

Заявка на продолжение выполнения научно-исследовательской работы в рамках государственного задания (начатой в 2016-2017 гг.)

Тема научного исследования

Оценка биологического возраста человека: анализ комплекса современных биомаркеров старения

Актуальность исследования (10-15 строк)

На ранних стадиях развития возраст-ассоциированных заболеваний клинические проявления оказываются неспецифическими, а могут и вовсе отсутствовать. Чем раньше определен риск их развития, тем эффективнее профилактика, и тем вероятнее успех в предотвращении развития осложнений.

Необходимость создания диагностической панели для определения биологического возраста назрела уже не только в научной среде, но и в практике врачей-клиницистов всех специальностей. Паспортный возраст пациента не отражает в полной мере функциональное состояние организма, поэтому в современной медицине, ориентированной на персонафицированную помощь, нужен принципиально новый подход. Это необходимо и для своевременной профилактики, и для определения тактики лечения возраст-ассоциированных заболеваний, а также для контроля его эффективности. Потребность эта обусловлена во многом и увеличением продолжительности жизни населения.

Научная платформа

Профилактическая среда

Научные подразделения исполнители (с указанием руководителя исследования)

ОСП «Российский геронтологический научно-клинический центр» ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, руководитель исследования – О.Н. Ткачева, директор, д.м.н., профессор.

Ключевые слова¹

Маркеры старения, биологический возраст, персонафицированная медицина, диагностическая панель определения биологического возраста

Цель проекта

Изучить комплекс клинических, функциональных, биохимических, генетических, иммунологических маркеров старения для создания диагностической панели определения биологического возраста

Задачи проекта

1. Анализ литературных данных для составления перечня биомаркеров старения человека и методов их лабораторно-клинической оценки.
2. Скрининг и набор испытуемых согласно критериям включения и проведение одномоментного исследования с изучением современных биомаркеров старения (клинических, функциональных, биохимических, генетических, иммунологических).
3. Разносторонний анализ полученных данных: с использованием классических статистических методов, современных методов анализа больших баз информации (метод

¹ Ключевые слова (4-8 слов) выражают основное смысловое содержание научного проекта. Должны отражать научную дисциплину, тему, цель, объект исследования.

машинного обучения с применением опорных векторов с нелинейным ядром), а также методов статистической физики.

4. Разработка предварительной компьютерной модели биологического возраста и диагностической панели для определения биологического возраста

Достигнутые результаты проекта

Разработан протокол исследования, проведена его этическая экспертиза. Выполнены работы по набору материала/обследованию участников. В исследование включено 500 человек (250 мужчин, 250 женщин), с выполнением оценки факторов риска хронических неинфекционных заболеваний, комплексной гериатрической оценки, лабораторных исследований крови и мочи, оценки состояния артериального русла путем выполнения УЗДГ сонных артерий, измерения параметров артериальной жесткости и контурного анализа пульсовой волны. Отобраны первые 150 человек согласно плану. Формируется банк биоматериалов.

Ожидаемые результаты проекта²

В результате проведения данного исследования будут определены наиболее значимые маркеры старения человека, построена предварительная компьютерная модель и диагностическая панель для определения биологического возраста, которая может быть использована в практике для персонализированного подхода к профилактике и лечению хронических неинфекционных заболеваний у пациентов изучаемой возрастной группы. Также будет подготовлена база данных биомаркеров и апробированы современные методы анализа для проведения полномасштабного исследования, соответствующего уровню международных исследований по определению биологического возраста человека.

Назначение и предполагаемое использование (внедрение) результатов проекта

Данное пилотное исследование поможет провести оценку современных биомаркеров старения в еще не исследованной в этом отношении популяции – жителей г. Москвы, в результате чего будет создана диагностическая панель определения биологического возраста человека. Панель может применяться в практике врачей-клиницистов различных специальностей, терапевтов, гериатров, хирургов различных профилей, врачей узких специальностей, а также врачей профилактических отделений – для первичной и вторичной профилактики, выбора тактики лечения, контроля эффективности лечения у пациентов от 45 до 75 лет, проживающих в г. Москве.

Также будет подготовлен материал и апробированы методы анализа для проведения полномасштабного исследования, которое будет проведено на репрезентативной для России выборке, и результаты которого в перспективе могут быть использованы для Российской популяции.

Описание научного исследования³

Для проведения пилотного исследования планируется провести скрининг 1000 человек в возрасте от 45 до 75 лет, проживающих на территории Москвы не менее четырех лет. По результатам скрининга будут включены 300 человек, соответствующих критериям включения. Всем участникам будет проведен полный спектр основных исследований, перечисленных в разделе «Задачи». На основании полученных данных будет подготовлена и проанализирована база данных современных маркеров старения человека с использованием классических статистических методов, современных методов

² В том числе, ожидаемые изобретения, патенты, и т.д.

³ Описывается актуальность научного исследования по проекту и его адекватность современному состоянию мировой медицинской науки; полученные результаты, возможность получения новых, прорывных научных (научно-технических) результатов, соответствующих мировому уровню, и их востребованность в масштабах мировой медицинской науки; обоснование необходимости продолжения научного исследования.

