[45]
	ЖХ-МС	Целые мухи	Метаболизм углеводов, глицерофосфолипидов, нейромедиаторов, аминокислот и карнитиновый челнок	2014	[44]
	ЖХ-МС	Голова, грудная клетка, живот, целые мухи	Метаболизм аминокислот и NAD ⁺	2014	[94]
	ЖХ-МС	Целые мухи	Метаболизм аргинина- орнитина, метаболизм триптофана	2022	[95]
Рыбы	ЖХ-МС	Целые мухи	Гликолиз	2018	[96]
	МС с прямой инъекцией	Плазма крови	Дипептиды, ди- и триглицериды, жирные кислоты, фосфогликолипины	2018	[92]
	МС с прямой инъекцией	Скелетные мышцы	Аминокислоты, липиды, биогенные амины, интермедиаты гликолиза, гликогенолиза и цикла лимонной кислоты	2019	[93]
	ГХ-МС, ЖХ-МС	Плазма крови, мышечная ткань (квадрицепс), печень	Метаболизм жирных кислот и глюкозы	2011	[58]
	ЖХ-МС	Сыворотка крови	Фосфолипиды, жирные кислоты и органические кислоты, креатин, метионин, мочевая кислота	2013	[97]
Мыши	ЯМР-спектроскопия	Сыворотка крови, моча	Изменения липидного и энергетического метаболизма, переход к кетозу	2010	[78]
	ЯМР-спектроскопия, ЖХ-МС	Моча	Метаболизм аминокислот и жирных кислот, метаболизм глюкозы, креатинин, таурин, гиппурат, цитрат	2005	[90]
	ГХ-МС	Плазма крови	Гексадекановая кислота, линолевая кислота, олеиновая кислота, стеариновая кислота, 3-гидроксимасляная кислота, лимонная кислота, треоновая кислота, тирозин, триптофан, треоин, фенилаланин, серин, орнитин, метионин, 3-гидроксибутират, креатинин, эритроза, мио-инозитол, D-метилглутаминоид, токоферол, ситостерол и незатерифицированный холестерин	2008	[98]
	ЖХ-МС	Печень, сыворотка крови	Органические кислоты и их производные, липиды и липидоподобные молекулы, глицерофосфолипиды, арахидоновая кислота, гистидин, линолеат	2021	[99]
	ЯМР-спектроскопия	Моча	Метаболиты, связанные с энергетическим обменом	2007	[91]
Собаки	ЯМР-спектроскопия	Сыворотка крови	Липиды, холестерин, триглицериды, липопротеины, маркер гликозилирования белков GlycA	2022	[100]
	ЖХ-МС, ГХ-МС	Плазма крови	Промежуточные продукты трикарбоновых кислот, креатин, незаменимые и заменимые аминокислоты, мочевины, орнитин, полиамины и маркеры окислительного стресса, продукты метаболизма липидов (включая жирные кислоты, карнитин, β-гидроксибутират и холестерин), дегидроэпиандростерон-сульфата (предполагаемый антивозрастной андроген), ксенобиотики (например, кофеин)	2008	[101]
Человек	ЖХ-МС	Цельная кровь, плазма крови и эритроциты	1,5-ангидроглюцитол, диметилгуанозин, ацетилкарнозин, карнозин, офтальмат, UDP-ацетилглюкозамин, N-ацетиларгинин, N6-ацетиллизин, пантотенат, цитруллин, лейцин, изолейцин, NAD ⁺ и NADP ⁺	2021 2016	[4] [102]
	ЖХ-МС	Плазма крови	Метаболизм прогестинных стероидов, ксантина и жирных кислот с длинной цепью	2020 2015	[103] [104]
	ЖХ-МС	Плазма крови	Сфинголипиды, липидные стероиды (включая андрогены, прогестины и прегненолоны), аминокислоты	2019	[105]
	ЖХ-МС	Плазма крови, сыворотка крови	Липиды (длинноцепочечные жирные кислоты, полиненасыщенные жирные кислоты, и другие жирные кислоты), аминокислоты (включая глютамин, тирозин, гистидин)	2013	[106]
	ЖХ-МС, ГХ-МС	Сыворотка крови	Аминокислоты, липиды (жирные кислоты, андрогенные стероиды)	2015	[107]

их взаимодействием, а многофакторный анализ показал, что индивидуальные метаболические профили для этих признаков в высокой степени предсказуемы. Путём проекции метаболитов на метаболические пути были определены метаболические пути, связанные с возрастом, полом и генотипом, включая пути, связанные с метаболизмом углеводов и глицерофосфолипидов, нейромедиаторов, аминокислот и карнитинового челнока [44]. Результаты показали, что метаболом очень чувствителен к физиологическому состоянию, на которое влияют пол, возраст и лежащий в основе генотип; используя его можно предсказывать пол и возраст.

Laye и соавт. проанализировали ткани образцов на платформе ЖХ-МС с хроматографией на двойной колонке (обратно-фазовой и ионообменной колонках) [94]. Были изучены изменения в метаболоме головы, грудной клетки и живота у дрозофил разного возраста, получавших либо богатую питательными веществами пищу без ограничений (AL), либо диету с ограниченным (DR) содержанием питательных веществ. Многофакторный анализ чётко разделил метаболом по диете, по разным тканям и по возрасту. DR достоверно изменяла метаболом и, в частности, замедляла возрастные изменения метаболома, предотвращая снижение устойчивости гомеостаза при старении. Проекция метаболитов на метаболические пути выявила несколько известных (например, метаболизм аминокислот и NAD⁺) и новых метаболических путей, которые вовлечены в то, как DR влияет на старение [94].

Рассмотренные выше результаты показывают, что диета, увеличивающая ПЖ, “сдвигает” как транскриптом, так и метаболом в сторону более “молодого состояния” [45, 94]. Другие сходства включают разделение по возрасту с использованием анализа главных компонент и идентификацию сходных, но не идентичных наборов метаболитов. Но прямые сравнения между двумя исследованиями следует проводить с осторожностью, поскольку между работами есть несколько важных методологических отличий, включающих в том числе разные протоколы масс-спектрометрии и разные линии мух, а также исследование целых мух [45] или конкретных тканей [94].

Zhao и соавт. наблюдали за когортами из 20 линий дрозофил (англ. Drosophila Genetic Reference Panel, DGRP), выбранных для исследования диапазона вариаций продолжительности жизни, скорости старения и связи этих параметров с возрастными функциональными признаками, включая плодовитость и активность [95]. Несмотря на то, что работа была основана на целевом измерении 87 метаболитов с помощью ЖХ-МС, авторам удалось установить, что уровень активности и профиль метаболома тесно связаны с возрастом, а многие отдельные метаболиты демонстрировали тесную связь с ПЖ. Это свидетельствует о том, что метаболом представляет собой биологические часы, которые могут предсказывать не только возраст, но и ПЖ организмов [95].

3.2. Метаболомное профилирование рыб

Рыбы являются перспективной моделью для исследования биохимических основ процессов старения методом сравнительного анализа. Наличие видов рыб с разным типом старения позволяет объединить несколько видов в анализируемые группы и таким образом успешно исключить из анализа видоспецифическую вариативность [93]. Ещё одно преимущество данной экспериментальной модели — возможность проекции результатов анализа на процессы, протекающие у млекопитающих, поскольку большинство органов рыб аналогичны органам других позвоночных [93].

В институте биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича (Москва) было выполнено метаболомное исследование плазмы крови трёх групп хищных рыб с разной скоростью старения [92, 93]. 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 (лосось (*Oncorhynchus keta*) и горбуша (*Oncorhynchus gorbuscha*)) [110]. Все изученные рыбы находились на стадии взрослой особи, в исследуемых группах были представлены рыбы как до, так и после нереста. Результаты данного исследования демонстрируют, что профили метаболитов плазмы крови рыб с разной скоростью старения различаются, и выявленные различия в значительной степени связаны со скоростью старения, не зависящей от вида рыб [92]. Профилирование метаболитов путём прямой МС позволило выявить набор метаболитов, уровень которых в плазме крови связан со скоростью старения [92]. Показано, что 23 метаболита связаны со скоростью старения, 15 из них относятся к дипептидам, ди- и триглицеридам, жирным кислотам, фосфоэтанолaminaм и фосфатидилхолинам. Полученные данные согласуются с уже известными патофизиологическими механизмами старения и результатами предыдущих исследований [92].

Метаболическое профилирование тканей скелетной мускулатуры рыб с разной скоростью старения проводили путём прямой инъекции в квадруполь-времяпролётный масс-спектрометр [93]. Многофакторный анализ позволил выявить около 80 группоспецифических метаболитов, относящихся к аминокислотам, липидам, биогенным аминам, а также интермедиатам гликолиза, гликогенолиза и цикла лимонной кислоты, которые подверглись изменениям и возможно задействованы в биохимических путях, имеющих отношение к процессу старения [93]. Мощност антиоксидантной защиты, продуктивность анаболических процессов и, возможно, эффективность энергетического обмена в скелетных мышцах связаны с ПЖ рыб. Снижение интенсивности этих процессов или их повреждение может приводить к потере мышечной массы и силы с возрастом [93].

