

## Многомерная биология XXI века и клиническая лабораторная диагностика

Вельков В.В.

ЗАО «ДИАКОН»  
142292, г. Пущино, Московская область,  
проспект Науки, 5  
[www.diakon-diagnostics.ru](http://www.diakon-diagnostics.ru)

*«Есть время разбрасывать камни  
И есть время собирать камни».  
Экклезиаст, 3,5.*

Одна из главных задач XXI века – как остановить пандемическое распространение болезней цивилизации: сердечно – сосудистых, ишемической болезни сердца, диабета, метаболического синдрома, онкологических заболеваний. Что должна сделать лабораторная диагностика для решения этой задачи? Во-первых, уметь своевременно определять генетическую предрасположенность к возникновению наиболее серьезных патологий. Как становится все более очевидным, многие такие патологии могут вызваться мутациями. Во-вторых, с высокой достоверностью определять количественный показатель риска возникновения патологий, когда они еще находятся в клинически бессимптомном состоянии. Это позволит проводить мероприятия, предупреждающие развитие заболеваний. И, в-третьих, за счет динамического измерения новых биомаркеров отслеживать реакции организма на терапию и на хирургическое вмешательство. Эти задачи уже успешно решаются. И происходит это благодаря революционным достижениям биологии XXI века – ее назвали многомерной биологией (high dimensional biology).

В нее входят:

**Геномика** – идентификация *всех* генов человека и нарушений в них, приводящих либо к наследственным заболеваниям, либо к предрасположенности к ним.

**Транскриптомика** – идентификация *всех* матричных РНК, кодирующих белки, определение количества каждой индивидуальной мРНК, определение закономерностей экспрессии *всех* генов, кодирующих белки.

**РНОмика** – идентификация *всех* не кодирующих РНК, определение количества каждой индивидуальной нкРНК – определение закономерностей экспрессии *всех* нкРНК.

**Метаболомика** – идентификация и количественное определение *всех* метаболитов, синтезируемых (или находящихся) в данных клетках, тканях, органах и в биологических жидкостях.

**Биоинформатика.** Использование вычислительной техники, математики и информационной теории для анализа и моделирования молекулярно-биологических систем, в особенности систем, состоящих из генов, РНК, белков и метаболитов и др. Создание баз данных.

Именно эти направления, для краткости называемые OMICS (genomics, transcriptomics и т.д.), считаются основой медицины XXI века.

**Клиническая геномика и клиническая транскриптомика. Транскрипционные профили патологий**

Реализация проекта «Геном человека» позволяет обнаруживать мутации в генах,

приводящие к наследственным заболеваниям или к повышению вероятности возникновения многих патологий, таких, например, как онкологические, сердечно-сосудистые (атеросклероз), диабет, метаболический синдром, шизофрения и др. В практику лабораторной диагностики уже успешно внедрены методы идентификации мутаций, наиболее часто приводящих, например, к различным раковым заболеваниям. Эти методы основаны на применении ПЦР (полимеразной цепной реакции) и маркерных генов, содержащих нарушения, приводящие к конкретным патологиям. Развитие геномики патологий позволяет, однако, не только проводить их молекулярно-генетическую диагностику, но и, как следующий этап, определять интенсивность синтезов РНК и белков, имеющих отношение к возникновению и развитию заболеваний. Это делается с помощью определения транскрипционных профилей, характеризующих экспрессию всех генов, активных в данном образце. Технологии, при этом применяемые, основаны на так называемых «ДНК микрочипах» (DNA microarray), см. рис.1. Такой генный чип - это твердая подложка, на которую в определенном порядке нанесены в виде точек индивидуальные гены (их ДНК). Чтобы определить, транскрибируется ли данный ген, на чип помещают (с определенными координатами) лишь его часть – олигонуклеотид. Этот олигонуклеотид соответствует экспрессируемой части гена (экзону). Затем из образца (например, опухоль) выделяется вся (суммарная) РНК. На основе всех молекул РНК данного образца получают их ДНК-копии – кДНК (обратная транскрипция), которые флуоресцентно метят и потом проводят гибридизацию с иммобилизованными на микрочипе олигонуклеотидами. Если в данных условиях какие-то точки с конкретными генами не гибридизуются. это значит, что данный ген не транскрибируется. Если же данная точка микрочипа «светится», значит, олигонуклеотиды на этой площадке прогибридизовались с флуоресцентно меченой кДНК, ген транскрибируется.

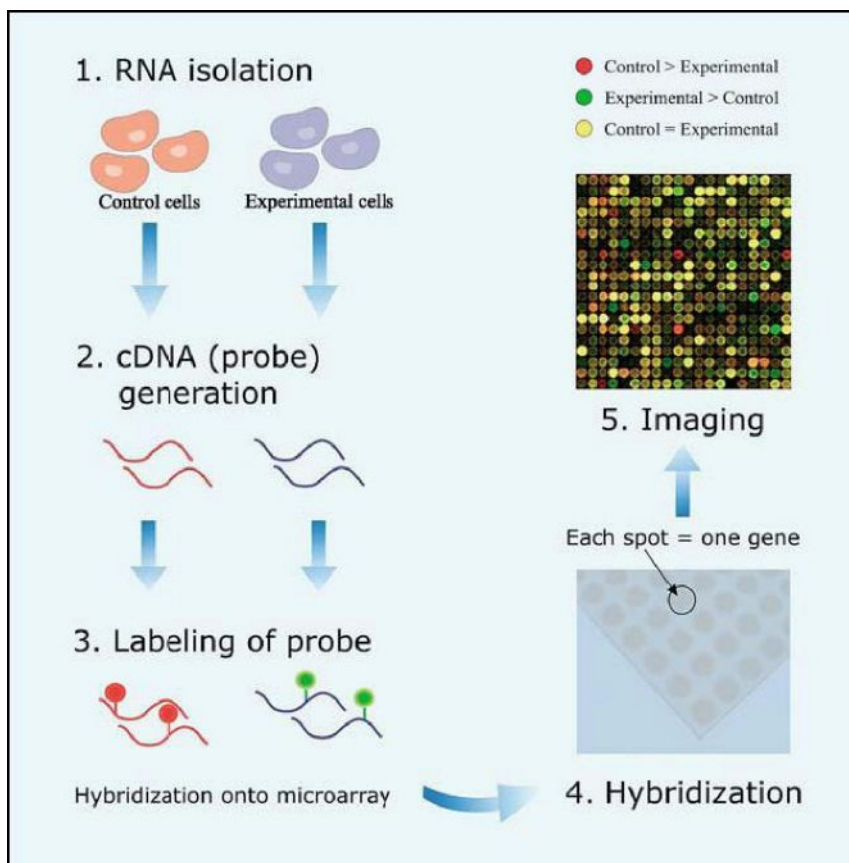


Рис.1 Схема анализа транскриптома в норме и патологии.

Чтобы определить, является ли полученный результат ошибкой или нет, проводится сравнение двух объектов. Для этого берут образец А (патология), из него получают суммарную РНК и после обратной транскрипции всех ее молекул флуоресцентно метят (красным) все молекулы кДНК. То же проводят и с образцом В (норма), но метят молекулы кДНК другим цветом (зеленым). Затем проводят гибридизацию ДНК-микрочипа со смесью этих двух препаратов кДНК (конкурентная гибридизация – преимущественно образуют гибриды те молекулы, которых больше). Если сигнал в данной точке на чипе будет красным, значит в клетках А (патология) транскрипция данного гена сильнее, чем в клетках В (норма). Если сигнал зеленый, то транскрипция сильнее в клетках В (норма). Если красного и зеленого поровну, то получится желтый цвет. Таким образом, можно сравнивать уровень транскрипции данного гена в разных тканях и органах, в биологических жидкостях при норме и патологии, до терапии и в ее процессе, до хирургической операции и после. Довольно часто термины «геномика», «транскриптомика» и «протеомика» употребляются в одном и том же значении – для обозначения анализа экспрессии всех генов данного образца – как на уровне синтеза мРНК, так и на уровне синтеза белков (1-3).

Транскриптом – набор *всех* РНК, находящихся в данном образце. Анализ транскриптома, определение качественного и количественного профиля всех синтезированных РНК, отражает синтез кодируемых ими белков, а так же синтез рибосомальных, транспортных и других РНК. Сравнение транскриптомов нормальных и патологических образцов, позволяет идентифицировать новые маркеры, проследить изменение их уровней во времени, судить о динамике патологии, об эффективности проводимого лечения и прогнозировать его результат (4-6). Предполагается, что каждая болезнь, характеризуется своим, так сказать, «штрих-кодом» – уникальным паттерном уровней транскрипции набора генов, характерного именно для данной болезни. Разумеется, анализируют транскриптомы не методом «прищуренного глаза», а с помощью компьютерных методов распознавания образов.