машинного обучения и компьютерного моделирования, а также методов статистической физики.

В результате будут определены наиболее значимые маркеры старения человека для жителей исследуемого региона, построена предварительная модель определения биологического возраста человека и определена диагностическая панель.

Нижняя граница возраста 45 лет обусловлена тем, что в этом возрасте появляются первые клинические проявления старения. Выбор максимального возраста в 75 лет обусловлен тем, что люди более старшего возраста без тяжелых заболеваний, наличие которых является критерием исключения из анализа, могут быть долгожителями, процессы старения у которых происходят особенным путем, и механизмы старения могут отличаться. Изучение темпов старения долгожителей не входит в задачи пилотного проекта. Данное исследование позволит в будущем не только построить диагностическую панель для определения биологического возраста, но и использовать ее в клинической практике. В пилотном исследовании планируется уделить особое внимание не только биохимическим и генетическим маркерам, но и изучить функциональное состояние организма, когнитивный статус каждого из участников, то есть самые доступные методы – это необходимо в том числе для того, чтобы верно проанализировать функциональную составляющую биологического возраста. Кроме того, будет проведен анализ состава микробиома кишечника, геном которого считается нашим «вторым геномом», а также метаболома крови – расширенного спектра метаболитов. Для последующего проведения генетических, эпигенетических и современных метаболомных и других анализов биологический материал будет сохранен в биобанке. В полномасштабное исследование будут включены лица и более молодого и старшего возраста, что позволит и своевременно выявлять т.н. «преждевременное» старение, оценивать риски развития возраст-ассоциированных заболеваний, а, значит, продлить активный период жизни жителей региона. Данное исследование является пилотным проектом, в ходе которого будут получены данные, позволяющие определить объем репрезентативной выборки, а также отработаны методы исследований и анализов полученных данных. Промежуточные результаты исследования могут быть использованы в клинической практике, а также позволят спланировать более масштабное исследование, соответствующее уровню представленных ранее международных исследований

Описание научных подходов и методов, используемых для решения поставленных задач

1. Скрининг для отбора участников (европеоидной расы, жители Москвы и Московской области) который позволит исключить пациентов с критериями исключения, представленными ниже:

Клинические проявления атеросклероза (ишемическая болезнь сердца, включая инфаркт миокарда; церебро-vasкулярная болезнь, включая инсульт; перемежающаяся хромота и др.).

Операции ревазуляризации на сосудах сердца и периферических артериях.

Семейная гиперхолестеринемия. Морбидное ожирение (ИМТ > 40 кг/м²).

АГ 2 и 3 степени.

Вторичные формы АГ.

Клинически значимая патология клапанов сердца.

Клинически значимые нарушения ритма сердца и проводимости.

Кардиомиопатии, наличие выраженной гипертрофии миокарда ЛЖ (индекс массы миокарда ЛЖ >130 г/м²).

Хроническая сердечная недостаточность со снижением систолической функции ЛЖ (ФВ < 50%).

Дыхательная недостаточность.

Печеночная недостаточность (повышение уровня печеночных трансаминаз выше 3N, билирубина выше 2N).

Почечная недостаточность (при снижении СКФ <60 мл/мин/1,73 м²).

Онкологические заболевания, в том числе в анамнезе.

Психические заболевания, которые ограничивают адекватное сотрудничество.

Диффузные болезни соединительной ткани.

Эндокринные заболевания

Инфекционные заболевания.

Заболевания желудочно-кишечного тракта (гиперфагия, гепатит В, гепатит С, малабсорбция, язвенный колит, болезнь Крона, язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки в стадии обострения).

Диагностированная лактазная непереносимость.

Диагностированная аллергическая реакция любого типа на пищевые продукты.

Беременность, период лактации.

Регулярный прием любых препаратов.

Отказ от участия в исследовании.

Сам скрининг будет включать:

Беседа с пациентом, сбор анамнеза, изучение медицинской документации, проведение комплексной гериатрической оценки, оценка общего анализа крови и мочи, биохимического анализа крови, проведение ЭХО-КГ, тредмил-теста, ЭКГ.

Физикальное обследование: измерение АД (сидя, после 5-минутного отдыха, на правой руке трехкратно с вычислением среднего из последних двух измерений), измерение массы тела, роста, подсчет ИМТ (кг/м²), определение окружности талии и бедер.

Тест на беременность для женщин детородного возраста.

2. Основные методы обследования

По результатам скрининга в исследование будут включены пациенты, соответствующие критериям включения, подписавшие информированное согласие.

Инструментальные методы обследования:

Дуплексное сканирование сонных артерий с определением толщины комплекса интима-медиа, наличия и структуры атеросклеротических бляшек.

Аппланационная тонометрия с определением скорости распространения пульсовой волны, центрального АД, индекса аугментации.

Аутофлюоресценция сетчатки с определением липофусцина – «пигмента старости».

Двухэнергетическая рентгеновская абсорбциометрия (DEXA).