3.3. Метаболомное профилирование мышей

Профилирование метаболитов использовали для изучения признаков старения у мышей [58, 97]. Клинические, биохимические и метаболические изменения были исследованы у молодых и возрастных мышей C57BL/6J [58]. Нецелевой метаболомный анализ тканей дополнял биохимические и гистологические данные, фенотипирование *in vivo*, а также данные целевой метаболомики. Применяя ГХ-МС и ЖХ-МС/МС для выявления метаболических изменений в стареющих тканях мышц и печени, были идентифицированы наборы метаболитов, участвующих в метаболизме жирных кислот и глюкозы, которые изменялись при старении. Перекрёстная проверка установленных путей различными подходами (обнаружение метаболитов в метаболомных исследованиях совместно с анализом экспрессии генов) усилила потенциальную ценность метаболитов как биомаркеров и обеспечила высокую точность идентификации молекулярных и биохимических профилей старения.

Глюкоза, а также промежуточные продукты гликолиза и метаболизма гликогена, такие как мальтоза и мальтотетроза, были обнаружены в печени, а также в мышцах в качестве биомаркеров старения. И в печени, и в мышцах накопление промежуточных продуктов гликогена предполагает изменение метаболизма гликогена у возрастных мышей, тогда как повышенный уровень лактата и восстановленных гликолитических промежуточных продуктов предполагает повышенный анаэробный гликолиз. Об изменениях в метаболизме глюкозы и гликогена также говорит повышенный уровень глюкозы, глюкозо-6-фосфата и мальтозы в мышцах, поскольку уровень мальтозы в мышцах постоянно увеличивается при повышенном гликогенолизе [58].

Tomas-Loba и соавт., используя ВЭЖХ-МС, определили профиль метаболитов сыворотки 117 самцов и самок мышей дикого типа с разным генетическим фоном в возрасте от 8 до 129 недель, что позволило выделить метаболическую характеристику, которая надёжно и точно предсказывает их возраст [97]. Общий профиль метаболитов был использован в многомерной прогностической модели на основе проекции на латентные структуры (англ. Projection to Latent Structure, PLS), в результате чего получена надёжная метаболомная модель старения для мышей дикого типа. Среди 48 биомаркеров, для которых существует значительная корреляция с возрастом, были фосфолипиды, жирные и другие органические кислоты [97]. Помимо липидов, возрастные биомаркеры включали и другие молекулы, такие как креатин, метионин и мочевиная кислота. Остаётся открытым вопрос, играют ли эти биомаркеры роль в старении или являются следствием вторичных явлений, таких как возрастные заболевания или потеря мышечной массы [97].

Поскольку существует множество причинно-следственных связей между старением и дефицитом репарации повреждений ДНК, были изучены метаболические профили мутантных мышей *ERCC1^{Δ/-}*,

у которых присутствует модифицированный ген *ERCC1*, кодирующий белок, который является частью эндонуклеазного комплекса; в связи с тем, что *ERCC1* участвует в восстановлении ДНК после удаления нуклеотидов, мутантные мыши имели фенотип преждевременного старения [78]. Профилирование уровня метаболитов в сыворотке крови и моче мутантных мышей и мышей дикого типа проводили с помощью ¹H ЯМР-спектроскопии. Анализ метаболических профилей образцов от животных возраста 8-20 недель был выполнен с помощью метода главных компонент (PCA) и дискриминантного анализа методом частных наименьших квадратов (англ. Partial Least Squares Discriminant Analysis, PLS-DA). Метаболические профили животных мутантного и дикого типа были похожи в более молодом возрасте, а с возрастом разница между ними становилась более заметна. Основные различия между животными мутантного и дикого типа были связаны с изменением липидного и энергетического метаболизма, с переходом к кетозу и с ослаблением функций печени и почек [78]. Большинство различий в сыворотке крови между диким типом и мутантными животными были связаны с изменением уровней различных липидов у мутантов *ERCC1^{Δ/-}* по сравнению с мышами дикого типа. Снижались липопротеины низкой (ЛПНП) и очень низкой (ЛПОНП) плотности, а липопротеины высокой плотности (ЛПВП) повышались [78]. Данные изменения напоминают закономерность в липопротеиновом составе крови при состоянии ограничения калорийности питания [111]. Также ЯМР-анализ показал, что в сыворотке *ERCC1^{Δ/-}* мутантов по сравнению с диким типом мышей снижен уровень глюкозы и лактата [78], что дополнительно указывает на молекулярный фенотип, связанный с ограничением калорийности. Авторы работы предполагают, что у мышей *ERCC1^{Δ/-}* активируется специфическая реакция “выживания” организма, подобная таковой при ограничении калорийности питания, которая затрагивает в первую очередь энергетический обмен и приводит к кетозу [112].

3.4. Метаболомное профилирование крыс

Williams и соавт. исследовали профиль эндогенных метаболитов, выделяемых с мочой, в процессе развития и старения самцов крыс линии Wistar [90]. Исследование проводили с помощью как ¹H ЯМР-спектроскопии, так и ВЭЖХ-МС. Эндогенные метаболиты определяли в образцах мочи, забираемых у самцов крыс каждые две недели, начиная с 4-недельного возраста и заканчивая 20-недельным возрастом. Наиболее заметные изменения в метаболическом профиле мочи крыс были установлены в возрасте от 4 до 16 недель. К 12-16 неделям изменяющийся состав мочи стабилизировался и становился более постоянным [90].

С помощью ЯМР-спектроскопии удалось идентифицировать многие ответственные за возраст метаболиты. Однако в случае ВЭЖХ-МС процесс идентификации оказался на тот момент

сложным, отчасти из-за ограниченности доступных масс-спектрометрических баз данных [90]. Метаболиты, обнаруженные с помощью ЯМР-спектроскопии, такие как креатинин, таурин, гиппурат и некоторые аминокислоты и жирные кислоты, увеличивались с возрастом, в то время как цитрат, глюкоза и миоинозитол с возрастом снижались. С помощью ВЭЖХ-МС был обнаружен ряд неидентифицированных ионов метаболитов, которые присутствовали только в образцах мочи в возрасте 4 недель, а также ряд метаболитов, включая, например, карнитин, которые увеличивались с возрастом. Учитывая наблюдаемые в образцах мочи крыс изменения, связанные с возрастом, был проведён дальнейший анализ данных с использованием регрессии методом частных наименьших квадратов (англ. PLS-regression), чтобы определить возможность моделирования и предсказания возраста животных. В результате анализа была продемонстрирована возрастная тенденция в данных: от 4 до 12 недель для ВЭЖХ-МС спектров и от 4 до 16 недель для ЯМР-спектров.

Lu и соавт. исследовали возрастные изменения метаболома плазмы крови крыс, используя ГХ в тандеме с времяпролетной МС [98]. В работе исследовали крыс со спонтанной гипертензией (SHR) и нормотензивных контрольных крыс Wistar Kyoto (WKY). Всего было количественно определено 187 МС-пиков, 78 из них идентифицировано. Для дальнейшей обработки данных использовали PCA и PLS-DA. Для гипертензивных (SHR) и нормотензивных (WKY) животных были обнаружены изменения в метаболомном профиле от 10 до 18 недель [98]. Компоненты плазмы менялись по мере взросления крыс. Соединения, содержание которых уменьшилось у обеих линий крыс по мере взросления, включали серин, эритрозу, метионин, 3-гидроксипролин, креатинин, орнитин, фенилаланин, лимонную кислоту, тирозин и триптофан. Содержание только одной аминокислоты (лизина) и неидентифицированного вещества было повышено с возрастом как у крыс SHR, так и у крыс WKY. Наблюдались и различия в содержании некоторых эндогенных соединений у крыс SHR и WKY. Уровни 3-гидроксимасляной кислоты, линолевой кислоты, олеиновой кислоты и гексадекановой кислоты увеличивались у крыс SHR, но снижались у контрольных крыс WKY по мере их взросления от 10 до 18 недель. Уровень α -токоферола снижался у крыс SHR, но повышался в контроле [98].

