ВОЗМОЖНОСТИ И ПЕРСПЕКТИВЫ ИССЛЕДОВАНИЯ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО ПРОФИЛЯ МЕТОДОМ ГХ-МС

В РЕШЕНИИ ПРОБЛЕМЫ СЕПСИСА

Белобородова Н.В1., Оленин А.Ю1,2., Паутова А.К.1,2

1НИИ общей реаниматологии им.В.А.Неговского, Москва

2Химический факультет МГУ им. М. В. Ломоносова, Москва

*e-mail:* [*nvbeloborodova@yandex.ru*](mailto:nvbeloborodova@yandex.ru)

Несмотря на достижения современной медицины, сегодня сепсис становится глобальной проблемой для человечества. Заболеваемость прогрессивно растет, особенно в экономически развитых странах, где, по самым последним данным, число смертельных исходов от сепсиса превысило количество смертей от инфаркта миокарда, рака, СПИДа и др. В развивающихся странах в структуре летальности доля сепсиса достигает 60-80%, в том числе ежегодно поражаются более 6 миллионов новорожденных детей. При этом сепсис остается самым загадочным состоянием, разрушительные механизмы которого, бесспорно, связаны с микробным фактором, но природа этого фактора остается неизвестной.

Целью работы является обратить внимание и сконцентрировать усилия специалистов в области ГХ-МС анализа на актуальности проблемы и целесообразности совершенствования методики оценки метаболического профиля биологических материалов человека.

Исследования ведутся на ГХ-МС оборудовании фирмы Thermo Scientific, включающем газовый хроматограф Trace GC 1310 и масс-спектральный детектор ISQ LТ. ГХ-МС анализ применен для изучения метаболического профиля более 300 биологических образцов.

При параллельном изучении образцов крови больных сепсисом, здоровых людей (контроль), больных с другими заболеваниями и повреждениями (группы сравнения) осуществлена идентификация более 80 низкомолекулярных соединений. Установлено, что максимальные различия между группами определяются среди метаболитов, имеющих ароматическое строение, которые могут быть отнесены к продуктам биодеградации ароматических аминокислот тирозина и фенилаланина. Метаболиты, ассоциированные с сепсисом (пара-гидроксифенилмолочная кислота, пара-гидроксифенилуксусная кислота, фенилмолочная кислота), присутствуют в крови в сравнительно высоких концентрациях, измеряемых в мкмоль/л. Процесс пробоподготовки включает жидкость-жидкостную экстракцию, силилирование, количественный расчет с использованием метода внутреннего стандарта для наиболее значимых соединений.

Точность измерения и высокая воспроизводимость результатов при ГХ-МС анализе позволила выполнить серию исследований в динамике. Доказано, что диагностически-значимые ароматические метаболиты объективно отражают тяжесть состояния больных с сепсисом и эффективность проводимой терапии. Эти метаболиты имеют прогностическую значимость уже в день поступления больного в реанимационное отделение, не уступая общепринятым многопараметрическим шкалам и даже опережая по чувствительности ряд биомаркеров (например, лактат).

Кроме описанных ранее ароматических метаболитов ГХ-МС анализ позволил выявить в крови ряда больных с септическим шоком несколько «патологических» метаболитов, характерных только для этого состояния, например гомованилиновую и 3,4-дигидроксифенилуксусную кислоты. Сопоставление относительных сигналов ароматических метаболитов и расчет их долевого вклада в парных образцах кровь-кишечник от одного и того же пациента дает объективную картину участия «метаболического реактора» микробиоты в патологическом процессе. Относительные сигналы получены путем нормирования площади пика соответствующего ароматического метаболита на масс-хроматограмме, построенной по характеристичным m/z значениям, на площадь пика соответствующего стандарта.

Вслед за выявлением клинически-значимых метаболитов инициируются новые исследования по изучению их биологической активности. Так, результаты исследований с применением ГХ-МС анализа проливают свет на нарушения метаболических путей ароматических аминокислот при сепсисе, например, связанных с синтезом жизненно-важных гормонов стресса (катехоламинов). Показано, что необратимость этих нарушений – важнейшая составляющая в механизмах танатогенеза сепсиса.

Метод ГХ-МС – реальная возможность изучать механизмы сепсиса на молекулярном уровне. Результаты этих исследований формируют принципиально новый взгляд на проблему сепсиса, способствуют пересмотру существующих представлений о роли микроорганизмов как корпускулярных или антигенных структур, выдвигая на первый план функциональную составляющую «микробной нагрузки» – низкомолекулярные экзометаболиты бактерий. Дальнейший научный поиск неизбежно приведет к выявлению новых мишеней для лечебного воздействия и послужит перспективой для улучшения исходов лечения сепсиса.

Работа выполняется при поддержке Гранта РНФ № 15-15-00110.