

МЕТАБОЛОМИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ В ПУЛЬМОНОЛОГИИ

Р. Р. ФУРИНА

METABOLOMIC STUDIES IN PULMONOLOGY

R. R. FURINA

ГБУ РМЭ «Республиканская клиническая больница», г. Йошкар-Ола

В обзоре отражены результаты применения метаболомических исследований в пульмонологии. Ключевая идея метаболомики заключается в обнаружении специфических биомаркеров в биологическом образце для диагностики заболеваний бронхов и легких. Приведены основные методы разделения и идентификации летучих органических веществ как биомаркеров (газовая хроматография, масс-спектрометрия, спектроскопия ядерного магнитного резонанса), применяемые в метаболомике. Также освещен метод твердофазной микроэкстракции, применяемой в качестве предварительной подготовки образца. Представлены результаты лабораторных исследований по поиску биомаркеров рака легких, острого респираторного дистресс-синдрома, хронической обструктивной болезни легких, муковисцероза, хронических инфекций, туберкулеза легких. Кроме того, уделено внимание применению возможностей метаболомики в экспериментальной медицине, в том числе изучению бронхиальной астмы. Информация интересна как для теоретиков, так и для практикующих врачей.

Ключевые слова: метаболомика, летучие органические вещества, метаболомический профиль, биомаркеры, газовая хроматография, масс-спектрометрия.

The review shows the results of metabolomic studies in pulmonology. The key idea of metabolomics is to detect specific biomarkers in a biological sample for the diagnosis of diseases of the bronchi and lung. Main methods for the separation and identification of volatile organic substances as biomarkers (gas chromatography, mass spectrometry, and nuclear magnetic resonance spectrometry) used in metabolomics are given. A solid-phase microextraction method used to pre-prepare a sample is also covered. The results of laboratory tests for biomarkers for lung cancer, acute respiratory distress syndrome, chronic obstructive pulmonary disease, cystic fibrosis, chronic infections, and pulmonary tuberculosis are presented. In addition, emphasis is placed on the possibilities of metabolomics used in experimental medicine, including to the study of asthma. The information is of interest to both theorists and practitioners.

Key words: metabolomics, volatile organic substances, metabolomic profile, biomarkers, gas chromatography, mass spectrometry.

Болезни органов дыхания отнесены Всемирной организацией здравоохранения к числу приоритетных наряду с болезнями системы кровообращения и онкологическими заболеваниями. Во всем мире патология бронхолегочной системы до сих пор остается серьезной проблемой здравоохранения. Она имеет большое социальное значение, обусловленное временной или стойкой утратой трудоспособности населения и, как следствие, снижением качества жизни. Существующие современные разнообразные методы исследования недостаточны для полноты отображения состояния дыхательной системы, в особенности это касается скрининга как максимально раннего выявления болезни. Необходимость в доступном, простом, дешевом методе диагностики, позволяющем выявлять патологию дыхательной системы на ранних сроках, остается очевидной и на сегодняшний день. Таким методом может стать определение особенностей метаболомического профиля в биологических образцах при различных заболеваниях бронхолегочной системы.

Идею применения метаболомического профиля для диагностики заболеваний предложили в 1971 г. Linus Pauling et al. Они изучали состав выдыхаемого

воздуха пациентов, страдающих раком легкого, методом газовой хроматографии и обнаружили более 200 различных летучих органических соединений (ЛОС) [27]. С этого момента начала формироваться метаболомика – наука, изучающая конечные и промежуточные продукты обмена веществ в биологической системе, будь то клетка, орган или организм в целом [15].

Метаболомика – это научное изучение химических процессов, в которые вовлечены различные метаболиты, новое направление в генетике и молекулярной биологии, которое может помочь в диагностике и прогнозе различной патологии, в том числе болезней легких [36]. Исследуемый метаболом, или метаболомический профиль, представляет собой совокупность всех низкомолекулярных метаболитов (< 1500 Да) биологического образца, является уникальным химическим набором, специфичным для процессов, протекающих в клетках организмов [8].

В январе 2007 г. ученые университета Альберта и университета Калгари провели глубокое исследование метаболомического профиля человека. В результате они каталогизировали около 2 500 мета-

болитов, 1 200 лекарств и 3 500 компонентов пищи, которые могут быть обнаружены в человеческом организме [50].

В настоящее время описаны метаболиты биологических жидкостей человека и животных – крови или плазмы, мочи, мокроты пациентов, в которых возможно наличие одного или нескольких метаболитов, характерных для метаболических процессов как в норме, так и при патологии. Последние метаболомические исследования показали, что в биологическом образце можно выявить так называемые биомаркеры как специфические признаки болезни, которые имеют возможность помочь в диагностике и прогнозе заболеваний легких [6, 10, 38, 53].