### **Клиническая РНомика**

Пожалуй, самой громкой сенсацией биологии конца XX стало открытие принципиально нового класса РНК. Практически во всех на этот счет исследованных эукариотных организмах неожиданно было обнаружено огромное количество различных РНК, которые *не кодируют белков* и не являются ни рибосомальными, ни транспортными. Играют они, в основном, регуляторную роль – влияют на экспрессию генов (чаще всего на уровне трансляции). Это, так называемые, микроРНК длиной 19-22 нуклеотида, к ним относятся и т.н. интерференционные РНК, которые выключают синтез определенных белков путем разрушения их мРНК. МикроРНК регулируют экспрессию генов после их транскрипции. Это может происходить за счет: 1) репрессии трансляции мРНК, 2) расщепления мРНК, 3) ускорения распада мРНК. В каждой микроРНК есть участок, комплементарный особому участку в той мРНК, которая при каких-то обстоятельствах подлежит инактивации. Таким образом, большинство мРНК имеют «черные метки», указывающие на возможность собственной деградации, а микроРНК, имеющие комплементарные участки, в нужный момент узнают «черные метки» и нацеливают на мРНК, приговоренные к ликвидации, ферменты и белки, для этого предназначенные. С помощью РНомики микроРНК, содержащиеся в образцах, идентифицируются, определяется их концентрация. Еще более неожиданно оказалось, что изменения концентрации различных микроРНК свидетельствуют о большом числе различных патологий. И в клинической РНомике наступила «золотая лихорадка» по поиску «золотых» маркеров и предикторов (7-12).

## Клиническая протеомика

Это идентификация и количественное определение *всех* индивидуальных белков, которые содержатся в образце (сыворотка крови, спинномозговая жидкость, моча, биопсия) и мониторинг изменения их концентраций. Протеом – совокупность *всех* белков, содержащихся в данном образце. Полный анализ протеома клеток, тканей, органов и биологических жидкостей проводится с помощью двумерного электрофореза с высоким разрешением и с последующей идентификацией индивидуальных белков за счет масс-спектрометрии. Это позволяет проанализировать до 10 000 индивидуальных белков в одном образце и зафиксировать изменения их концентраций. Типичная последовательность операций при протеомике такова: 1) отбор образца (клетки, ткань, биологическая жидкость), 2) приготовление образца, лизис клеток, экстракция белков, 3) изоэлектрофокусировка, электрофорез в 1-ом направлении, 4) электрофорез в 2-ом направлении, полиакриламидный гель, додецилсульфат натрия, 5) проявление белковых пятен на геле, 6) анализ двумерной электрофореграммы (количество пятен, их расположение), 7) выделение участков геля, содержащих индивидуальные белковые пятна, 8) расщепление индивидуальных белков трипсином прямо в геле, 9) масс-спектрометрический анализ: а) масс-фингерпринтинг пептидов, б) определение аминокислотных последовательностей фрагментов индивидуальных белков, 10) идентификация каждого белка и измерение его концентрации, документирование, обработка результатов. Значительному прогрессу в области протеомики способствовали успехи масс-спектрометрического анализа пептидов. Масс-спектрометрия включает в себя четыре основных компонента. Во-первых, в ионном источнике масс-спектрометра из образца получают ионизированные пептиды или белки. Во-вторых, разделение ионов пептидов и белков происходит в анализаторе масс на основе их величины отношения массы к заряду ( $m/z$ ). В-третьих, детектор ионов (времяпролетного масс-спектрометра), регистрирует отдельные ионы, с указанием значения  $m/z$  иона, количества ионов, и времени пролета ионов от источника ионов до детектора ионов. И, наконец, интерпретация полученных данных с помощью биоинформатики, анализ баз данных, в итоге, получение дифференциального профиля белков. С помощью этой техники уже открыты новые белковые маркеры и получены впечатляющие результаты в области *кардиоваскулярной* протеомики и *онкопротеомики* (13-18).

## Кардиоваскулярная геномика, транскриптомика и протеомика

Повышать вероятность возникновения и развития атеросклероза могут мутации во многих генах. Такие мутации идентифицированы, например, в гене *ALOX5AP*, кодирует белок активатор 5-липооксигеназы (5 lipoxygenase 5-LOX). Этот белок активирует синтез лейкотриена – липида, медиатора воспалительного процесса в стенках сосудов. Также повышают вероятность возникновения атеросклероза мутации в гене *MEF2A*, кодирует фактор регуляции транскрипции в миоцитах; в гене *Апо Е*, кодирует аполипопротеин Е, входящий в состав Х-ЛПВП; в гене *LTA*, кодирует ген альфа-лимфотоксина (17-18). Уже созданы базы данных по сотням белков протеома миокарда, уровни которых изменяются при хронических и острых сердечно-сосудистых патологиях. Обнаружено, что при таких патологиях возрастают концентрации т.н. белков теплового шока (heat-shock proteins - HSP), белков митохондрий, а так же белков, вовлеченных в генерирование энергии. Диагностически важные белки кардиопротеома классифицируются так: 1) белки, связанные с энергией и метаболизмом, 2) белки, индуцируемые стрессом, 3) белки, обеспечивающие контрактильные функции и формирование цитоскелета (19-20).

Весьма перспективным оказался мониторинг динамики протеомов биопсии, взятых до и после хирургического вмешательства. Обнаружено более 100 кардиоспецифических белков, уровни которых значительно изменяются при дилатационной кардиомиопатии.

Практически при всех формах сердечной недостаточности, ее начальная стадия – это компенсаторная адаптация сердечной ткани к патологическим изменениям – в частности, гипертрофия левого желудочка. Довольно часто в таких случаях, клинические, электрокардиографические и гемодинамические показатели не достаточно адекватно отражают переход от патологии к норме. Однако возвращение к норме при вентрикулярном ремоделировании может быть эффективно достигнуто при мониторинге кардиопротеома (21). Согласно предварительным данным, наиболее обещающими маркерами для кардиопротеомики могут быть тропонины, изоформы альфа-1-фибриногена, изоформы аполипопротеина А-1, С-реактивный белок и др. Полагается, что кардиопротеомная техника станет незаменимой при сердечно-сосудистой хирургии. В передовых клиниках хирургии уже сейчас читают кардиопротеомы так же уверенно, как кардиограммы и ангиограммы (22).

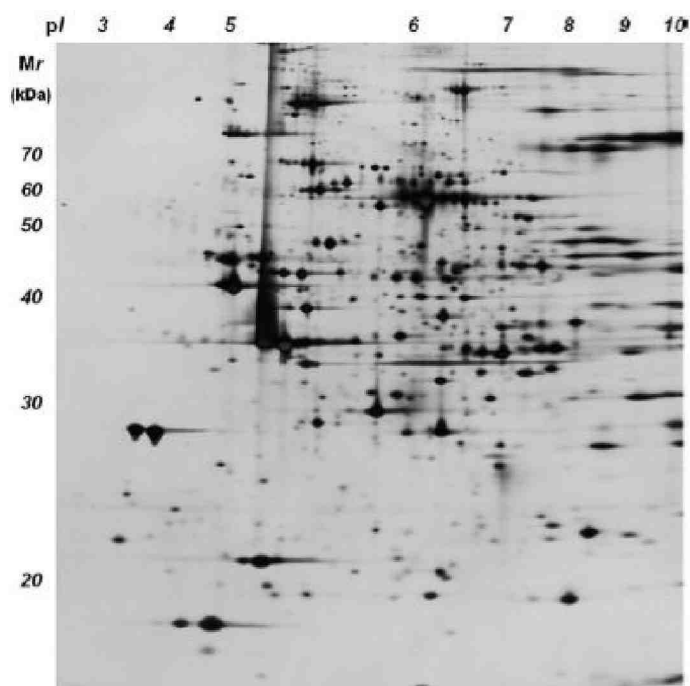


Рис.2. Двумерный гель-электрофорез образца биопсии левого желудочка (left ventricular) пациента, страдающего дилатационной кардиомиопатией, перенесшего трансплантацию сердца. Изоэлектрическое фокусирование в диапазоне pI – 3-10, диапазон молекулярных масс белков от 15 до 100 кДа. На геле приблизительно 600 белков, которые были идентифицированы масс-спектральным анализом (22).

### Транскриптомика и протеомика плазмы крови

Сколько *всего* индивидуальных белков в плазме крови? Какие новооткрытые белки плазмы могут иметь диагностическое значение? Когда и как изменяются их уровни? Проект “Протеом Плазмы Крови (ППК) был начат в 2002 году. По дерзости и масштабности ППК можно сравнить проектом «Геном человека». В реализации ППК участвуют 35 лабораторий в 13 странах. На первой стадии проекта была создана аннотированная база данных **3 020** белков плазмы крови человека ([www.bioinformatics.med.umich.edu/hupo/ppp](http://www.bioinformatics.med.umich.edu/hupo/ppp); [www.ebi.ac.uk/pride](http://www.ebi.ac.uk/pride)). Она содержит информацию о: 1) идентификации каждого белка, 2) его концентрации и стабильности, 3) об особенностях его масс-спектрального анализа и др. (23, 24). На второй стадии проекта было идентифицировано уже **9 504** белка (на основе масс-спектрометрической идентификации одного или двух пептидов каждого белка) и **3 020** белков (при

идентификации двух и более пептидов, что более точно). **889** белков плазмы идентифицированы с достоверностью в 95%. Следующий этап – построение протеомов плазмы, характерных для различных патологий и формулировка их международно согласованных диагностических показателей (25,26).

### **Протеомика гемостаза**

Протеомика тромбоцитов – быстро развивающееся направление. Уже обнаружены ранее неизвестные белки тромбоцитов, идет быстрая расшифровка механизмов, приводящих к нарушениям коагуляции. В ранних исследованиях протеомов тромбоцитов было обнаружено, что при активации они секретируют 82 белка. Затем при использовании тромбоцитов, стимулированных тромбином, было установлено, что **секретом** (секретируемый протеом) тромбоцитов – это более 300 белков и только 37% из них были известны ранее. 35% белков, секретируемых тромбоцитами, секретируются также и другими клетками. 28% белков секретома тромбоцитов обнаруживаются в местах атеросклеротических повреждений. Эти работы привели к идентификации новых мишеней для новых лекарственных препаратов – это секретогранин III, циклофилин А, а также калуменин, и пролили свет на возможные механизмы адгезии тромбоцитов, способствующие развитию атеросклероза (27).