Для изучения метаболомных профилей печени и сыворотки крови молодых и возрастных крыс, в том числе и после трансплантации печени молодых животных, была использована ненаправленная ЖХ-МС [99]. В общей сложности уровни 153 метаболитов в печени и 83 метаболитов в сыворотке отличались между молодыми и возрастными крысами, не подвергшимися трансплантации. Среди этих метаболитов 7 были обнаружены как в печени, так и в сыворотке. Анализ метаболитов выявил 9 метаболических путей, включающих глицерофосфолипиды, арахидоновую

кислоту, гистидин и линолеат. Из 153 метаболитов, различающихся в печени молодых и возрастных крыс до трансплантации, уровень 70 метаболитов (в основном, карбоновые кислоты, кетокислоты и их производные) понижался и уровень 83 метаболитов (в основном жирные кислоты и глицерофосфолипиды) повышался. Через пять недель после проведённой трансплантации печени молодых животных в старый организм, 25 метаболитов из 153 показали одинаковую тенденцию к изменению (как повышению, так и понижению), а уровни метаболитов в пересаженной печени стали сходными с уровнями метаболитов в печени старых крыс что, вероятно, стало результатом влияния организма возрастных животных на трансплантат [99]. Таким образом, это исследование выявило важные метаболиты и метаболические пути, связанные с возрастом, а также взаимодействие между печенью и внутренней средой организма.

3.5. Метаболомное профилирование собак

Поскольку долгосрочное ограничение получения калорий организмом без недоедания продлевает жизнь и замедляет возрастную заболеваемость, Wang и соавт. исследовали метаболические изменения в моче на протяжении жизни собак с контрольным (КП) или ограниченным по диете (ОД) питанием [91]. Для мониторинга метаболических профилей образцов мочи использовали ^1H ЯМР-спектроскопию. Изменения метаболитов в образцах из обеих групп животных (КП и ОД) следовали одной и той же траектории, что позволило предположить, что в метаболических профилях мочи преобладают возрастные изменения, причём старение оказывает большее влияние на метаболизм, чем ограничение питания. Так, с возрастом отмечено увеличение экскреции креатинина с мочой, достигающее максимума в возрасте от 5 до 9 лет и впоследствии снижающееся параллельно со снижением мышечной массы тела [91]. Кроме того, были также охарактеризованы метаболические изменения, связанные с диетой. Метаболиты, связанные с энергетическим обменом, такие как креатин, 1-метилникотинамид, лактат, ацетат и сукцинат, были снижены в моче у собак с ОД. Как старение, так и ограничение диеты изменяли активность кишечной микрофлоры, что проявлялось в изменении уровня ароматических метаболитов и соединений алифатических аминов. Этот анализ позволил отследить метаболический ответ на два разных физиологических процесса на протяжении всей жизни собак и получить более общее представление об увеличении продолжительности жизни высших млекопитающих [91].

Анализ 2068 образцов сыворотки крови здоровых домашних собак 22 различных пород был выполнен с использованием ненаправленной метаболомики, основанной на ЯМР-спектроскопии [100]. С помощью обобщенных линейных моделей было обнаружено, что возраст, порода, пол, стерилизация, тип диеты и время голодания существенно влияют на профили метаболитов у собак. В частности, возраст вызывал

наиболее значительные различия в концентрациях метаболитов, повлияв на 112 из 119 измеряемых метаболитов. Причём, уровни большинства из них увеличивались с возрастом, а 21 из 119, в основном липиды и GlycA (маркер гликозилирования белков), даже превышали верхнее допустимое значение у собак старше 14 лет. Возможно, уровень GlycA повышен из-за субклинических воспалительных процессов, относительно распространённых у пожилых собак [113]. Однако изменения иммунного статуса при старении также могут приводить к хроническому слабовыраженному воспалению, потенциально повышая концентрацию GlycA [113]. Самые высокие уровни холестерина, триглицеридов и липопротеинов были обнаружены у возрастных собак, что указывало на возрастные изменения в метаболизме липидов [114].

4. НЕНАПРАВЛЕННОЕ МЕТАБОЛОМНОЕ ПРОФИЛИРОВАНИЕ В ИЗУЧЕНИИ ПРОЦЕССОВ СТАРЕНИЯ У ЧЕЛОВЕКА

По сравнению с модельными организмами, исследование старения человека изначально требует иного подхода, чем работа с модельными организмами. В первую очередь, из-за этических ограничений и трудностей в постановке экспериментов. Отчасти из-за сложности и вариативности самого процесса старения у людей (так называемого “разнообразия старения”). Поэтому исследования на платформе ненаправленного метаболомного профилирования выходят на первый план, когда дело касается человека (табл. 2).

Lawton и соавт. проанализировали изменения метаболома плазмы крови человека с возрастом у сбалансированной по возрасту и полу когорты из 269 человек [101]. Нецелевой метаболомный анализ более чем 300 метаболитов был проведён с использованием ГХ и ЖХ в сочетании с МС. У 100 из них изменение концентрации было связано с возрастом. Гораздо меньше метаболитов отражало различия в половой и расовой принадлежности. С возрастом наблюдались изменения белкового, энергетического и липидного обмена, а также изменения, связанные с окислительным стрессом (рис. 3).

Уровень промежуточных продуктов трикарбоновых кислот, креатина, незаменимых и заменимых аминокислот, мочевины, орнитина, полиаминов и маркеров окислительного стресса (например, оксипролина, гиппурата) увеличивался с возрастом. Уровень соединений, связанных с метаболизмом липидов, включая жирные кислоты, карнитин, β -гидроксибутират и холестерин, был ниже в крови молодых людей. Относительные концентрации дегидроэпиандростерон-сульфата (предполагаемого антивозрастного андрогена) были самыми низкими в самой старшей возрастной группе. Наблюдаемое повышение концентрации в крови пожилых людей некоторых ксенобиотиков (например, кофеина) возможно, отражало снижение активности цитохрома P450 в печени [101].

Нецелевой метаболомный анализ крови 15 молодых (средний возраст 29 лет) и 15 пожилых (средний возраст 81 год) лиц был проведён с использованием ЖХ-МС [102]. Уровень

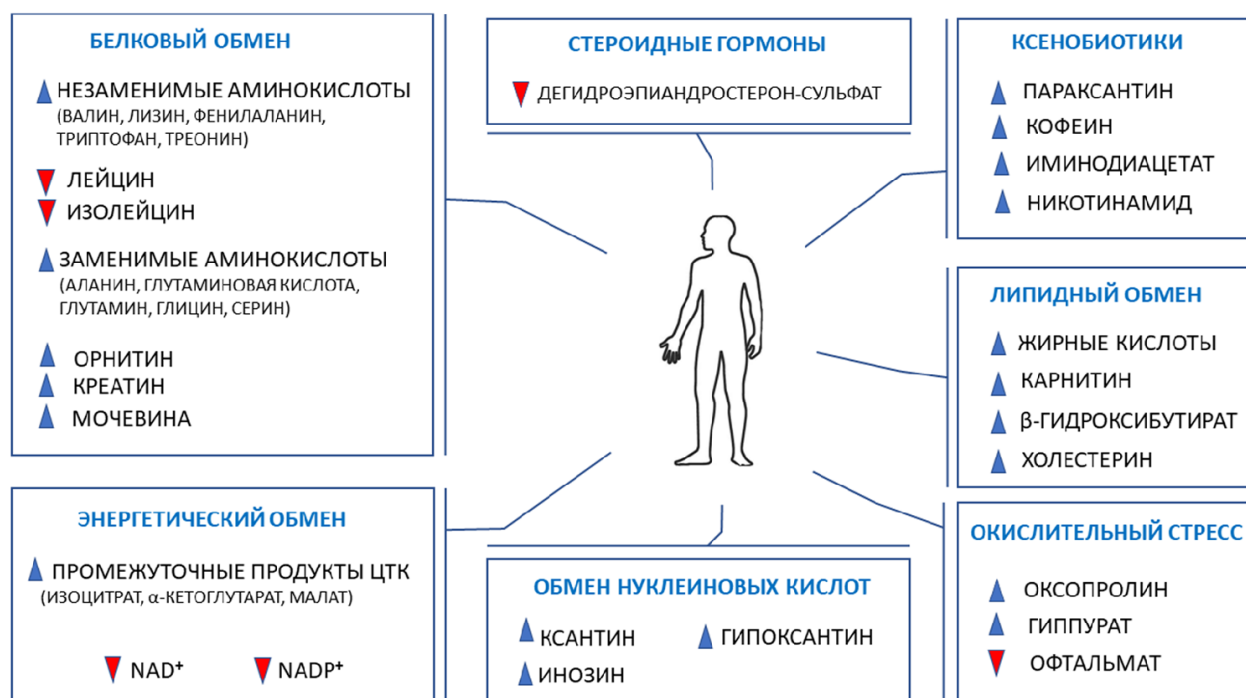


Рисунок 3. Обзор основных метаболических изменений в процессе старения человека, выявленных с помощью ненаправленного метаболомного профилирования плазмы крови. Стрелками указано увеличение (стрелка вверх) и уменьшение (стрелка вниз) уровня некоторых метаболитов в плазме крови с возрастом.

