

МЕТАБОЛОМИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ: ВЗГЛЯДЫ КЛИНИЦИСТА

Метаболомика всесторонне описывает молекулярный фенотип биологического объекта с предельно возможной степенью детализации и является неотъемлемой частью постгеномных исследований. Посредством же анализа метаболитов, задействованных в патологических биохимических процессах, метаболомный анализ может использоваться в клинической практике для эффективной диагностики и расчета рисков онкологических заболеваний.

Ключевые слова: метаболомика, метаболомические исследования, онкология.

Введение.

В настоящее время согласно базе данных о метаболоме человека, все известные метаболиты, присутствующие в человеческом организме составляют более 17 тыс. Эта цифра не окончательная, проводимые исследования в данном направлении открывают нам все новые и новые ключевые метаболиты характерные для разных заболеваний, и в первую метаболиты онкологических заболеваний. Аналитические подходы, применяемые в этой области по своей специфичности и чувствительности, не уступают генетическим исследованиям.

Метаболомические исследования (МИ) - это наиболее точный подход, который дает возможность быстрого мониторинга состава низкомолекулярных соединений, без необходимости более глубокого анализа [1]. Все без исключения МИ делятся на две группы.

1. Первая группа это целевой анализ
2. Вторая группа это метаболомическое профилирование

Данное разделение происходит согласно цели проведения исследования и характера получаемой информации. Целевой анализ направлен на изучение конкретных или ключевых известных метаболитов и позволяет наиболее детально изучить выбранные классы соединений [2]. Метаболомическое профилирование проводится в случаях, когда важно получить достоверную информацию о количестве всех возможных метаболитов и какие именно метаболиты, связаны с исследуемыми патофизиологическими процессами в организме. На практике наиболее часто используется профилирование метаболитов. Так как это позволяет проводить качественный и количественный анализ данной группы метаболитов. Независимо от выбранного аналитического подхода, существуют несколько общих шагов в МИ, включая сбор и подготовку проб, сбор и обработку данных, биостатистические анализы и интерпретацию данных. Метаболомическое профилирование является начальной стадией для проведения дальнейших целевых исследований [3].

Материалы и методы.

Также очень важным в МИ является сбор образцов, хранение и подготовка к инструментальному анализу. Кровь (и его производные, такие как сыворотка) и моча являются наиболее часто используемыми образцами для исследований биомаркеров, из-за легкой доступности и высоким содержанием метаболитов. Также для МИ могут использоваться слюна, бронхиальное содержимое, секрет поджелудочной железы и простаты, фекалии, и другие типы физиологических жидкостей или тканей [4].

Согласно стандартам МИ объем образцов, необходимый для большинства анализов находится в пределах от 0,1 до 0,5 мл. Согласно литературным данным образцы тканей также широко изучены при МИ с использованием масс-спектрометрии (МС) [5]. Образцы тканей требуют более сложных процедур подготовки перед анализом, так как, имеют в большей степени неоднородность [6].

Источники клинического материала для молекулярных исследований согласно стандартам МИ должны быть заморожены и храниться при температуре ниже -80°C. Все образцы тканей фиксируются в формалине погруженных в парафин.

Метаболиты, присутствующие в биологических образцах отличаются по молекулярной массе, термостабильности и полярности. Поэтому, чтобы изолировать все одновременно, используется метод разделения, выбор метода подготовки проб зависит от характера исследуемого соединения, класса и типа аналитического метода [7]. Метод разделения или масс-спектрометрия (МС) является высокочувствительным методом, который позволяет выявлять большое количество метаболитов даже при очень низких концентрациях [8]. МС чаще всего используют в сочетании с аналитическими методами, такими как, жидкостная или газовая хроматография (ЖХ / ГХ-МС) и ядерного магнитного резонанса (ЯМР) [9]. Сочетание различных аналитических методов, в том числе МС, ЯМР и методов визуализации, представляют собой наиболее эффективный подход к МИ. Последним этапом в МИ является анализ и интерпретация данных. Собранные посредством МС или ЯМР спектральные данные требуют дальнейшей многоступенчатой обработки и нормализации для дальнейшей идентификации компонентов и их количественного анализа [10]. Такие данные идентифицируют путем размещения или поиска метаболитов в базе данных, таких как Метаболом Database (HMDB), Метлин, базе данных Golm и MassBank.

Далее, многомерная статистика, требуется для распознавания образов и идентификации многокомпонентных выбросов, характерных для различных заболеваний, в том числе и раковых. Метод PCA или многофакторный анализ, основан на методах проекции. PCA моделирование используется для оценки статистической дифференциации между группами и для биохимической интерпретации. PCA (или метод главных компонент) извлекает и отображает систематические изменения во всех образцах крови, а также показывает основные тенденции и выбросы. Эти выбросы отображают взвешенную разность между наблюдаемыми группами. Следовательно, мы можем определить эти выбросы как уникальные для исследуемых групп.