### **Транскриптомика и протеомика кровообращения**

Циркулирующие в кровотоке моноциты способствуют развитию воспаления в стенках артерий, что приводит к атеросклерозу. Анализ транскриптома моноцитов неожиданно показал, что у пациентов, которые перенесли коронарную реваскуляризацию, повышен уровень экспрессии белка онкогена FOS (может вызывать остеосаркому Финкеля-Бискиса-Джинкиса). Что принципиально, корреляция между повышенным уровнем экспрессией гена FOS и реваскуляризацией была выше, чем корреляция между реваскуляризацией и уровнем «золотого» маркера атеросклероза - С-реактивного белка (28).

### **Онкогеномика, онкотранскриптомика, онкопротеомика**

Обнаружены маркерные гены, активирующиеся на ранних стадиях онкогенеза и соответствующие им маркерные белки. Найдены маркеры, позволяющие проводить молекулярную классификацию опухолей, обнаружены предикторы метастазирования, предикторы ответа на терапию, маркеры, позволяющие прогнозировать развитие различных онкозаболеваний. Основные задачи онкопротеомики таковы: 1) построение протеомов и анализ их динамики при возникновении и развитии различных опухолей; 2) идентификация путей передачи клеточных сигналов, приводящих к онкогенезу (см. также раздел «ОнкоРНомика»); 3) идентификация маркеров для диагностики онкозаболеваний и для мониторинга ответа опухоли и организма на хирургическое вмешательство и на разные типы терапии, 4) определение иммунного ответа на онкогенез (29-35).

Весьма интересны данные по изучению геномики и протеомики белка p53 - (супрессора опухолей), а также белков, с ним взаимодействующих. **Интерактом**-комплекс всех белков, взаимодействующих с данным белком. Мутации в гене белка p53 весьма часто приводят к канцерогенезу. Но при острых амилоидных онкозаболеваниях у 90% пациентов обнаруживается нормальный, а не мутантный ген p53. Интерактом белка p53 позволил выявить все белки, с которыми он взаимодействует, установить цепи передачи внутриклеточных сигналов, приводящих к злокачественному росту и к устойчивости к химиотерапии (36). Основная проблема во внедрении онкопротеомики в практику - сложность обучения онкологов чтению карт онкотранскриптомов и онкопротеомов.

## ОнкоРНомика

Как уже говорилось, одно из самых сенсационных открытий в молекулярной биологии, сделанных в конце XX века, обнаружение микроРНК (см. раздел «РНомика»). На данный момент у человека идентифицировано около 400 генов, кодирующих разные микроРНК. Скорее всего, их список будет возрастать. Интерес к ним крайне высокий. Как показали и продолжают показывать совершенно неожиданные результаты последних лет, изменения в синтезе микроРНК сильно связаны с возникновением, прогрессированием и метастазированием злокачественных опухолей. Часть микроРНК при этом сверхсинтезируются. Синтез других падает. Некоторые исследователи даже полагают, что именно нарушение регуляции синтеза микроРНК, которые в свою очередь, как отмечалось, являются регуляторами синтеза белков – если не первопричина онкогенеза, то, по крайней мере, одна из главных причин (37-41).

Более 50% генов, кодирующих известные микроРНК человека, расположены в областях хромосом, связанных с онкогенезом. Некоторые микроРНК могут функционировать как онкогены - индуцируют онкогенез. К этому приводит повышение их синтеза. Другие микроРНК проявляют себя как супрессоры опухолей - подавляют неконтролируемую пролиферацию. Например, сверхсинтез микроРНК miR-17-92. Эта микроРНК проявляет себя как онкоген, подавляет активность гена, который, в свою очередь, должен обеспечивать синтез белка-супрессора опухолей или белка, стимулирующего апоптоз («запрограммированную смерть») раковых клеток. А сниженный синтез некоторых микроРНК, например, микро РНК let-7, проявляется как действие опухолевого супрессора, способного ингибировать онкогенез за счет инактивации белков, вызывающих деление клеток (42). Отсюда и название микроРНК, связанных с онкогенезом – **oncogenic micro RNA** (43).

С помощью онкоРНомики идентифицирован, в частности, комплекс микроРНК, который позволяет однозначно дифференцировать рак поджелудочной железы и доброкачественные опухоли этого органа. В этот комплекс входят около 100 различных микроРНК. Их содержание в опухолях поджелудочной железы в 30-50 раз выше нормы. Ожидается, что открытие этих микроРНК не только повысит возможности ранней диагностики рака поджелудочной железы, но и, возможно, ляжет в основу создания препаратов, ингибирующих их активность и, тем самым, подавляющих развитие опухолей поджелудочной железы (44). В другом исследовании различные специфические профили около 100 микроРНК были обнаружены в нормальной поджелудочной железе, при панкреатите и при раке поджелудочной железы. Эти профили позволяют проводить четкую дифференциальную диагностику указанных патологий (45). Кроме того, в опухолях рака молочных желез идентифицированы 4 типа микроРНК с особо резко измененными концентрациями, что, в свою очередь, оказалось связанным повышенной пролиферацией и инвазивностью клеток опухоли (46).

Повышенные уровни микроРНК miR-103 и miR-107, сопровождающиеся исчезновением микроРНК miR-155, позволяют проводить дифференциальную диагностику опухолей эндокринных желез и ацинозных опухолей. Повышенный синтез микроРНК miR-204 связан с инсулиномами и коррелирует с повышенным уровнем инсулина, регистрируемым иммуногистохимическими методами. А сверхсинтез микроРНК miR-21 сильно связан с образованием метастазов в печени (47).

Давно известно, что хромосомы злокачественных клеток характеризуются высоким спектром структурных аномалий, которые располагаются не случайным образом, а в специфических точках хромосом и, тем самым, представляют собой маркеры для цитологической диагностики. Как оказалось, в таких «горячих точках» хромосом весьма часто располагаются гены, кодирующие микроРНК. Экспрессия этих генов в таких случаях сильно нарушена, либо повышена, для одних микроРНК, либо понижена для

других. Работы по идентификации подобных РНК и по выяснению их связи с локализацией структурных аномалий хромосом и с различными типами злокачественных опухолей - одни из самых перспективных (48). Уже идентифицировано 7 микроРНК, гены которых расположены кластером в области хромосомы, которая амплифицирована (многократно повторена) в лимфомах и в некоторых солидных опухолях. Такая амплификация, как правило, ведет к повышенной экспрессии генов (49).

Вопросы о том, как именно и какие именно стрессогенные факторы вызывают онкогенез, обсуждаются очень давно. В модельных опытах с использованием культур клеток показано, что при стрессогенных воздействиях (арсенат натрия, дефицит фолата) происходит глобальное повышение синтеза микроРНК, приводящее к нарушению нормальной сбалансированности их синтезов. Не исключено, что подобные процессы могут происходить и *in vivo* (50).

Однако применение микроРНК перспективно не только для диагностики. Предполагается, что введение в раковые клетки синтетических или природных РНК, предназначенных для избирательного подавления патологических повышенных уровней онкомикроРНК - весьма перспективный метод молекулярной терапии злокачественных заболеваний. Работы в этом направлении ведутся весьма интенсивно (51). Ожидается, что в 2010 году мировой рынок терапевтических препаратов, созданных на основе микроРНК, составит 3,5 млрд. долл, а в 2015 – 10,5 млрд. долл. (52).

### **Ренальная транскриптомика и протеомика**

Уже достигнуты значительные успехи в обнаружении новых маркеров в тканях (биопсия), в сыворотке и в моче, свидетельствующих о ренальных заболеваниях, о хронической и острой почечной недостаточности и их динамике. Эти маркеры способны обеспечивать дифференциальную диагностику ренальных патологий, мониторинг их терапии и мониторинг эффективности трансплантации почки (53). В предварительном, но уже весьма впечатляющем списке потенциальных маркеров почечных патологий представлены белки цитоскелета, протеиназы, ингибиторы протеиназ, ферменты метаболизма, белки связанные с апоптозом, белки процессов окисления - восстановления, белки, связывающие кальций, белки транспортеры, сигнальные белки, белки, индуцируемые стрессом и др. (54).

### **Эндокринная транскриптомика и протеомика**

Различные эндокринные клетки синтезируют разные спектры как кодирующих РНК, так и микроРНК. Весьма интенсивно ведутся работы по транскриптомике и протеомике *всех* эндокринных органов, как в норме, так и при патологиях. Результаты регулярно поступают в базу данных «Омнибус Экспрессии Генов» (Gene Expression Omnibus – GEO, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>) (55). Цель эндокринной транскриптомики и протеомики - установить цепь молекулярных событий, от индукции синтеза гормона до реализации его действия в норме и при патологиях, обнаружить мутации, влияющие на эти процессы и разработать методы идентификации таких мутаций, применимые в лабораторной практике (56). Уже проводится идентификация *всех* РНК, изменение синтеза которых свидетельствует о злокачественных заболеваниях эндокринной системы (57-60). В 2002 г было идентифицировано около 400 генов, кодирующих рецепторы, связанные с различными G - белками и взаимодействующие с гормонами (61). Весьма перспективен транскриптомный и протеомный мониторинг результатов гормональной терапии многих онкологических заболеваний. При разработке методов мониторинга гормональной терапии эстроген-зависимого рака груди был установлен комплекс из 138 генов, активность которых изменяется в ответ на действие эстрогена (62).