14 метаболитов крови (1,5-ангидроглюцитол, диметилгуанозин, ацетилкарнозин, карнозин, офтальмат, UDP-ацетилглюкозамин, N-ацетиларгинин, N6-ацетиллизин, пантотенат, цитруллин, лейцин, изолейцин, NAD^+ и NADP^+) заметно увеличивался или уменьшался с возрастом. Шестью из них обогащены эритроциты, что позволяет предположить, что метаболомика эритроцитов особенно ценна для исследований старения человека. Возрастные различия частично объясняются снижением продукции антиоксидантов или замедлением метаболизма мочевины у пожилых людей. Дополнительный анализ показал, что некоторые связанные с возрастом соединения коррелируют друг с другом, предполагая, что старение влияет на них одновременно [102]. 12 пар из 14 связанных с возрастом соединений показали относительно высокие коэффициенты корреляции. Содержание цитруллина сильно коррелировало с N-ацетиллизинном и в меньшей степени с N-ацетиларгинином и диметилгуанозином. Корреляции также существовали между N-ацетиларгинином и N-ацетиллизинном и между N-ацетиларгинином и диметилгуанозином. Эти четыре соединения показали повышенный уровень в крови у пожилых людей. Также обнаружены корреляции между семью соединениями, уровень которых снижался у пожилых людей. Это корреляции между лейцином и изолейцином, карнозином и ацетилкарнозином, карнозином и NADP^+ , а также между лейцином и ацетилкарнозином [102]. Метаболиты, влияющие на старческую немощь, в значительной степени перекрывались с метаболитами, количество которых снижается при старении (ацетилкарнозин, офтальмат, 1,5-ангидроглюцитол, изолейцин и лейцин), и соединениями, количество которых увеличивается во время голодания (2-кетобутират, офтальмат, изолейцин, лейцин, ураты, эрготионеин), что указывает на метаболическую связь между голоданием, немощью и старением

человека [4] (рис. 4). Различные антиоксидантные метаболиты явно относились к числу маркеров немощи и старения, что позволяет предположить, что одним из ключевых факторов, к которым уязвимы ослабленные пожилые люди, является окислительный стресс. В этом контексте усиление антиоксидантной защиты при голодании может эффективно сдерживать старение или связанные со старением расстройства [4].

Нецелевой метаболомный анализ плазмы крови с количественным определением 770 метаболитов, выполненный на когорте из 268 здоровых людей, включая 125 пар близнецов, с ПЖ от 6 месяцев до 82 лет [103]. В работе использовали ЖХ-МС, включающую разделение с помощью как гидрофильной жидкостной хроматографии (англ. HILIC), так и обращённо-фазовой жидкостной хроматографии (англ. RPLC). Для описания траекторий изменения концентраций метаболитов на протяжении всей жизни и обнаружения метаболических путей, нарушаемых с возрастом, были применены кластерный анализ, машинное обучение и анализ метаболических путей [104]. Это позволило выявить 6 основных траекторий старения, некоторые из которых были связаны с ключевыми метаболическими путями, такими как прогестинные стероиды, метаболизм ксантина и жирных кислот с длинной цепью. Модели, созданные на основе машинного обучения, успешно предсказывали возраст, и в сочетании с анализом метаболических путей использовались для изучения биологических процессов здорового старения. Модели выявили ранее описанные в процессах старения метаболиты, такие как стероиды, аминокислоты и свободные жирные кислоты, а также новые метаболиты и пути. Интересно, что метаболические профили близнецов становятся более несходными с возрастом. Это свидетельствует о негенетической возрастной изменчивости метаболических профилей в ответ на воздействие окружающей среды.



Рисунок 4. Маркеры старения (красная рамка), старческой немощи (синяя рамка) и голодания (зелёная рамка), выявленные с помощью ненаправленного метаболомного профилирования цельной крови человека. Стрелками соответствующего цвета указано увеличение (стрелка вверх) и уменьшение (стрелка вниз) уровня метаболитов в крови при старении, старческой немощи и голодании. Цветной вариант рисунка приведён в электронной версии статьи.

Более обширную по количеству исследованных образцов работу выполнили Darst и соавт. [105]. Авторы использовали образцы плазмы крови из Висконсинского регистра профилактики болезни Альцгеймера (англ. WRAP). В когорту были включены участники, у которых не было деменции на момент включения. Метаболомные профили были получены для 2344 образцов плазмы крови, взятой натощак у 1212 участников в разные промежутки времени. Из 1097 протестированных метаболитов, 623 (56,8%) были связаны с возрастом и 695 (63,4%) с полом. Показано, что старение сильно влияет на уровень большинства метаболитов в плазме, причём оказывает более широкое влияние на метаболиты у женщин, чем у мужчин. Примерно в два раза больше метаболитов было связано с возрастом в стратифицированном анализе женщин по сравнению с мужчинами. 68 метаболитов значительно различались по полу (прежде всего сфинголипиды) и имели тенденцию к увеличению у женщин и уменьшению у мужчин с возрастом [105]. Различия в уровнях стероидов плазмы, включая андрогены, прогестины и прегненолоны, были наиболее значимы как для возраста, так и для пола. Результаты полногеномного генотипирования позволили предположить, что на многие метаболиты сильно влияет комбинация геномных и экологических факторов [105].

Результаты исследования метаболитов плазмы крови, связанных с полом и возрастом в когорте WRAP [105], согласуются с результатами более ранних кросс-секционных исследований, выполненных на образцах плазмы крови от участников исследования TwinsUK (реестр взрослых близнецов Великобритании) [106]. В этом исследовании нецелевое МС метаболомное профилирование 1052 образцов сыворотки и 5003 образцов плазмы крови показало, что в кросс-секционном анализе 165 из 280 (58,9%) протестированных метаболитов сыворотки и плазмы были связаны с возрастом [106]. В этом исследовании определена группа из 22 метаболитов, которые в совокупности сильно коррелируют с календарным возрастом, а также с возрастными клиническими признаками независимо от возраста. Эти данные иллюстрируют, как метаболомное профилирование, связанное с эпигенетическими исследованиями, может идентифицировать некоторые ключевые молекулярные механизмы, связанные с долгосрочными физиологическими процессами, влияющими на здоровье и старение человека.

В кросс-секционном исследовании немецкой популяционной когорты KORA F4 (исследования в области здравоохранения в районе Аугсбург) были использованы данные 1756 образцов сыворотки крови, полученных натощак, включая 903 женщин и 853 мужчин [107]. Метаболомное профилирование проводили с использованием ЖХ и ГХ в сочетании с тандемной МС. Результаты показали, что 180 из 507 (35,5%) протестированных метаболитов сыворотки связаны с полом. В данных, полученных в исследовании когорты WRAP,

присутствовало 98 из этих 180 метаболитов [105], из которых 84 были в значительной степени также связаны с полом [106]. Среди них были 13 аминокислот (уровень 11 аминокислот был ниже у женщин, кроме глицина и серина), 18 липидов (в том числе пять жирных кислот с длинной цепью и три кислоты со средней длиной цепи, уровень которых был выше у женщин, и три андрогенных стероидов, уровень которых был ниже у женщин) и 18 неизвестных метаболитов (уровень которых, кроме одного, был ниже у женщин).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На протяжении многих лет исследователи использовали полногеномное секвенирование и данные экспрессии генов, чтобы идентифицировать гены, связанные с механизмами старения. Но существует разрыв между вариациями генов, уровнями их экспрессии и продолжительностью жизни. В попытке восполнить этот пробел учёные обратились к постгеномным технологиям, среди которых можно выделить метаболомное профилирование. Поскольку метаболом является конечной точкой каскадов биологических событий, протекающих в организме, с помощью метаболомного профилирования можно идентифицировать молекулярные механизмы, которые вызывают физиологические изменения, влияющие на здоровье и старение человека. Результаты, представленные в данном обзоре, полученные в исследованиях как на различных модельных организмах, так и на человеке, показали, что метаболиты, существенно различающиеся в разных возрастных группах, относятся к углеводам, аминокислотам, карнитинам, биогенным аминам и липидам. Причём одни и те же метаболиты (например, 1,5-ангидроглюцитол, диметилгуанозин, UDP-ацетилглюкозамин, NAD⁺ и NADP⁺, карнозин и ацетилкарнозин, пантотенат, N6-ацетиллизин, цитруллин, изолейцин и лейцин) обнаруживаются как у человека, так и у различных животных. На основании этих данных были идентифицированы метаболические пути, связанные с биологическим возрастом, в том числе относящиеся к метаболизму аминокислот, пуринов, липидов и энергетическому обмену, что отражает процессы, происходящие в любом организме при старении, такие как нарушения ДНК, белкового гомеостаза, митохондриальную дисфункцию. Предполагается, что эти данные могут быть использованы для мониторинга биологического возраста и прогнозирования возрастных заболеваний на ранних стадиях их развития. Но, несмотря на то, что нецелевое метаболомное профилирование в значительной степени способствует определению метаболитов, задействованных в процессах старения, а также метаболических путей, к которым эти метаболиты относятся, полученных на сегодняшний момент данных недостаточно для получения обобщённой метаболической сигнатуры, специфичной для процесса старения живого организма.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена в рамках Программы фундаментальных научных исследований в Российской Федерации на долгосрочный период (2021-2030 годы) (№122030100168-2).