Методы PLS. При оценке данных PCA в графиках рассеивания могут появляться сигналы выше спектрального шума. Например, контрольные образцы могут быть слишком разнородны, из-за изменений, вызванных заболеваниями,

полом, возрастом, питанием, образом жизни, генами и неизвестными факторами. Для решения такой неоднородности используется PLS – метод (или метод наименьших частичных квадратов).

Заключение

Таким образом, метаболомические исследования в последнее время все больше и больше используются в клинической медицине для поиска биомаркеров злокачественных заболеваний, а также для понимания патогенетических механизмов. МИ из всех постгеномных наук в настоящее время являются самыми эффективными, так как дают обширную информацию при низких затратах. Они позволяют учесть влияние эндогенных и экзогенных факторов, оказывающих влияние на злокачественный процесс и на организм в целом. На основании этих данных можно сделать необходимое заключение, как о механизме заболевания, так и о диагностических маркерах. В дальнейшем комбинируя результаты МИ с данными геномных, транскриптомных и протеомных исследований можно получить еще более полную и достоверную информацию. Анализ метаболомного профиля крови, позволяет одновременно получать информацию о сотнях и тысячах метаболитов, и уже сейчас показывает значимые результаты в решении большого количества научных и клинических задач. Поэтому на фоне новых аналитических методов, метаболомика является наиболее важным диагностическим направлением для злокачественных заболеваний в группе ОМИКС – технологий.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1 (МЕТАБОЛОМНОЕ ПРОФИЛИРОВАНИЕ КРОВИ // О.П. Трифонова, П.Г. Лохов, А.И. Арчаков // Биомедицинская химия, 2014 том 60, вып. 3, с. 282.)
- 2 Howe F. A., Barton S. J., Cudlip S. A., et al. Metabolic profiles of human brain tumors using quantitative in vivo ¹H magnetic resonance spectroscopy. *Magnetic Resonance in Medicine*. 2003;49(2):223–232
- 3 Beger R. D. A review of applications of metabolomics in cancer. *Metabolites*. 2013; 3(3):552–574
- 4 Kind T., Tolstikov V., Fiehn O., Weiss R. H. A comprehensive urinary metabolomic approach for identifying kidney cancer. *Analytical Biochemistry*. 2007; 363(2):185–195
- 5 Wu H., Xue R., Tang Z., et al. Metabolomic investigation of gastric cancer tissue using gas chromatography/mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2010; 396(4):1385–1395
- 6 Wu H., Southam A. D., Hines A., Viant M. R. High-throughput tissue extraction protocol for NMR- and MS-based metabolomics. *Analytical Biochemistry*. 2008; 372(2):204–212
- 7 Dettmer K., Aronov P. A., Hammock B. D. Mass spectrometry-based metabolomics. *Mass Spectrometry Reviews*. 2007;26(1):51–78
- 8 Villas-Bôas S. G., Mas S., Åkesson M., Smedsgaard J., Nielsen J. Mass spectrometry in metabolome analysis. *Mass Spectrometry Reviews*. 2005; 24(5):613–646
- 9 Wu H., Southam A. D., Hines A., Viant M. R. High-throughput tissue extraction protocol for NMR- and MS-based metabolomics. *Analytical Biochemistry*. 2008;372(2):204–212
- 10 Katajamaa M., Orešič M. Data processing for mass spectrometry-based metabolomics. *Journal of Chromatography A*. 2007; 1158(1-2):318–328

А.Ш. ТЛЕГЕНОВ, Ж. АБЫЛАЙҰЛЫ, Г.А. БӨГЕНБАЙ

С.Д. Асфендияров атындағы Ішкі аурулар клиникасы, Алматы қаласы

МЕТАБОЛОМДЫҚ ЗЕРТТЕУЛЕР: КЛИНИКА МАМАНЫНЫҢ ТҰЖЫРЫМДАРЫ

Түйін: Метаболомика биологиялық объектінің молекулалық фенотипін мүмкіндігінше барынша детальдау арқылы жан-жақты сипаттайды және постгеномды зерттеулердің ажырамас бөлігі болып табылады. Патологиялық биохимиялық процестерге қатыстырылған метаболиттерді талдау арқылы метаболомдық талдауды онкологиялық ауруларға тиімді диагноз қою және олардың тәуекелдерін есептеу үшін клиникалық практикада пайдалануға болады.

Түйінді сөздер: метаболомика, метаболомдық зерттеулер, онкология.

A.SH. TLEGENOV, ZH. ABYLAYULY, G.A. BOGENBAY

Internal diseases Clinic of KaZNMU, Almaty

METABOLOMIC RESEARCHES: CLINICIAN'S VIEWS

Resume: Metabolomics comprehensively describes a molecular phenotype of a biological object with extremely possible extent of specification, and it is an integral part of post-genomic researches. By means of the analysis of metabolites involved in pathological biochemical processes, the metabolomic analysis can be used in clinical practice for effective diagnostics and calculation of risks of oncological diseases.

Keywords: metabolomics, metabolomic researches, oncology.