На эндокринную активность может негативно влиять большое количество синтетических



(антропогенных) и природных соединений, встречающихся в окружающей среде. Такие соединения, называемые эндокринными разрушителями (endocrine disrupters) весьма различаются по структуре и по своему действию. Их идентификация и выяснение механизма их действия с помощью *токсигеномики* считается весьма актуальной задачей (63-64).

### **Перинатальная транскриптомика и протеомика**

Ее задачи - определять риск спонтанных аборт и патологий развития плода (наследственных, врожденных и др.) путем анализов транскриптомов и протеомов амниотической жидкости и находящихся в ней отшелушившихся клеток плода, материнской и пуповинной крови. (65-67)

### **Аллергопротеомика**

Это анализ протеомов IgE антител, в особенности мониторинг изменения IgE протеомов при патологиях. Он уже успешно используется диагностики аллергических патологий и астмы (68-69).

### **Геномика, транскриптомика и протеомика стресса**

Какие гены наиболее подвержены стрессам? Что при этом происходит в цепи событий от синтеза РНК, до действия кодируемых ими белков? Как и когда кратковременный стресс приводит к острым или хроническим патологиям? Согласно общепринятой точке зрения, стресс – это координированные физиологические процессы, направленные на поддержание динамического равновесия в организме в стрессовых условиях. Стресс включает особые метаболические, физиологические и поведенческие механизмы, восстанавливающие гомеостаз. Уже проведены работы по исследованию транскриптома лейкоцитов периферической крови пациентов, страдающих депрессией (70).

### **Нейрогеномика, нейротранскриптомика и нейропротеомика**

Это транскриптомика и протеомика тканей, сыворотки, спинно-мозговой жидкости в норме и при нейропатологиях (71-72). Ранее было показано, что различные типы повреждений головного мозга у крыс приводят к различным профилям транскриптомов в периферической крови. Позже эксперименты по определению транскриптомов и протеомов сыворотки показали, что существуют высокочувствительные и высоко специфические их профили, предсказывающие ишемические инсульты. Также в крови обнаружены специфические профили транскриптомов и протеомов, характерные для синдрома Дауна, нейрофиброматоза, бугорчатого склероза, "синдрома Геттингтона", множественного склероза, синдрома Туретта и др. (73). Анализ транскриптома и протеома спинно-мозговой жидкости выявил, что мутационные повреждения генов, кодирующих предшественник амилоидного белка, а так же белков, которые называются пресенилин 1 и пресенилин 2, повышают вероятность развития болезни Альцгеймера (БА). Обнаружено несколько патогенетических путей возникновения БА, включающих нарушения процессинга предшественника амилоидного белка, деградацию бета-амилоида, нарушение процессов фосфорилирования белков, нарушения липидного метаболизма, нарушения протеолиза. нарушения самосборки белков и др. (74). Весьма показательны результаты изучения протеомов спинно-мозговой жидкости пациентов, страдающих болезнью Альцгеймера, синдромом Дауна, болезнью Пика, шизофренией, болезнью Паркинсона. Уже идентифицировано около 330 белков, уникальных для нейродегенеративных и психиатрических нарушений. Эти белки участвуют в метаболизме, в формировании цитоскелета, в передаче внутриклеточных сигналов, детоксикации и др. (75). Известные

белки, вовлеченные в нейродегенеративные заболевания это нормальный *tau* белок, бета амилоидный белок 1-42, синаптические белки, белок-предшественник амилоидного белка, аполипопротеин E (apoE). С помощью протеомики установлено, что при болезни Альцгеймера (в отличие от других нейродегенеративных заболеваний) в спинно-мозговой жидкости наблюдаются низкие уровни амилоидного белка 1-42 и высокие уровни *tau* белка и его фосфорилированной формы (76). Обнаружено, что протеом спинно-мозговой жидкости, состоящий по крайней мере из 250 белков, резко меняется при травматических повреждениях мозга. При таких травмах в 4 раза возрастают концентрации основных белков острой фазы, уровни изоформ гаптоглобина при этом повышаются 4 раза, а уровни простагландин -D<sub>2</sub> -синтазы и цистатин -С- синтазы возрастают в 7 раз (77).

## **НейроРНОмика**

Как оказалось, микроРНК играют ключевую роль и в регуляции синтеза белков, необходимых для образования синапсов. Обнаружено и детально охарактеризовано большое количество микроРНК, локализующихся в местах синаптических контактов, реагирующих на внешние стимулы и, в результате, активирующих специфические ферменты (протеинкиназы), которые в свою очередь, участвуют в обеспечении таких процессов, как, память, обучение и др. (78-79). Похоже, что микроРНК вовлечены в процессы, связанные с ментальностью и нарушения синтеза таких микроРНК влияют на память и на показатели коэффициента интеллектуальности (IQ) (80-81).

## **Психиатрическая геномика, транскриптомика и протеомика**

Это направление занимается выяснением того, какие именно мутации, какие изменения транскриптомов и протеомов характерны для психических расстройств (82-83). Определение транскриптомного профиля уже привело к открытию неожиданных связей между изменениями экспрессии определенных генов и психиатрическими проблемами. Обнаружено, в частности, что вызванные мутациями нарушения экспрессии генов GAD67, (кодирует декарбоксилазу глутаминовой кислоты), RGS4 (кодирует регулятор сигнального белка G4), DTNBP1 (кодирует дисбиндин), NRG1 (кодирует нейрорегулин), GABRB2 (кодирует рецептор А гамма-аминомасляной кислоты) специфичны для шизофрении (84).

Неожиданно протеомика плазмы и спинномозговой жидкости пациентов, страдающих шизофренией, выявила изменения уровней аполипопротеинов, участвующих в метаболизме холестерина. Обнаружено, снижение в плазме уровня аполипопротеина А-I, центрального белкового компонента Х-ЛПВП (85). В другой работе обнаружено, что при шизофрении наблюдается повышение уровней белков острой фазы, среди которых  $\alpha_2$ -гаптоглобин, бета-гаптоглобин, предшественник В-фактора комплемента и понижение уровней аполипопротеина А-I и транстиретина (белок плазмы и спинно-мозговой жидкости, переносчик тиреоидного гормона тироксина) (86). Показано также, что при шизофрении в спинно-мозговой жидкости уровень аполипопротеина А-IV значительно снижен. Какую функцию этот компонент хиломикрон и Х-ЛПВП, принимающий участие в обратном транспорте холестерина, играет в ЦНС - не известно (87). Попутно отметим, что низкие уровни Х-ЛПВП в плазме связаны с болезнью Паркинсона (88). Уже обнаружено 165 генов, мутации в которых могут приводить к аутизму (89).

## **Транскриптомика и протеомика эмоциональных расстройств**

Они устанавливают связь между патофизиологическими, биохимическими и генетическими маркерами биполярных эмоциональных расстройств. Такими маркерами являются моноаминовые трансмиттеры, некоторые гормоны, G-белки, вовлеченные в

передачу внутриклеточных сигналов (90). Исследования по геномике с применением модельных систем (мыши) и сравнение полученных результатов с данными геномики эмоциональных расстройств человека выявили, что генами, нарушение функционирования которых ведет к таким расстройствам, являются DARPP-32 (дофамин и цАМФ – регулируемый фосфопротеин, 32 кДА), PENK (препроэнкефалин) и TAC1 (тахикинин 1). Сравнение геномики мыши и человека показало, что примитивные молекулярные механизмы, вовлеченные в возникновение и поддержание удовольствия или боли (у мышей), в процессе эволюции стали играть у человека определяющую роль в реализации сложных ментальных функций, таких как разные эмоциональные состояния. Список генов, мутации которых вызывают эмоциональные расстройства, постоянно расширяется, эти гены участвуют в обеспечении суточных физиологических ритмов, в образовании синапсов, связаны с функционированием миелина (91-92).

Протеомика спинно-мозговой жидкости пациентов с синдромом хронической усталости и с «болезнью войны в Персидском заливе» выявила 20 белков, присутствующих у этих групп пациентов и не обнаруживаемых в контрольной группе. Два из них - альфа-1-макроглобулин и белок, сходный с предшественником амилоидного белка (93). Тревожность, подверженность или устойчивость к стрессам, это генетически наследуемые характеристики, лежащие в основе многих психиатрических заболеваний. Обнаружено, что тревожность и подверженность стрессам обуславливается мутациями генов 5-HTT (серотониновый транспортер) и COMT (катехол-о-метилтрансфераза) (94).

### **Геномика личности**

Хотя то, о чем будет говориться в этом разделе, строго говоря, не относится к лабораторной клинической диагностике, для полноты картины сказать об этом все же надо. Определяются ли генами и мутациями в них эмоциональные, ментальные и интеллектуальные особенности людей, не выходящие за пределы нормы? Первые доказательства, что это так, были получены в многочисленных исследованиях когнитивных и психологических характеристик монозиготных (генетически идентичных) и дизиготных (генетически разных) близнецов в тех случаях, когда они были разлучены и росли в разных условиях окружающей среды. На уровне сравнения интеллектуальных и психологических характеристик таких близнецов было показано, что практически по всем когнитивным, ментальным, психологическим и поведенческим характеристикам монозиготные близнецы похожи друг на друга и на своих биологических, а не приемных родителей. И при том, вне зависимости, росли близнецы вместе или порознь. С биологическими родителями или с приемными.