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием людей или с использованием животных в качестве объектов.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ferrucci L., Giallauria F., Guralnik J.M. (2008) Epidemiology of aging. Radiologic Clinics of North America, **46**(4), 643-652. DOI: 10.1016/j.rcl.2008.07.005
2. Butler R.N., Miller R.A., Perry D., Carnes B.A., Williams T.F., Cassel C., Brody J., Bernard M.A., Partridge L., Kirkwood T., Martin J.M., Olshansky S.J. (2008) New model of health promotion and disease prevention for the 21st century. BMJ, **337**(7662), a399. DOI: 10.1136/bmj.a399
3. Wijsman C.A., Rozing M.P., Streefland T.C.M., le Cessie S., Mooijaart S.P., Slagboom P.E., Westendorp R.G.J., Pijl H., van Heemst D. (2011) Familial longevity is marked by enhanced insulin sensitivity. Aging Cell, **10**(1), 114-121. DOI: 10.1111/j.1474-9726.2010.00650.x
4. Kondoh H., Kameda M., Yanagida M. (2021) Whole blood metabolomics in aging research. Int. J. Mol. Sci., **22**(1), 175. DOI: 10.3390/ijms22010175
5. Piper M.D.W., Bartke A. (2008) Diet and Aging. Cell Metab., **8**(2), 99-104. DOI: 10.1016/j.cmet.2008.06.012
6. Karasik D., Demissie S., Cupples L.A., Kiel D.P. (2005) Disentangling the genetic determinants of human aging: Biological age as an alternative to the use of survival measures. J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci., **60**(5), 574-587. DOI: 10.1093/gerona/60.5.574
7. Kerber R.A., O'Brien E., Cawthon R.M. (2009) Gene expression profiles associated with aging and mortality in humans. Aging Cell, **8**, 239-250. DOI: 10.1111/j.1474-9726.2009.00467.x
8. Deelen J., Beekman M., Uh H.W., Helmer Q., Kuningas M., Christiansen L., Kremer D., van der Breggen R., Suchiman H.E.D., Lakenberg N., van den Akker E.B., Passtoors W.M., Tiemeier H., van Heemst D., de Craen A.J., Rivadeneira F., de Geus E.J., Perola M., van der Ouderaa F.J., Gunn D.A., Boomsma D.I., Uitterlinden A.G., Christensen K., van Duijn C.M., Heijmans B.T., Houwing-Duistermaat J.J., Westendorp R.G.J., Slagboom P.E. (2011) Genome-wide association study identifies a single major locus contributing to survival into old age; the APOE locus revisited. Aging Cell, **10**, 686-698. DOI: 10.1111/j.1474-9726.2011.00705.x
9. Phillip J.M., Aifuwa I., Walston J., Wirtz D. (2015) The mechanobiology of aging. Annu. Rev. Biomed. Eng., **17**, 113-141. DOI: 10.1146/annurev-bioeng-071114-040829
10. Balashova E.E., Maslov D.L., Lokhov P.G. (2018) A metabolomics approach to pharmacotherapy personalization. J. Pers. Med., **8**(3), 28. DOI: 10.3390/jpm8030028
11. Sun N., Youle R.J., Finkel T. (2016) The mitochondrial basis of aging. Mol. Cell, **61**(5), 654-666. DOI: 10.1016/j.molcel.2016.01.028
12. Franceschi C., Capri M., Monti D., Giunta S., Olivieri F., Sevini F., Panourgia M.P., Invidia L., Celani L., Scurti M., Cevenini E., Castellani G.C., Salvioli S. (2007) Inflammaging and anti-inflammaging: A systemic perspective on aging and longevity emerged from studies in humans. Mech. Ageing Dev., **128**, 92-105. DOI: 10.1016/j.mad.2006.11.016
13. Harman D. (2003) The free radical theory of aging. Antioxid. Redox Signal., **5**, 557-561. DOI: 10.1089/152308603770310202
14. Lehmann A.R. (2003) DNA repair-deficient diseases, xeroderma pigmentosum, Cockayne syndrome and trichothiodystrophy. Biochimie, **85**(11), 1101-1111. DOI: 10.1016/j.biochi.2003.09.010
15. Harman D. (1972) The biologic clock: The mitochondria? J. Am. Geriatr. Soc., **20**, 145-147. DOI: 10.1111/j.1532-5415.1972.tb00787.x
16. Schriner S.E., Linford N.J., Martin G.M., Treuting P., Ogburn C.E., Emond M., Coskun P.E., Ladiges W., Wolf N., van Remmen H., Wallace D.C., Rabinovitch P.S. (2005) Extension of murine life span by overexpression of catalase targeted to mitochondria. Science, **308**, 1909-1911. DOI: 10.1126/science.1106653
17. Sun J., Folk D., Bradley T.J., Tower J. (2002) Induced overexpression of mitochondrial Mn-superoxide dismutase extends the life span of adult *Drosophila melanogaster*. Genetics, **161**, 661-672. DOI: 10.1093/genetics/161.2.661
18. Matheu A., Maraver A., Klatt P., Flores I., Garcia-Cao I., Borras C., Flores J.M., Viña J., Blasco M.A., Serrano M. (2007) Delayed ageing through damage protection by the Arf/p53 pathway. Nature, **448**, 375-379. DOI: 10.1038/nature05949
19. McCay C.M., Crowell M.F., Maynard L.A. (1989) The effect of retarded growth upon the length of life span and upon the ultimate body size. Nutrition, **5**, 155-171. DOI: 10.1093/jn/10.1.63
20. Sohal R.S., Ku H.H., Agarwal S., Forster M.J., Lal H. (1994) Oxidative damage, mitochondrial oxidant generation and antioxidant defenses during aging and in response to food restriction in the mouse. Mech. Ageing Dev., **74**, 121-133. DOI: 10.1016/0047-6374(94)90104-X
21. Haigis M.C., Guarente L.P. (2006) Mammalian sirtuins – Emerging roles in physiology, aging, and caloric restriction. Genes Dev., **20**(21), 2913-2921. DOI: 10.1101/gad.1467506
22. Cantó C., Jiang L.Q., Deshmukh A.S., Matakis C., Coste A., Lagouge M., Zierath J.R., Auwerx J. (2010) Interdependence of AMPK and SIRT1 for metabolic adaptation to fasting and exercise in skeletal muscle. Cell Metab., **11**, 213-219. DOI: 10.1016/j.cmet.2010.02.006
23. Stanfel M.N., Shamieh L.S., Kaeblerlein M., Kennedy B.K. (2009) The TOR pathway comes of age. Biochim. Biophys. Acta, **1790**(10), 1067-1074. DOI: 10.1016/j.bbagen.2009.06.007
24. Greer E.L., Dowlatabadi D., Banko M.R., Villen J., Hoang K., Blanchard D., Gygi S.P., Brunet A. (2007) An AMPK-FOXO pathway mediates longevity induced by a novel method of dietary restriction in *C. elegans*. Curr. Biol., **17**, 1646-1656. DOI: 10.1016/j.cub.2007.08.047