Электромиография для оценки состояния мышечных волокон.

Биоимпедансометрия.

Лабораторные методы исследования:

Оценка липидного спектра: определение содержания ОХС, ХС ЛПНП, ХС ЛПВП, ТГ (ферментативным фотометрическим методом), аполипопротеинов – апоА1, апоВ.

Оценка состояния иммунной системы и выраженности хронического воспаления: определение фибриногена, вч СРБ, интерлейкинов 6,8,10, фактора некроза опухоли α .

Оценка метаболизма глюкозы: проведение орального теста толерантности к глюкозе с 75 г глюкозы с определением уровня глюкозы крови (глюкозооксидазным методом) пациентам с факторами риска СД 2 типа, определение иммунореактивного инсулина, инсулиноподобного фактора роста (методом хемилюминесценции), определение уровня гликированного гемоглобина (иммуотурбодиметрическим методом).

Оценка маркера эндотелиальной дисфункции: оценка уровня гомоцистеина.

Оценка функционального состояния почек: определение в сыворотке крови уровня креатинина, мочевины, мочевой кислоты (ферментативным фотометрическим методом), расчет скорости клубочковой фильтрации по формуле MDRD.

Оценка состояния РААС: определение уровней ренина, альдостерона.

Оценка костного метаболизма: остеокальцин (костеобразование) и определения N-терминального пропептидапроколлагена III (P1INP), C-концевого телопептида коллагена I типа (показателей костной резорбции), определение уровня витамина Д3, общего Са, паратгормона, щелочной фосфатазы, фосфора.

Оценка уровней нейромедиаторов: дофамина, серотонина, адреналина, норадреналина и кортизола в плазме.

Измерение уровня гормонов: лептина, дегидроэпиандростерон-сульфата (DHEA-S), адренкортикотропного гормона, тироксина, лютеинизирующего гормона, фолликул-стимулирующего гормона, эстрадиола, тестостерона, пролактина, ГСПГ.

Определение уровня инсулиноподобного фактора роста I, гормона роста.

Оценка биологии теломер: определение длины теломер в лейкоцитах на геномной ДНК методом полимеразной цепной реакции в реальном времени и теломеразной активности в выделенной моноцитарной фракции клеток крови на основании теломеразной полимеразной реакции.

Оценка количества прогерина.

Оценка состава микробиоты кишечника: 16sPHK секвенирование метагенома.

Анализ качественного и количественного состава метаболома (спектроскопия ядерного магнитного резонанса).

Оценка метилирования CpG-островков ITGA2B, ASPA и PDE4C генов

Всем участникам исследования будет проведена оценка выраженности хронического стресса: психологическое тестирование, исследование вегетативной нервной системы (анкетирование, вариабельность сердечного ритма, а также упомянутые выше лабораторные анализы), а также проведен анализ когнитивного статуса, выполнена комплексная гериатрическая оценка.

При проведении анализа полученных данных клинико-лабораторных обследований будут применены методы математического и компьютерного моделирования, такие как регрессионные статистические модели (обобщенная линейная регрессия, нелинейные регрессии) и машинного обучения (randomforest и multilayerperceptron), с целью выбора наиболее подходящей модели для определения биологического возраста. Особенностью настоящего исследования является большое количество признаков при малом количестве обучающих примеров. В таких задачах успешно применяются методы, способные автоматически (подобно LASSO-регуляризации) выбирать релевантные признаки. К таким методам можно отнести, например, Nearest Shrunkn Centroids и Random Forest. Биомаркеры, показавшие наибольшую значимость, и наиболее подходящая модель для их интерпретации в дальнейшем будут использованы для изучения скорости старения пациента. Обработка больших баз данных на небольшой выборке испытуемых будет также проведена и с использованием методов статистической физики.

Выполнение работ научного исследования*

Год	Содержание выполненных работ (кратко)	Результаты
2016	Обзор литературы, создание протокола, подготовка оборудования. Начало скрининга и набора пациентов	Проведен анализ отечественной и зарубежной литературы, опубликованы обзоры литературы, подготовлен протокол исследования, протокол утвержден этическим комитетом, проведен скрининг 500 человек (в возрасте от 45 до 75 лет), отобраны первые 150 участников согласно плану, формируется банк биоматериалов
2017	Продолжение набора и первые результаты: составление базы данных современных биомаркеров старения, проведения анализа на основе классических методов статистики	Отобранные в 2016 году участники проходят полный спектр планируемых исследований. Проводится скрининг и включение в исследование пациентов в соответствии с планом. Составляется база данных, включающая результаты исследований для всех участников. Подготовка базы данных для проведения анализа с применением классических методов статистики, по результатам чего будет опубликована статья по результатам исследования.

План работ научного исследования

Год	Содержание выполняемых работ (кратко)	Планируемые результаты
2018	Завершение исследования, создание диагностической панели	Проведение современных методов анализа больших баз данных, с применением машинного обучения, нейронных сетей, а также с применением методов статистической физики. Разработка предварительной компьютерной модели определения биологического возраста человека. Написание трех статей по результатам исследований, а также финального отчета.