Полагается, что генетически детерминированными являются даже такие, казалось бы, далекие от чисто биологических, характеристики как уровень интеллекта, самостоятельность и зависимость, активность и пассивность, мнительность и тревожность, экстравертность и интровертность, чувствительность или толерантность к стрессам, альтруизм и эгоизм, агрессивность или сексуальность. В значительной мере генетически детерминируемые считаются и такие, казалось бы, социально обусловленные особенности человека, как политические предпочтения (консерватизм, либерализм, радикализм), как отношение к смертной казни (за или против), музыкальные вкусы (классическая, легкая или электронная музыка), патологическая азартность, алкоголизм, предпочтительный вид отпуска, маниакально-депрессивные психозы, шизофрения, криминальное поведение. Недавно в седьмой хромосоме были открыты гены «социального поведения», некоторые мутации которых приводят «к открытому поведению», к повышенной общительности (экстравертности) и доброжелательности, к повышенным лингвистическим способностям и к высокому уровню общих когнитивных способностей.

В данный момент список генов, непосредственно участвующих в программировании

когнитивных характеристик человека, включает более 150 названий. Полагается, что существенное влияние на личностные характеристики оказывают мутации в генах, участвующих в кодировании метаболизма таких нейротрансмиттеров, как серотонин, дофамин, глутамин и др. (95). Весьма показательно открытие генов, особые мутации в которых характеризуют то, что принято называть “национальным” характером, или этнопсихологическими особенностями. Первым «молекулярным» прорывом в изучении геномики этнопсихологических особенностей стало обнаружение мутаций, программирующих «воинственность или миролюбие». Антропологи считают т.н. архетипом воинственности - индейцев Южной Америки, в частности племя Яномамо (Yanomamo), члены которого регулярно встают на тропу войны. Это вызывается тем, что в гене, кодирующем рецептор нейротрансмиттера дофамина (DRD4), у этих индейцев очень часто встречается особая мутация 7R, которая делает их весьма агрессивными, возбудимыми, импульсивными и несговорчивыми. У бушменов и восточно-азиатских фермеров (архетипы миролюбия) такая мутация встречается крайне редко. Другие типы мутаций в этом гене, как показала психиатрическая геномика, приводят к гиперактивности, к повышенной конфликтности, к постоянному поиску "острых" ощущений (96). Эмоциональная сдержанность и межличностная чувствительность, характерные для японской популяции, кодируются т.н. особыми «короткими» мутантными формами гена транспортера нейротрансмиттера серотонина 5HTTLPR. Полагается, что высокая частота встречаемости этой мутации в японской популяции является результатом отбора, направленного на избегание исключения личности из социума (97).

В ближайшем будущем станет возможным быстрое секвенирование геномов конкретных лиц. Сейчас стоимость секвенирования генома индивида, занимающая две недели, составляет 32 000 долл. Стратегическая цель – расшифровка генома за 1 000 долл. и за несколько дней, как ожидается, будет достигнута в течение этого десятилетия и сделает эту процедуру, рыночный спрос на которую уже весьма велик, высоко рентабельной. Методы геномики личности, как считается, кардинально изменят облик не только медицины, но и общества в целом, сделав возможным прогнозирование не только развития многих заболеваний, но так же и интеллектуальных, ментальных и поведенческих особенностей индивидов (98).

### **Транскриптомика и протеомика сна и бодрствования**

Весьма интересны изменения в транскриптоме при сне, при бодрствовании, при лишении сна и при ходьбе. Полагается, что этот подход может быть перспективным для решений проблем, связанных с бессонницей (99).

### **Клиническая метаболомика**

Метаболомика – построение глобального профиля концентрации *всех* метаболитов в данном образце. Основное направление работ – выявление метаболических изменений, характерных для инициации патологий и ее динамики, для закономерностей ответа метаболизма на терапию. Основные патологии, находящиеся в фокусе метаболомики – метаболический синдром, диабет, сердечно-сосудистые заболевания, патологии печени. Метаболомика основана на применении спектроскопии протонного ядерного магнитного резонанса в сочетании с компьютерным анализом распознавания образов. Распознавание образов (паттернов) мультиплетной структуры спектров ЯМР – это новый инструмент изучения структуры и свойств органических соединений. Для лабораторной диагностики определяющее значение имеют спектры протонного ядерного магнитного резонанса сыворотки, спинно-мозговой жидкости и мочи (100-103). Метаболомика уже показала высокую эффективность при обнаружении врожденных и наследственных нарушений метаболизма, нарушений метаболизма, вызванных эндогенными и экзогенными

факторами, при трансплантациях (до и после), при изучении токсичности лекарственных препаратов (*токсикогеномика*), реакций организма на лекарственные препараты (*фармакогеномика*), при определении индивидуальных особенностей реакции организма на различные пищевые продукты (*нутриномика*) (104).

Но как осмысливать данные метаболомики? Как и в какой степени соотносить полученные данные со сложнейшей общей картиной метаболизма человека? В начале 2007 года сообщено о создании базы данных и компьютерной модели, в которых впервые представлены *все* биохимические реакции, происходящие в организме человека и связи активностей *всех* генов с обменом веществ и последующей выработкой соответствующих белков, ферментов и метаболитов. Разумеется, карты отдельных метаболических циклов, существовали и раньше, однако такая работа по глобальному обобщению проделана впервые. База данных, которая теперь будет постоянно пополняться, сегодня включает 3 300 различных химических реакций. Для этого пришлось просмотреть около 1 500 книг и огромное число научных статей, причем без помощи компьютера, поскольку глубина анализа составляла 50 лет, а тогда электронных публикаций еще не было. Биохимические реакции и их взаимосвязи описаны для каждого типа клеток организма. В компьютерную модель можно вводить различные исходные данные и на выходе получать результаты в виде концентрации тех или иных веществ. Для испытания системы были использованы 288 различных ситуаций, в частности, синтеза тестостерона и эстрогена, а также метаболизм жиров, поступающих в организм с пищей. Модель имеет общий характер, и сегодня использовать ее с учетом особенностей индивидов пока непросто (105).

### **Кардиоваскулярная метаболомика**

Метаболомика сыворотки весьма точно диагностирует сердечно-сосудистые патологии и определяет их тяжесть. В частности обнаружена высокая корреляция между определенными показателями метаболома и количеством стенозов в коронарных сосудах, а также корреляция между этими показателями и эффективностью терапии статинами (106).

### **Ренальная метаболомика**

Изменение профилей метаболитов как сыворотки, так и мочи довольно точно локализует патологии в почках. Метаболомный мониторинг изменений, связанных с применением иммунодепрессантов и других препаратов обеспечивает надежное прогнозирование процессов, связанных с гемодиализом и трансплантацией. В частности, метаболомика уже показала свою эффективность при мониторинге последствий, вызванных трансплантацией почки. Традиционно эти процессы контролируются с помощью мониторинга уровня сывороточного креатинина, выхода мочи, кровяного давления, определения уровня глюкозы и гистопатологии образцов биопсии. В целом, с помощью метаболомики в сыворотке крови и в моче были обнаружены новые маркеры, которые позволяют более эффективно проводить мониторинг трансплантации почки, определять степень токсичности иммуносупрессивных препаратов, указывать на локализацию повреждения (107).

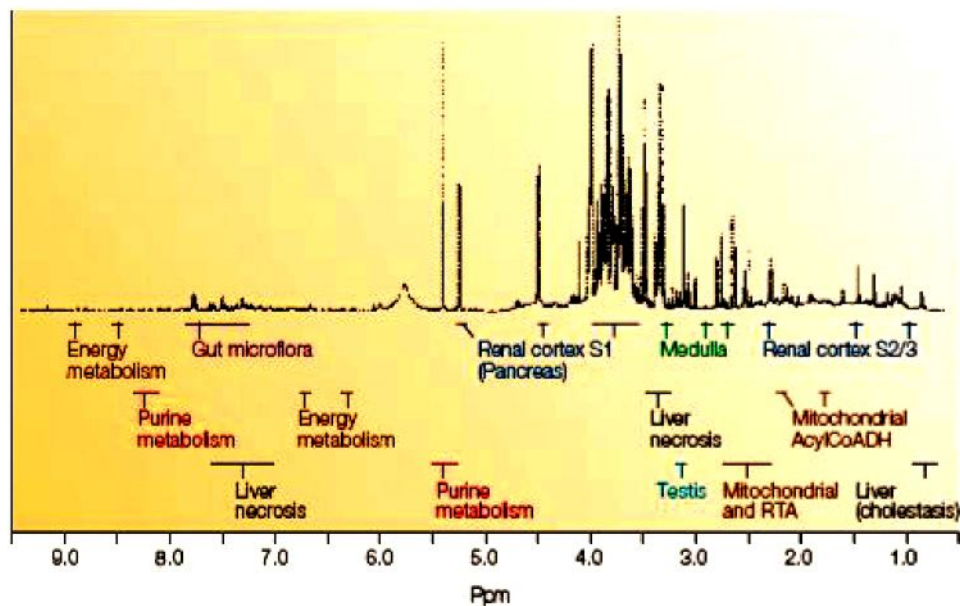


Рис.3. Функциональный ЯМР спектр мочи крыс. Разным цветом обозначены зоны, в которых располагаются спектральные биомаркеры, специфически характерные для различных патофизиологических состояний. Один ЯМР спектр (одно измерение) дает информацию о большом количестве патологических процессов, обычно о сотнях типах заболеваний (108).