25. Моршнева А.В. (2020) Транскрипционные факторы FoxO как многофункциональные регуляторы клеточных процессов. Цитология, **62**(10), 687-698. [Morshneva A.V. (2020) FoxO transcription factors as multifunctional cell regulators. Tsitologiya, **62**(10), 687-698.] DOI: 10.31857/S0041377120100041
26. Baar M.P., Brandt R.M.C., Putavet D.A., Hoeijmakers J.H.J., Campisi J., de Keizer P.L.J. (2017) Targeted apoptosis of senescent cells restores tissue homeostasis in response to chemotoxicity and aging. Cell, **169**, 132-147. DOI: 10.1016/j.cell.2017.02.031
27. Onken B., Driscoll M. (2010) Metformin induces a dietary restriction-like state and the oxidative stress response to extend *C. elegans* healthspan via AMPK, LKB1, and SKN-1. PLoS One, **5**(1), e8758. DOI: 10.1371/journal.pone.0008758
28. Howitz K.T., Bitterman K.J., Cohen H.Y., Lamming D.W., Lavu S., Wood J.G., Zipkin R.E., Chung P., Kisilewski A., Zhang L.-L., Scherer B., Sinclair D.A. (2003) Small molecule activators of sirtuins extend *Saccharomyces cerevisiae* lifespan. Nature, **425**, 191-196. DOI: 10.1038/nature01960
29. Harrison D.E., Strong R., Sharp Z.D., Nelson J.F., Astle C.M., Flurkey K., Nadon N.L., Wilkinson J.E., Frenkel K., Carter C.S., Pahor M., Javors M.A., Fernandez E., Miller R.A. (2009) Rapamycin fed late in life extends lifespan in genetically heterogeneous mice. Nature, **460**, 392-395. DOI: 10.1038/nature08221
30. Mouchiroud L., Molin L., Dalli re N., Solari F. (2010) Life span extension by resveratrol, rapamycin, and metformin: The promise of dietary restriction mimetics for an healthy aging. BioFactors, **36**, 377-382. DOI: 10.1002/biof.127
31. Houtkooper R.H., Mouchiroud L., Ryu D., Moullan N., Katsyuba E., Knott G., Williams R.W., Auwerx J. (2013) Mitonuclear protein imbalance as a conserved longevity mechanism. Nature, **497**, 451-457. DOI: 10.1038/nature12188
32. Yang W., Hekimi S. (2010) A mitochondrial superoxide signal triggers increased longevity in *Caenorhabditis elegans*. PLoS Biol., **8**(12), e1000556. DOI: 10.1371/journal.pbio.1000556
33. Timblin G.A., Sharp K.M., Ford B., Winchester J.M., Wang J., Zhu S., Khan R.I., Louie S.K., Iavarone A.T., ten Hoeve J., Nomura D.K., Stahl A., Saijo K. (2021) Mitohormesis reprogrammes macrophage metabolism to enforce tolerance. Nat. Metab., **3**, 618-635. DOI: 10.1038/s42255-021-00392-w
34. Bjelakovic G., Nikolova D., Gluud C. (2014) Antioxidant supplements and mortality. Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care, **17**(1), 40-44. DOI: 10.1097/MCO.0000000000000009
35. Corrada M.M., Kawas C.H., Mozaffar F., Paganini-Hill A. (2006) Association of body mass index and weight change with all-cause mortality in the elderly. Am. J. Epidemiol., **163**, 938-949. DOI: 10.1093/aje/kwj114
36. Irie J., Inagaki E., Fujita M., Nakaya H., Mitsuishi M., Yamaguchi S., Yamashita K., Shigaki S., Ono T., Yukioka H., Okano H., Nabeshima Y.-I., Imai S.-I., Yasui M., Tsubota K., Itoh H. (2020) Effect of oral administration of nicotinamide mononucleotide on clinical parameters and nicotinamide metabolite levels in healthy Japanese men. Endocr. J., **67**, 153-160. DOI: 10.1507/endocrj.EJ19-0313
37. Ikeda T., Aizawa J., Nagasawa H., Gomi I., Kugota H., Nanjo K., Jinno T., Masuda T., Morita S. (2016) Effects and feasibility of exercise therapy combined with branched-chain amino acid supplementation on muscle strengthening in frail and pre-frail elderly people requiring long-term care: A crossover trial. Appl. Physiol. Nutr. Metab., **41**, 438-445. DOI: 10.1139/apnm-2015-0436
38. Nanda T., Das M. (2011) Metabolomics: The future of systems biology. J. Comput. Sci. Syst. Biol., **4**(2), S13. DOI: 10.4172/jcsb.s13-003
39. 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) The human serum metabolome. PLoS One, **6**(2), e16957. DOI: 10.1371/journal.pone.0016957
40. Yu Z., Zhai G., Singmann P., He Y., Xu T., Prehn C., R misch-Margl W., Lattka E., Gieger C., Soranzo N., Heinrich J., Standl M., Thiering E., Mittelstra  K., Wichmann H.-E., Peters A., Suhre K., Li Y., Adamski J., Spector T.D., Illig T., Wang-Sattler R. (2012) Human serum metabolic profiles are age dependent. Aging Cell, **11**, 960-967. DOI: 10.1111/j.1474-9726.2012.00865.x
41. Srivastava S. (2019) Emerging insights into the metabolic alterations in aging using metabolomics. Metabolites, **9**(12), 301. DOI: 10.3390/metabo9120301
42. Gao A.W., Smith R.L., van Weeghel M., Kamble R., Janssens G.E., Houtkooper R.H. (2018) Identification of key pathways and metabolic fingerprints of longevity in *C. elegans*. Exp. Gerontol., **113**, 128-140. DOI: 10.1016/j.exger.2018.10.003
43. Cox J.E., Thummel C.S., Tennessen J.M. (2017) Metabolomic studies in *Drosophila*. Genetics, **206**, 1169-1185. DOI: 10.1534/genetics.117.200014
44. Hoffman J.M., Soltow Q.A., Li S., Sidik A., Jones D.P., Promislow D.E.L. (2014) Effects of age, sex, and genotype on high-sensitivity metabolomic profiles in the fruit fly, *Drosophila melanogaster*. Aging Cell, **13**, 596-604. DOI: 10.1111/accel.12215
45. Avanesov A.S., Ma S., Pierce K.A., Yim S.H., Lee B.C., Clish C.B., Gladyshev V.N. (2014) Age- and diet-associated metabolome remodeling characterizes the aging process driven by damage accumulation. Elife, **3**, e02077. DOI: 10.7554/elife.02077
46. Sarup P., Pedersen S.M.M., Nielsen N.C., Malmendal A., Loeschcke V. (2012) The metabolic profile of long-lived *Drosophila melanogaster*. PLoS One, **7**(10), e47461. DOI: 10.1371/journal.pone.0047461
47. Hoffman J.M., Lyu Y., Fletcher S.D., Promislow D.E.L. (2017) Proteomics and metabolomics in ageing research: From biomarkers to systems biology. Essays Biochem., **61**(3), 379-388. DOI: 10.1042/EBC20160083
48. Parkhitko A.A., Filine E., Mohr S.E., Moskalev A., Perrimon N. (2020) Targeting metabolic pathways for extension of lifespan and healthspan across multiple species. Ageing Res. Rev., **64**, 101188. DOI: 10.1016/j.arr.2020.101188
49. Kristal B.S., Shurubor Y.I. (2005) Metabolomics: Opening another window into aging. Sci. Aging Knowledge Environ., **2005**(26), pe19. DOI: 10.1126/sageke.2005.26.pe19
50. Patti G.J., Yanes O., Siuzdak G. (2012) Innovation: Metabolomics: the apogee of the omics trilogy. Nat. Rev. Mol. Cell Biol., **13**, 263-269. DOI: 10.1038/nrm3314
51. Kotze H.L., Armitage E.G., Sharkey K.J., Allwood J.W., Dunn W.B., Williams K.J., Goodacre R. (2013) A novel untargeted metabolomics correlation-based network analysis incorporating human metabolic reconstructions. BMC Syst. Biol., **7**, 107. DOI: 10.1186/1752-0509-7-107