### Психиатрическая метаболомика

Весьма информативными оказались исследования метаболома спинно-мозговой жидкости при шизофрении. Они выявили серьезные нарушения регуляции уровня глюкозы, характерные для этой патологии. Показательно, что у пациентов с шизофренией количество случаев диабета 2 типа составляет 16,8% , тогда как в среднем в популяции встречаемость диабета 2 типа - 2–3%. (109).

### Клиническая липидомика

Это важнейшее направление метаболомики. Нарушения липидного обмена связаны с такими заболеваниями, как атеросклероз, диабет, ожирение, болезнь Альцгеймера. **Липидом** - липидный профиль грубого липидного экстракта из образца – это масс спектр, характеризующий липидный состав и концентрации *всех* индивидуальных липидов образца. Подход основан на комбинации жидкостной хроматографии и масс-спектрометрического анализа. Прогресс в липидомике достигнут благодаря разработке новых масс-спектрометрических подходов, в частности, методов «мягкой ионизации», таких как ионизация электрораспылением и матрично-активированная лазерная десорбция /ионизация. В частности, успехи применения метода масс-спектрометрии с ионизацией электрораспылением способствовали развитию «струйной» липидомики (shotgun lipidomics) и практическому применению разделения компонентов внутри источника ионов в качестве стратегии применения двумерной масс-спектрометрии для изучения состава липидов биологических образцов (110).

Липидомика подразделяется на: 1) липидомику клеточной архитектуры и мембран

(architecture/membrane lipidomics) и, 2) липидомику медиаторов (mediator lipidomics). С помощью липидомики строятся метаболические сети, в которых участвуют (практически) **все** липиды и медиаторы, являющиеся производными липидов. С помощью этого подхода уже установлено детальное строение мембран многих типов клеток, установлены механизмы активации провоспалительных цитокинов, происходящие за счет медиаторов, связанных с липидами (111, 112).

### **Клиническая нейролипидомика**

Нарушения метаболизма липидов связаны с серьезными неврологическими патологиями, включающими биполярные расстройства и шизофрению, а также с нейродегенеративными заболеваниями, такими как болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона, болезнь Неймана – Пика (Niemann-Pick). Нарушения регуляции липидов связаны также с повреждениями, вызванными ишемическим инсультом. Особенно большое значение имеет нейролипидомика спинно-мозговой жидкости (113).

### **Многомерная биология: перспективы для медицины и лабораторной диагностики**

Научное значение многомерной биологии для медицины переоценить невозможно. Этот подход уже привел к выявлению новых механизмов возникновения и развития многих патологий. В ближайшем будущем следует ожидать появление единой многомерной медицинской науки, раскрывающей детальные молекулярные механизмы конкретных патологий в цепи событий, включающих: «гены -> РНК -> белки -> метаболиты -> физиологические процессы -> психиатрические и психические особенности -> ментальные и интеллектуальные характеристики».

Что касается ценности «...омика» для лабораторной диагностики - это новые маркеры, которые уже открыты и обязательно будут открыты. Диагностическая ценность маркеров обычно зависит от трех показателей: чувствительности, специфичности и предсказательной способности. Как правило, между чувствительностью и специфичностью существует обратная зависимость. К сожалению, маркеры с идеальной специфичностью и чувствительностью очень редки. Но с другой стороны, причина почти всех патологий никогда не бывает единственной, чаще всего это неблагоприятное стечение многих отрицательных факторов. Возможным решением этой проблемы может стать разработка стандартных комплексов маркеров, которые будут давать достоверную предикторскую и/или диагностическую информацию. Поскольку биология высоких измерений позволяет установить причинно-следственные в цепи: ген -> РНК (кодирующая или микроРНК) -> белок -> метаболит, такие комплексы маркеров могут состоять из специфических олигонуклеотидов, белков и метаболитов (114).

Следующий этап – разработка для относительно широкого применения узкоспециализированных наборов для транскриптомики, протеомики и метаболомики, например, кардиопатологий, ренальных патологий, различных злокачественных заболеваний, разных биологических жидкостей и т.д. (реагенты, оборудование, инструменты, компьютеры, базы данных, программное обеспечение и др.).

Сейчас, как и раньше, в лечении участвуют трое: врач, болезнь и больной. Если врач и больной против болезни – это одно. Если болезнь и больной против врача – это, к несчастью, совсем другое. Но скоро у врача может появиться сильный союзник - компьютерная модель больного. Появится возможность лечить одновременно больного и его компьютерную модель, построенную на основе геномики, транскриптомики,

протеомики и метаболомики пациента и, по мере лечения, на основе мониторинга их динамики, корректировать и то другое

И станет тогда медицина XXI века: предиктивной, превентивной и, персонализированной: предсказывающей, предотвращающей и ориентированной не на борьбу с отдельными болезнями, а на четко и научно индивидуализированное лечение конкретного больного (114).

*«И сказали они: построим себе город и башню, высоту до небес...»* (Быт. 11:1—9).

## Литература

1. Puztai L, Hess K. R, Clinical trial design for microarray predictive marker discovery and assessment. *Annals of Oncology*. 2004, 15: 1731– 1737,
2. He YD. Genomic approach to biomarker identification and its recent applications. *Cancer Biomark*. 2006;2(3-4):103-33
3. Puztai L. Chips to bedside: incorporation of microarray data into clinical practice. *Clin Cancer Res*. 2006; 12(24):7209-7214.
4. Patino WD, Mian OY, Kang JG, Matoba S, Bartlett LD, Holbrook B, Trout HH, Kozloff L, Hwang PM. Circulating transcriptome reveals markers of atherosclerosis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005;102(9):3423-3488
5. Vitzthum F, Behrens F, Anderson N L, Shaw JH Proteomics: From Basic Research to Diagnostic Application. A Review of Requirements & Needs *Journal of Proteome Research* 2005, 4, 1086-1097
6. Tsiridis E, Giannoudis PV. Transcriptomics and proteomics: advancing the understanding of genetic basis of fracture healing. *Injury*. 2006; 37 Suppl 1:S13-9.
7. Filipowicz W. Imprinted expression of small nucleolar RNAs in brain: time for RNomics. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2000; 97(26):14035-7
8. Beggs JD, Tollervey D. Crosstalk between RNA metabolic pathways: an RNOMICS approach. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2005; 6(5):423-439.
9. Huttenhofer A, Vogel J. Experimental approaches to identify non-coding RNAs. *Nucleic Acids Res*. 2006 ; 34(2):635-646
10. Backofen R, Bernhart SH, Flamm C, Fried C, Fritzsche G, Hackermuller J, Hertel J, Hofacker IL, Missal K, Mosig A, Prohaska SJ, Rose D, Stadler PF, Tanzer A, Washietl S, Will S. RNAs everywhere: genome-wide annotation of structured RNAs. *J Exp Zool B Mol Dev Evol*. 2006
11. Kauppinen S, Vester B, Wengel J. Locked nucleic acid: high-affinity targeting of complementary RNA for RNomics. : *Handb Exp Pharmacol*. 2006; (173):405-422
12. Cummins JM, Velculescu VE. Implications of micro-RNA profiling for cancer diagnosis. *Oncogene*. 2006; 25(46):6220-6227.
13. Wittmann-Liebold B, Graack HR, Pohl T. Two-dimensional gel electrophoresis as tool for proteomics studies in combination with protein identification by mass spectrometry. *Proteomics*. 2006; 6(17): 4688-4703
14. Arab S, Gramolini AO, Ping P, Kislinger T, Stanley B, van Eyk J, Ouzounian M, MacLennan DH, Emili A, Liu PP. Cardiovascular proteomics: tools to develop novel biomarkers and potential applications. *J Am Coll Cardiol*. 2006; 48(9):1733-1741
15. Chung CH, Levy S, Chaurand P, Carbone DP. Genomics and proteomics: Emerging technologies in clinical cancer research. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2007; 61(1):1-25
16. Whiteley GR. Proteomic patterns for cancer diagnosis--promise and challenges. *Mol Biosyst*. 2006; 2(8):358-363.
17. Smith JD, Topol EJ. Identification of atherosclerosis-modifying genes: pathogenic insights and therapeutic potential. *Expert Rev Cardiovasc Ther*. 2006; 4(5):703-709.
18. Mariappan D, Winkler J, Hescheler J, Sachinidis A. Cardiovascular genomics: a current overview of in vivo and in vitro studies. *Stem Cell Rev*. 2006; 2(1):59-66.
19. Arrell DK, Neverova I, Van Eyk JE Cardiovascular Proteomics : Evolution and Potential. *Circ Res*. 2001;88:763-773.
20. Arab S, Gramolini AO, Ping P, Kislinger T, Stanley B, van Eyk J, Ouzounian M, MacLennan DH, Emili A, Liu PP. Cardiovascular proteomics: tools to develop novel biomarkers and potential applications. *J Am Coll Cardiol*. 2006; 48(9):1733-1741
21. Matt P, Carre TI, White M, Lefkovits I, PhD, Van Eyk J, Proteomics in cardiovascular surgery. *J Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 2007, 133, 1. 210- 214.
22. Bijnens AP, Lutgens E, Ayoubi T, Kuiper J, Horrevoets AJ, Daemen MJ. Genome-wide expression studies of atherosclerosis: critical issues in methodology, analysis, interpretation of transcriptomics data. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2006; 26(6):1226-1235.
23. Omenn G S., States D J, Adamski M et al Overview of the HUPO Plasma Proteome Project: Results from the pilot phase with 35 collaborating laboratories and multiple analytical groups, generating a core dataset of 3020 proteins and a publicly-available database *Proteomics* 2005, 5, 3226–3245
24. Diamandis EP. Serum proteomic profiling by matrix-assisted laser desorption-ionization time-of-flight mass spectrometry for cancer



diagnosis: next steps. *Cancer Res.* 2006; 66(11):5540-5541

25. States DJ, Omenn GS, Blackwell TW, et al Challenges in deriving high-confidence protein identifications from data gathered by a HUPO plasma proteome collaborative study. *Nat Biotechnol.* 2006 Mar;24(3):333-338.

26. Omenn G S. Strategies for plasma proteomic profiling of cancers *Proteomics* 2006, 6, 5662–5673

27. Gnatenko DV, Perrotta PL, Bahou WF. Proteomic approaches to dissect platelet function: Half the story. *Blood.* 2006, 108(13):3983-3991

28. Patino WD, Mian OY, Kang JG, Matoba S, Bartlett LD, Holbrook B, Trout HH 3rd, Kozloff L, Hwang PM. Circulating transcriptome reveals markers of atherosclerosis. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2005; 102(9):3423-3428.

29. Kolch W, Miischak H, Pitt The molecular make-up of a tumour: proteomics in cancer research *Clinical Science* (2005) 108, 369–383

30. Asa SL, Ezzat S Genetics and Proteomics of Pituitary Tumors. *Endocrine*, 2005, 28, 1,43-47,

31. Kallioniemi O. Functional genomics and transcriptomics of prostate cancer: promises and limitations. *BJU Int.* 2005; 96 Suppl 2:10-15.

32. Petrik V, Loosemore A, Howe FA, Bell BA, Papadopoulos MC. OMICS and brain tumour biomarkers. *Br J Neurosurg.* 2006; 20(5):275-280.

33. Whiteley GR Proteomic patterns for cancer diagnosis--promise and challenges.. *Mol Biosyst.* 2006;2(8):358-363.

34. Solassol J, Jacot W, Lhermitte L, Boulle N, Maudelonde T, Mange A. Clinical proteomics and mass spectrometry profiling for cancer detection/ *Expert Rev Proteomics*, 2006, 3(3). 311-320

35. Chung CH, Levy S, Chaurand P, Carbone DP Genomics and proteomics: Emerging technologies in clinical cancer research. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2007; 61 (1):1-25

36. Anensen N, Haaland I, D'Santos C, Van Belle W, Gjertsen BT. Proteomics of p53 in diagnostics and therapy of acute myeloid leukemia. *Curr Pharm Biotechnol.* 2006, 7(3):199-207.

37. Garzon R, Fabbri M, Cimmino A, Calin GA, Croce CM. MicroRNA expression and function in cancer. *Trends Mol Med.* 2006; 12(12):580-587

38. Croce C. MicroRNAs in leukemia. *Clin Adv Hematol Oncol.* 2006; 4(8):577-578.

39. Hammond SM. RNAi, microRNAs, and human disease. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2006; 58 Suppl 7:63-68.

40. Wijnhoven BP, Michael MZ, Watson DI. MicroRNAs and cancer. *J Surg.* 2007; 94(1):23-30.

41. Osada H, Takahashi T. MicroRNAs in biological processes and carcinogenesis. *Carcinogenesis.* 2007;28(1):2-1

42. Zhang B, Pan X, Cobb GP, Anderson TA. microRNAs as oncogenes and tumor suppressors. *Dev Biol.* 2006 Aug 16;

43. Esquela-Kerscher A, Slack FJ. Oncomirs - microRNAs with a role in cancer. *Nat Rev Cancer.* 2006; 6(4):259-269

44. Lee EJ, Gusev Y, Jiang J, Nuovo GJ, Lerner MR, Frankel WL, Morgan DL, Postier RG, Brackett DJ, Schmittgen TD. Expression profiling identifies microRNA signature in pancreatic cancer. *Int J Cancer.* 2006 Dec 5

45. Lee EJ, Gusev Y, Jiang J, Nuovo GJ, Lerner MR, Frankel WL, Morgan DL, Postier RG, Brackett DJ, Schmittgen TD. Expression profiling identifies microRNA signature in pancreatic cancer. *Int J Cancer.* 2006 Dec 5

46. Iorio MV, Ferracin M, Liu CG, Veronese A, Spizzo R, Sabbioni S, Magri E, Pedriali M, Fabbri M, Campiglio M, Menard S, Palazzo JP, Rosenberg A, Musiani P, Volinia S, Nenci I, Calin GA, Querzoli P, Negrini M, Croce CM. MicroRNA gene expression deregulation in human breast cancer. *Cancer Res.* 2005; 65(16):7065-7070.

47. Roldo C, Missiaglia E, Hagan JP, Falconi M, Capelli P, Bersani S, Calin GA, Volinia S, Liu CG, Scarpa A, Croce CM. MicroRNA expression abnormalities in pancreatic endocrine and acinar tumors are associated with distinctive pathologic features and clinical behavior. *J Clin Oncol.* 2006; 24(29):4677-4684.

48. Calin GA, Croce CM. MicroRNAs and chromosomal abnormalities in cancer cells. *Oncogene.* 2006 ;25(46):6202-6210.

49. Esquela-Kerscher A, Slack FJ. Oncomirs - microRNAs with a role in cancer. *Nat Rev Cancer.* 2006; 6(4):259-269

50. Marsit CJ, Eddy K, Kelsey KT. MicroRNA responses to cellular stress. *Cancer Res.* 2006; 66 (22): 10843-10848.

51. Wurdinger T, Costa FF. Molecular therapy in the microRNA era. *Pharmacogenomics J.* 2006 Dec 26;

52. Jain KK. Commercial potential of RNAi. *Mol Biosyst.* 2006; 2(11):523-526

53. Vidal BC, Bonventre JV, I-Hong Hsu S. Towards the application of proteomics in renal disease diagnosis. *Clin Sci (Lond).* 2005; 109 (5):421-430.

54. Thongboonkerd V. Proteomic analysis of renal diseases: unraveling the pathophysiology and biomarker discovery. *Expert Rev Proteomics.* 2005; 2(3):349-366.

55. Carter D. Cellular transcriptomics - the next phase of endocrine expression profiling.. *Trends Endocrinol Metab.* 2006; 17 (5):192-198

56. Hsu SY, Hsueh AJ Hormonal genomics. *Endocr Rev.* 2002; 23(3):369-381.

57. Giordano TJ. Gene expression profiling of endocrine tumors using DNA microarrays: progress and promise. *Endocr Pathol.* 2003; 14(2):107-