52. Lokhov P.G., Balashova E.E., Voskresenskaya A.A., Trifonova O.P., Maslov D.L., Archakov A.I. (2016) Mass spectrometric signatures of the blood plasma metabolome for disease diagnostics. *Biomed. Reports*, **4**, 122-126. DOI: 10.3892/br.2015.548
53. 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) Plasma metabolome signature in patients with early-stage Parkinson disease. *Curr. Metabolomics*, **6**(1), 75-82. DOI: 10.2174/2213235x05666170221161735
54. Trifonova O.P., Maslov D.L., Balashova E.E., Lokhov P.G. (2021) Mass spectrometry-based metabolomics diagnostics – myth or reality? *Expert Rev. Proteomics*, **18**, 7-12. DOI: 10.1080/14789450.2021.1893695
55. Maslov D.L., Zemskaya N.V., Trifonova O.P., Lichtenberg S., Balashova E.E., Lisitsa A.V., Moskalev A.A., Lokhov P.G. (2021) Comparative metabolomic study of *Drosophila* species with different lifespans. *Int. J. Mol. Sci.*, **22**(23), 12873. DOI: 10.3390/ijms222312873
56. Trifonova O.P., Lokhov P.G., Archakov A.I. (2013) Metabolic profiling of human blood. *Biochem. Suppl. Ser. B Biomed. Chem.*, **60**(3), 281-294. DOI: 10.1134/S1990750813030128
57. Lokhov P.G., Archakov A.I. (2009) Mass spectrometry methods in metabolomics. *Biochem. Suppl. Ser. B Biomed. Chem.*, **3**(1), 1-9. DOI: 10.1134/S1990750809010016
58. Houtkooper R.H., Argmann C., Houten S.M., Cantó C., Jenning E.H., Andreux P.A., Thomas C., Doenlen R., Schoonjans K., Auwerx J. (2011) The metabolic footprint of aging in mice. *Sci. Rep.*, **1**, 134. DOI: 10.1038/srep00134
59. Lei Z., Huhman D.V., Sumner L.W. (2011) Mass spectrometry strategies in metabolomics. *J. Biol. Chem.*, **286**(29), 25435-25442. DOI: 10.1074/jbc.R111.238691
60. Trifonova O., Lokhov P., Archakov A. (2013) Postgenomics diagnostics: Metabolomics approaches to human blood profiling. *OMICS J. Integr. Biol.*, **17**, 550-559. DOI: 10.1089/omi.2012.0121
61. Zhao Y.Y., Lin R.C. (2014) UPLC-MSE application in disease biomarker discovery: The discoveries in proteomics to metabolomics. *Chemico-Biological Interactions*, **215**, 7-16. DOI: 10.1016/j.cbi.2014.02.014
62. Lokhov P.G., Voskresenskaya A.A., Trifonova O.P., Maslov D.L., Shestakova E.A., Balashova E.E., Lisitsa A.V. (2015) Prediction of classical clinical chemistry parameters using a direct infusion mass spectrometry. *Int. J. Mass Spectrom.*, **388**, 53-58. DOI: 10.1016/j.ijms.2015.08.006
63. Lokhov P.G., Balashova E.E., Trifonova O.P., Maslov D.L., Archakov A.I. (2021) A decade of russian metabolomics: The history of development and achievements. *Biochem. Suppl. Ser. B Biomed. Chem.*, **15**, 1-15. DOI: 10.1134/S1990750821010042
64. Meier R., Ruttkies C., Treutler H., Neumann S. (2017) Bioinformatics can boost metabolomics research. *J. Biotechnol.*, **261**, 137-141. DOI: 10.1016/j.jbiotec.2017.05.018
65. Dunn W.B., Broadhurst D.I., Atherton H.J., Goodacre R., Griffin J.L. (2011) Systems level studies of mammalian metabolomes: The roles of mass spectrometry and nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Chem. Soc. Rev.*, **40**(1), 387-426. DOI: 10.1039/b906712b
66. Jolliffe I.T., Cadima J. (2016) Principal component analysis: A review and recent developments. *Phil. Trans. R. Soc. A*, **374**, 20150202. DOI: 10.1098/rsta.2015.0202
67. Scholz M., Gatzek S., Sterling A., Fiehn O., Selbig J. (2004) Metabolite fingerprinting: Detecting biological features by independent component analysis. *Bioinformatics*, **20**, 2447-2454. DOI: 10.1093/bioinformatics/bth270
68. Smilde A.K., Jansen J.J., Hoefsloot H.C.J., Lamers R.J.A.N., van der Greef J., Timmerman M.E. (2005) ANOVA-simultaneous component analysis (ASCA): A new tool for analyzing designed metabolomics data. *Bioinformatics*, **21**, 3043-3048. DOI: 10.1093/bioinformatics/bti476
69. Vis D.J., Westerhuis J.A., Smilde A.K., van der Greef J. (2007) Statistical validation of megavariate effects in ASCA. *BMC Bioinformatics*, **8**, 322. DOI: 10.1186/1471-2105-8-322
70. Sugimoto M., Kawakami M., Robert M., Soga T., Tomita M. (2012) Bioinformatics tools for mass spectroscopy-based metabolomic data processing and analysis. *Curr. Bioinform.*, **7**, 96-108. DOI: 10.2174/157489312799304431
71. 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) Extraction, interpretation and validation of information for comparing samples in metabolic LC/MS data sets. *Analyst*, **130**, 701-707. DOI: 10.1039/b501890k
72. Linden A. (2006) Measuring diagnostic and predictive accuracy in disease management: An introduction to receiver operating characteristic (ROC) analysis. *J. Eval. Clin. Pract.*, **12**, 132-139. DOI: 10.1111/j.1365-2753.2005.00598.x
73. Broeckling C.D., Reddy I.R., Duran A.L., Zhao X., Sumner L.W. (2006) MET-IDEA: Data extraction tool for mass spectrometry-based metabolomics. *Anal. Chem.*, **78**, 4334-4341. DOI: 10.1021/ac0521596
74. Baran R., Kochi H., Saito N., Suematsu M., Soga T., Nishioka T., Robert M., Tomita M. (2006) MathDAMP: A package for differential analysis of metabolite profiles. *BMC Bioinformatics*, **7**, 530. DOI: 10.1186/1471-2105-7-530
75. Luedemann A., Strassburg K., Erban A., Kopka J. (2008) TagFinder for the quantitative analysis of gas chromatography – mass spectrometry (GC-MS)-based metabolite profiling experiments. *Bioinformatics*, **24**, 732-737. DOI: 10.1093/bioinformatics/btn023
76. Denkert C., Budczies J., Weichert W., Wohlgenuth G., Scholz M., Kind T., Niesporek S., Noske A., Buckendahl A., Dietel M., Fiehn O. (2008) Metabolite profiling of human colon carcinoma – deregulation of TCA cycle and amino acid turnover. *Mol. Cancer*, **7**, 72. DOI: 10.1186/1476-4598-7-72
77. Bucaciuc M., Anghel A., Ion C.F., Moraru C.V., Tacutu R., Lazar G.A. (2020) MetaboAge DB: A repository of known ageing-related changes in the human metabolome. *Biogerontology*, **21**, 763-771. DOI: 10.1007/s10522-020-09892-w
78. Nevedomskaya E., Meissner A., Goral S., de Waard M., Ridwan Y., Zondag G., van der Pluijm I., Deelder A.M., Mayboroda O.A. (2010) Metabolic profiling of accelerated aging ERCC1^{4/-} mice. *J. Proteome Res.*, **9**, 3680-3687. DOI: 10.1021/pr100210k
79. Taormina G., Ferrante F., Vieni S., Grassi N., Russo A., Mirisola M.G. (2019) Longevity: Lesson from model organisms. *Genes (Basel)*, **10**(7), 518. DOI: 10.3390/genes10070518
80. Toth M.J., Tchernof A. (2000) Lipid metabolism in the elderly. *Eur. J. Clin. Nutr.*, **54**, S121-S125. DOI: 10.1038/sj.ejcn.1601033
81. Dennis J.W., Nabi I.R., Demetriou M. (2009) Metabolism, cell surface organization, and disease. *Cell*, **139**(7), 1229-1241. DOI: 10.1016/j.cell.2009.12.008
82. Feltes B.C., de Faria Poloni J., Bonatto D. (2011) The developmental aging and origins of health and