58. Polychronakos C. Impact of the human genome project on pediatric endocrinology. *Horm Res.* 2003;59(2):55-65.
59. Qian X, Scheithauer BW, Kovacs K, Lloyd RV. DNA microarrays: recent developments and applications to the study of pituitary tissues. *Endocrine.* 2005; 28(1):49-56.
60. Stratakis CA. Applications of genomic medicine in endocrinology and post-genomic endocrine research. *Hormones (Athens).* 2005; 4(1):38-44
61. Leo CP, Hsu SU, Hsueh AJW/ Hormonal Genomics. *Endocrine Reviews*, 2002, 23(3):369–381
62. Hayashi S. Prediction of hormone sensitivity by DNA microarray. *Biomed Pharmacother.* 2004; 58(1):1-9.
63. Francois E, Wang DY, Fulthorpe R, Liss SN, Edwards EA. DNA microarrays for detecting endocrine-disrupting compounds. *Biotechnol Adv.* 2003; 22(1-2):17-26.
64. Naciff JM, Daston GP. Toxicogenomic approach to endocrine disruptors: identification of a transcript profile characteristic of chemicals with estrogenic activity. *Toxicol Pathol.* 2004; 32 Suppl 2:59-70.
65. Kralj M, Kraljevic S, Sedic M, Kurjak A, Pavelic K. Global approach to perinatal medicine: functional genomics and proteomics. *J Perinat Med.* 2005; 33(1):5-16.
66. Romero R, Tarca AL, Tromp G. Insights into the Physiology of Childbirth Using Transcriptomics. *PLoS Medicine*, 2006, 3, 6, 739 - 741
67. Romero R, Espinoza J, Gotsch F, Kusanovic J, Friel L, Erez O, Mazaki-Tovi S, Than N, Hassan S, Tromp G. The use of high-dimensional biology (genomics, transcriptomics, proteomics, and metabolomics) to understand the preterm parturition syndrome. *BJOG.* 2006; 113(s3):118-135
68. Cramer R. The potential of proteomics and peptidomics for allergy and asthma. *Allergy.* 2005; 60(10):1227-12237.
69. Harwanegh Ch, Hiller R. Protein microarrays for the diagnosis of allergic diseases: state-of-the-art and future development. *Allerg Immunol (Paris).* 2006; 38(7):232-236.
70. Rokutan K, Morita K. Gene expression profiling in peripheral blood leukocytes as a new approach for assessment of human stress response. *J Med Invest.* 2005; 52 (3-4):137-144.
71. Paulson L, Persson R, Karlsson G, Silberring J, Bierczynska-Krzszyk A, Ekman R, Westman-Brinkmalm A. Proteomics and peptidomics in neuroscience. Experience of capabilities and limitations in a neurochemical laboratory. *J Mass Spectrom.* 2005; 40(2):202-123.
72. Becker M, Schindler J, Nothwang HG. Neuroproteomics - the tasks lying ahead. *Electrophoresis.* 2006; 27(13):2819-2829
73. Sharp FR, Xu H, Lit L, Walker W, Apperson M, Gilbert DL, Glauser TA, Wong B, Hershey A, Liu DZ, Pinter J, Zhan X, Liu X, Ran R. The future of genomic profiling of neurological diseases using blood. *Arch Neurol.* 2006; 63(11):1529-1536
74. Papassotiropoulos A, Fountoulakis M, Dunckley T, Stephan DA, Reiman EM. Genetics, transcriptomics, and proteomics of Alzheimer's disease. *J Clin Psychiatry.* 2006; 67(4):652-670
75. Fountoulakis M, Kossida S. Proteomics-driven progress in neurodegeneration research. *Electrophoresis.* 2006; 27(8):1556-1573.
76. Fonteh AN, Harrington RJ, Huhmer AF, Biringier RG, Riggins JN, Harrington MG. Identification of disease markers in human cerebrospinal fluid using lipidomic and proteomic methods. *Dis Markers.* 2006;22(1-2):39-64.
77. Wei-Min Gao, Chadha MS, Berger RP et al. A Gel-Based Proteomic Comparison of Human Cerebrospinal Fluid between Inflicted and Non-Inflicted Pediatric Traumatic Brain Injury. *J Neurotrauma*, 2007, 24, 1, 43-53
78. Schrott GM, Tuebing F, Nigh EA, Kane CG, Sabatini ME, Kiebler M, Greenberg ME. A brain-specific microRNA regulates dendritic spine development. *Nature.* 2006; 439(7074):283-289.
79. Saba R, Booth SA. Target labelling for the detection and profiling of microRNAs expressed in CNS tissue using microarrays. *BMC Biotechnol.* 2006 Dec 12;6:47.
80. Ashraf SI, Kunes S. A trace of silence: memory and microRNA at the synapse. *Curr Opin Neurobiol.* 2006; 16(5):535-539.
81. Chen W, Jensen LR, Gecz J, Fryns JP, Moraine C, de Brouwer A, Chelly J, Moser B, Ropers HH, Kuss AW. Mutation screening of brain-expressed X-chromosomal miRNA genes in 464 patients with nonsyndromic X-linked mental retardation. *Eur J Hum Genet.* 2006 Dec 20;
82. Krishnan KR. Psychiatric disease in the genomic era: rational approach. *Mol Psychiatry.* 2005;10 (11): 978-984
83. Lakhan S E. Schizophrenia proteomics: biomarkers on the path to laboratory medicine? *Diagnostic Pathology*, 2006, 1:11-13
84. Mirnics K, Levitt P, Lewis DA. Critical appraisal of DNA microarrays in psychiatric genomics. *Biol Psychiatry.* 2006; 60(2):163-176.
85. La YJ, Wan CL, Zhu H, Yang YF, Chen YS, Pan YX, Feng GY, He L. Decreased levels of apolipoprotein A-I in plasma of schizophrenic patients. *J Neural Transm.* 2006 Dec 14;
86. Yang Y, Wan C, Li H et al. Altered Levels of Acute Phase Proteins in the Plasma of Patients with Schizophrenia. *Anal. Chem.* 2006., 78 (11), 3571 -3576
87. Jiang L, Lindpaintner K, Li HF, Gu NF, Langen H, He L, Fountoulakis M. Proteomic analysis of the cerebrospinal fluid of patients with schizophrenia. *Amino Acids.* 2003;25(1):49-57.

88. Huang X, Chen H, Miller WC, Mailman RB, Woodard JL, Chen PC, Xiang D, Murrow RW, Wang YZ, Poole C. Lower low-density lipoprotein cholesterol levels are associated with Parkinson's disease. *Mov Disord.* 2006 Dec 18;
89. Herbert M.R., Russo J.P., Yang S, Roohi J, Blaxill M, Kahler S.G, Cremer L., Hatchwell E. Autism and environmental genomics. *NeuroToxicology* 27 (2006) 671–684
90. Avissar S, Schreiber G., Toward molecular diagnostics of mood disorders in psychiatry. *Trends Mol Med.* 2002; 8(6): 294-300
91. Ogden CA, Rich ME, Schork NJ, Paulus MP, Geyer MA, Lohr JB, Kuczenski R, Niculescu AB. Candidate genes, pathways and mechanisms for bipolar (manic-depressive) and related disorders: an expanded convergent functional genomics approach. *Mol Psychiatry.* 2004; 9(11):1007-1029.
92. Alesci S, Rodak M, Ilias I, Zhou R, Manji HK. The genomics of mood disorders. *Prog Brain Res.* 2006; 158:129-139
93. Uys JD, Stein DJ, Daniels WM. Neuroproteomics: relevance to anxiety disorders. *Curr Psychiatry Rep.* 2006; 8(4):286-290.
94. Ke Xu, Ernst M, Goldman D. *Imaging Genomics Applied to Anxiety, Stress Response and Resiliency Neuroinformatics, 2007*
95. Ebstein RP, The molecular genetic architecture of human personality: beyond self-report questionnaires *Molecular Psychiatry* (2006), 1–19
96. Ding Y.C. et al. Evidence of positive selection acting at the human dopamine receptor D4 gene locus // *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2002. № 99 (1). P. 309–314.
97. Nakamura T., Muramatsu T., Ono Y., et al. Serotonin transporter gene regulatory region polymorphism and anxiety-related traits in the Japanese. *Am. J. Med. Genet.* 1997, 74, 544-545.
98. Westphal S.P., Your very own sequence. *New Scientist*, 12 October 2002. P12-13
99. Cirelli C. Cellular consequences of sleep deprivation in the brain. *Sleep Med Rev.* 2006; 10(5):307-321
100. Griffin JL, Nicholls AW. Metabolomics as a functional genomic tool for understanding lipid dysfunction in diabetes, obesity and related disorders. *Pharmacogenomics.* 2006;7(7):1095-1107
101. Schnackenberg LK, Beger RD. Monitoring the health to disease continuum with global metabolic profiling and systems biology. *Pharmacogenomics.* 2006; 7(7):1077-1086
102. Hollywood K, Brison DR, Goodacre R. Metabolomics: current technologies and future trends. *Proteomics.* 2006 ;6(17):4716-4723.
103. van der Greef J, Hankemeier T, McBurney RN. Metabolomics-based systems biology and personalized medicine: moving towards n = 1 clinical trials? *Pharmacogenomics.* 2006; 7(7):1087-94.
104. Schnackenberg LK, Beger RD. Monitoring the health to disease continuum with global metabolic profiling and systems biology. *Pharmacogenomics.* 2006; 7(7):1077-1086.
105. Duarte NC, Becker SB, Jamshidi N, Thiele I, Mo ML, Vo TD, Rohith Srivas R, Palsson B. Global reconstruction of the human metabolic network based on genomic and bibliomic data. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, Published online January 31, 2007
106. Brindle JT, Antti H, Holmes E, Tranter G, Nicholson JK, Bethell HW, Clarke S, Schofield PM, McKilligan E, Mosedale DE, Grainger DJ. Rapid and noninvasive diagnosis of the presence and severity of coronary heart disease using 1H-NMR-based metabolomics. *Nat Med.* 2002; 8(12):1439-1444.
107. Wishart DS. Metabolomics in monitoring kidney transplants *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2006 ;15(6):637-642.
108. Nicholson JK, Connelly J, Lindon JC, Holmes E. Metabonomics: a platform for studying drug toxicity and gene function *Nature Rev /Drug Discovery* 2002, 1, 153- 161
109. Holmes E, Tsang TM, Huang J –J, Leweke FM et al Metabolic Profiling of CSF: Evidence That Early Intervention May Impact on Disease Progression and Outcome in Schizophrenia *PLoS Medicine* 2006, 3, 8, 1420-1427
110. Han X, Gross RW. Shotgun lipidomics: electrospray ionization mass spectrometric analysis and quantitation of cellular lipidomes directly from crude extracts of biological samples. *Mass Spectrom Rev.* 2005; 24(3):367-412.
111. Serhan CN, Hong S, Lu Y. Lipid mediator informatics-lipidomics: novel pathways in mapping resolution. *AAPS J.* 2006; 8(2):E284-297
112. Watson AD. Thematic review series: systems biology approaches to metabolic and cardiovascular disorders. Lipidomics: a global approach to lipid analysis in biological systems. *J Lipid Res.* 2006; 47(10):2101-2111.
113. Adibhatla RM, Hatcher JF, Dempsey RJ. Lipids and lipidomics in brain injury and diseases. *AAPS J.* 2006; 8(2):E314-321.
114. Collins CD, Purohit S, Podolsky RH, Zhao HS, Schatz D, Eckenrode SE, Yang P, Hopkins D, Muir A, Hoffman M, McIndoe RA, Rewers M, She JX. The application of genomic and proteomic technologies in predictive, preventive and personalized medicine. *Vascul Pharmacol.* 2006; 45(5):258-267

**Журнальная версия статьи опубликована в журнале «Химия и Жизнь». 2007**