- disease hypotheses explained by different protein networks. *Biogerontology*, **12**, 293-308. DOI: 10.1007/s10522-011-9325-8
83. Partridge L., Thornton J., Bates G. (2011) The new science of ageing. *Philos. Trans. R Soc. Lond. B Biol. Sci.*, **366**(1561), 6-8. DOI: 10.1098/rstb.2010.0298
84. Piper M.D.W., Partridge L. (2018) *Drosophila* as a model for ageing. *Biochim. Biophys. Acta Mol. Basis Dis.*, **1864**(9 Pt A), 2707-2717. DOI: 10.1016/j.bbdis.2017.09.016
85. Allard J.B., Duan C. (2011) Comparative endocrinology of aging and longevity regulation. *Front. Endocrinol. (Lausanne)*, **2**, 75. DOI: 10.3389/fendo.2011.00075
86. Strange K. (2016) Drug discovery in fish, flies, and worms. *ILAR J.*, **57**(2), 133-143. DOI: 10.1093/ilar/ilw034
87. Barré-Sinoussi F., Montagutelli X. (2015) Animal models are essential to biological research: issues and perspectives. *Futur. Sci. OA*, **1**, FSO63. DOI: 10.4155/FSO.15.63
88. Ball H.C., Levari-Shariati S., Cooper L.N., Aliani M. (2018) Comparative metabolomics of aging in a long-lived bat: Insights into the physiology of extreme longevity. *PLoS One*, **13**, e0196154. DOI: 10.1371/journal.pone.0196154
89. Hoffman J.M., Poonawalla A., Icyuz M., Swindell W.R., Wilson L., Barnes S., Sun L.Y. (2020) Transcriptomic and metabolomic profiling of long-lived growth hormone releasing hormone knock-out mice: Evidence for altered mitochondrial function and amino acid metabolism. *Ageing (Albany NY)*, **12**, 3473-3485. DOI: 10.18632/aging.102822
90. Williams R.E., Lenz E.M., Lowden J.S., Rantalainen M., Wilson I.D. (2005) The metabonomics of aging and development in the rat: An investigation into the effect of age on the profile of endogenous metabolites in the urine of male rats using ¹H NMR and HPLC-TOF MS. *Mol. Biosyst.*, **1**, 166-175. DOI: 10.1039/b500852b
91. Wang Y., Lawler D., Larson B., Ramadan Z., Kochhar S., Holmes E., Nicholson J.K. (2007) Metabonomic investigations of aging and caloric restriction in a life-long dog study. *J. Proteome Res.*, **6**, 1846-1854. DOI: 10.1021/pr060685n
92. 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. (2019) Comparative analysis of the blood plasma metabolome of negligible, gradual and rapidly ageing fishes. *Fishes*, **3**(4), 46. DOI: 10.3390/fishes3040039
93. 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) Comparative analysis of skeletal muscle metabolites of fish with various rates of aging. *Fishes*, **4**(2), 25. DOI: 10.3390/fishes4020025
94. Laye M.J., Tran V., Jones D.P., Kapahi P., Promislow D.E.L. (2015) The effects of age and dietary restriction on the tissue-specific metabolome of *Drosophila*. *Ageing Cell*, **14**, 797-808. DOI: 10.1111/accel.12358
95. Zhao X., Golic F.T., Harrison B.R., Manoj M., Hoffman E.V., Simon N., Johnson R., MacCoss M.J., McIntyre L.M., Promislow D.E.L. (2022) The metabolome as a biomarker of aging in *Drosophila melanogaster*. *Ageing Cell*, **21**(2), e13548. DOI: 10.1111/accel.13548
96. Ma Z., Wang H., Cai Y., Wang H., Niu K., Wu X., Ma H., Yang Y., Tong W., Liu F., Liu Z., Zhang Y., Liu R., Zhu Z.-J., Liu N. (2018) Epigenetic drift of H3K27me3 in aging links glycolysis to healthy longevity in *Drosophila*. *Elife*, **7**, e35368. DOI: 10.7554/eLife.35368
97. Tomás-Loba A., Bernardes de Jesus B., Mato J.M., Blasco M.A. (2013) A metabolic signature predicts biological age in mice. *Ageing Cell*, **12**, 93-101. DOI: 10.1111/accel.12025
98. Lu Y., A J., Wang G., Hao H., Huang Q., Yan B., Zha W., Gu S., Ren H., Zhang Y., Fan X., Zhang M., Hao K. (2008) Gas chromatography/time-of-flight mass spectrometry based metabonomic approach to differentiating hypertension- and age-related metabolic variation in spontaneously hypertensive rats. *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **22**, 2882-2888. DOI: 10.1002/rcm.3670
99. Han Q., Li H., Jia M., Wang L., Zhao Y., Zhang M., Zhang Q., Meng Z., Shao J., Yang Y., Zhu L. (2021) Age-related changes in metabolites in young donor livers and old recipient sera after liver transplantation from young to old rats. *Ageing Cell*, **20**(7), e13425. DOI: 10.1111/accel.13425
100. Puurunen J., Otka C., Salonen M., Niskanen J.E., Lohi H. (2022) Age, breed, sex and diet influence serum metabolite profiles of 2000 pet dogs. *R Soc. Open Sci.*, **9**(2), 211642. DOI: 10.1098/rsos.211642
101. Lawton K.A., Berger A., Mitchell M., Milgram K.E., Evans A.M., Guo L., Hanson R.W., Kalhan S.C., Ryals J.A., Milburn M.V. (2008) Analysis of the adult human plasma metabolome. *Pharmacogenomics*, **9**, 383-397. DOI: 10.2217/14622416.9.4.383
102. Chaleckis R., Murakami I., Takada J., Kondoh H., Yanagida M. (2016) Individual variability in human blood metabolites identifies age-related differences. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **113**, 4252-4259. DOI: 10.1073/pnas.1603023113
103. Bunning B.J., Contrepois K., Lee-McMullen B., Dhondalay G.K.R., Zhang W., Tupa D., Raeber O., Desai M., Nadeau K.C., Snyder M.P., Andorf S. (2020) Global metabolic profiling to model biological processes of aging in twins. *Ageing Cell*, **19**(1), e13073. DOI: 10.1111/accel.13073
104. Contrepois K., Jiang L., Snyder M. (2015) Optimized analytical procedures for the untargeted metabolomic profiling of human urine and plasma by combining hydrophilic interaction (HILIC) and reverse-phase liquid chromatography (RPLC)-mass spectrometry. *Mol. Cell Proteomics*, **14**, 1684-1695. DOI: 10.1074/mcp.M114.046508
105. Darst B.F., Kosciuk R.L., Hogan K.J., Johnson S.C., Engelman C.D. (2019) Longitudinal plasma metabolomics of aging and sex. *Ageing (Albany NY)*, **11**, 1262-1282. DOI: 10.18632/aging.101837
106. Menni C., Kastenmüller G., Petersen A.K., Bell J.T., Psatha M., Tsai P.C., Gieger C., Schulz H., Erte I., John S., Brosnan M.J., Wilson S.G., Tsaprouni L., Mun L.E., Stuckey B., Deloukas P., Mohny R., Suhre K., Spector T.D., Valdes A.M. (2013) Metabolomic markers reveal novel pathways of ageing and early development in human populations. *Int. J. Epidemiol.*, **42**, 1111-1119. DOI: 10.1093/ije/dyt094
107. Krumsiek J., Mittelstrass K., Do K.T., Stücker F., Ried J., Adamski J., Peters A., Illig T., Kronenberg F., Friedrich N., Nauck M., Pietzner M., Mook-Kanamori D.O., Suhre K., Gieger C., Grallert H., Theis F.J., Kastenmüller G. (2015) Gender-specific pathway differences in the human serum metabolome. *Metabolomics*, **11**, 1815-1833. DOI: 10.1007/s11306-015-0829-0
108. Clark A.G., Eisen M.B., Smith D.R., Bergman C.M., Oliver B., Markow T.A., Kaufman T.C., Kellis M., Gelbart W., Iyer V.N., Pollard D.A., Sackton T.B., Larracunte A.M., Singh N.D.,

- Abad J.P., Abt D.N., Adryan B., Aguade M., Akashi H., Anderson W.W., Aquadro C.F., Ardell D.H., Arguello R., Artie M.I.* (2007) Evolution of genes and genomes on the *Drosophila* phylogeny. *Nature*, **450**, 203-218. DOI: 10.1038/nature06341
109. *Ma S., Avanesov A.S., Porter E., Lee B.C., Mariotti M., Zemskaya N., Guigo R., Moskalev A.A., Gladyshev V.N.* (2018) Comparative transcriptomics across 14 *Drosophila* species reveals signatures of longevity. *Aging Cell*, **17**, e12740. DOI: 10.1111/ACEL.12740
110. *Patnaik B.K., Mahapatro N., Jena B.S.* (1994) Ageing in fishes. *Gerontology*, **40**(2-4), 113-132. DOI: 10.1159/000213582
111. *Anderson R.M., Shanmuganayagam D., Weindruch R.* (2009) Caloric restriction and aging: Studies in mice and monkeys. *Toxicol. Pathol.*, **37**(1), 47-51. DOI: 10.1177/0192623308329476
112. *Schumacher B., van der Pluijm I., Moorhouse M.J., Kosteas T., Robinson A.R., Suh Y., Breit T.M., van Steeg H., Niedernhofer L.J., van Ijcken W., Bartke A., Spindler S.R., Hoeijmakers J.H.J., van der Horst G.T.J., Garinis G.A.* (2008) Delayed and accelerated aging share common longevity assurance mechanisms. *PLoS Genet.*, **4**(8), e1000161. DOI: 10.1371/journal.pgen.1000161
113. *Radakovich L.B., Pannone S.C., Truelove M.P., Olver C.S., Santangelo K.S.* (2017) Hematology and biochemistry of aging – evidence of “anemia of the elderly” in old dogs. *Vet. Clin. Pathol.*, **46**, 34-45. DOI: 10.1111/vcp.12459
114. *Xenoulis P.G., Steiner J.M.* (2010) Lipid metabolism and hyperlipidemia in dogs. *Vet. J.*, **183**(1), 12-21. DOI: 10.1016/j.tvjl.2008.10.011

Поступила в редакцию: 15. 07. 2022.
После доработки: 27. 10. 2022.
Принята к печати: 01. 11. 2022.

METABOLOME PROFILING IN THE STUDY OF AGING PROCESSES

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

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

Aging of a living organism is closely related to systemic metabolic changes. But due to the multilevel and network nature of metabolic pathways, it is difficult to understand these connections. Today, this problem is solved using one of the main approaches of metabolomics — untargeted metabolome profiling. The purpose of this publication is to systematize the results of metabolomic studies based on such profiling, both in animal models and in humans.

Key words: metabolomics; metabolomics profiling; aging; animal models; human

Funding. The work was performed within the framework of the Program for Basic Research in the Russian Federation for a long-term period (2021-2030) (No. 122030100168-2).

Received: 15.07.2022; revised: 27.10.2022; accepted: 01.11.2022.