Исследования метаболического профиля биологического образца выполняют с использованием газовой (ГХ) или жидкостной хроматографии (ЖХ) в сочетании с масс-спектрометрическим (МС) детектированием или спектроскопией ядерного магнитного резонанса (ЯМР-спектроскопия). Газовая хроматография – универсальный метод разделения смеси веществ, испаряющихся без распада [1, 36]. Такие биологические жидкости, как мокрота или моча – потенциально богатый источник летучих органических веществ, которые могут использоваться в качестве специфических биомаркеров многих заболеваний. Забор мокроты или мочи – простой, неинвазивный способ получения образцов для анализа в отличие от забора, например, крови или спинномозговой жидкости [11, 16, 36].

Перед исследованием необходима подготовка образца для максимально полного извлечения летучих метаболитов. В метаболомических исследованиях эффективным способом выделения ЛОС является твердофазная микроэкстракция (ТФМЭ). Суть метода состоит в сорбции компонентов газовой фазы образца на нить с полимерным покрытием и ее последующей термической десорбцией в предварительно нагретом инжекторе газового хроматографа. Эта методика имеет ряд преимуществ перед традиционными методами извлечения растворителем: ТФМЭ быстра, удобна, высокочувствительна, свободна от растворителя [36].

Для детектирования полученных данных в основном используют две технологии: масс-спектрометрию и спектроскопию ядерного магнитного резонанса, обе высокоспецифичны и имеют свои преимущества и недостатки при проведении метаболомических исследований [26, 33]. Основным преимуществом МС является чувствительность, современный уровень масс-спектрометров может обнаружить аналиты в фемтомолярном (10⁻¹⁵) и аттомолярном (10⁻¹⁸) диапазоне. Связь МС с жидкостной хроматографией или газовой хроматографией позволяет измерять сотни отдельных метаболитов в пределах одного образца и вместе с постоянно пополняемыми базами данных делает идентификацию этих метаболитов более рутинной. Одной из основных слабых сторон МС является

определение концентрации найденного метаболита. Также к недостаткам можно отнести зависимость интенсивности МС-сигнала любого соединения от типа используемой подготовки образца и его молекулярного окружения [45].

Основные слабые стороны МС являются основными сильными сторонами ЯМР-спектроскопии. Величина пика конкретного вещества в ЯМР-спектре напрямую связана с концентрацией ядер химического соединения, что делает его количественное определение в смеси достаточно точным. Другой характеристикой ЯМР-спектроскопии является ее универсальность для анализа метаболитов в разных жидкостях (сыворотке крови, мокроте, моче и т. д.), в неповрежденных тканях (например, опухоли) или в естественных условиях (*in vivo*) [45].

Метаболомика в настоящее время применяется в различных областях медицины, в том числе скрининге патологии новорожденных, токсикологии, фармакологии, на метаболомику возлагаются большие надежды в поиске биомаркеров онкологических заболеваний. Проводят множество исследований по поиску специфических ЛОС в качестве биомаркеров рака легких в выдыхаемом воздухе больных, в испарениях раковых клеток *in vitro*, в образцах крови пациентов [12].

Phillips et al. изучали состав выдыхаемого воздуха больных раком легких по метаболомическому профилю и обнаружили, что в отличие от когорты здоровых метаболомический состав образцов больных содержит алканы, производные алканов и производные бензола [28, 30]. Smith D. et al. сделали интересное открытие, обнаружив уксусную кислоту в выдыхаемом воздухе больных раком в сравнении с образцами здоровых людей [37]. В последнее время появились данные литературы о наличии в выдыхаемом воздухе больных раком легкого формальдегида [49].

Эмпирические данные подтвердили ценность информации об этих соединениях в качестве основы неинвазивного, простого в использовании и недорогого диагностического метода. Возможно, мониторинг ЛОС в выдыхаемом воздухе пациентов со временем дополнит современные методы медицинской диагностики или станет их альтернативой. Этому будет способствовать быстрое развитие метода сбора выдыхаемого воздуха и его газового анализа. Новый подход создает лучшие условия для неинвазивной дифференциальной диагностики *in vivo* и контроля метастатического потенциала раковых клеток *in vitro* у больных раком легкого, при этом будет возможна коррекция индивидуального лечения в режиме реального времени [12].

Общезвестно, что гистология является золотым стандартом диагностики онкологических заболеваний. Развитие молекулярных аналитических методов, таких как иммуногистохимия и флуоресцентная гибридизация *in situ* (FISH), расширили возможности микроскопических исследований,

были открыты биомаркеры. Сейчас эти методы имеют широкое практическое использование [14, 41]. Исследование метаболического профиля гистологического материала с определением компонентов с низкой молекулярной массой (< 1500 Да) можно считать дополнительным методом. Этот метод дает возможность идентификации летучих метаболитов параллельно гистологическому анализу образца биоптата [6, 10, 38, 53]. Последние исследования показали, что анализ основных метаболических характеристик опухолевой ткани позволяет обнаружить не только раннюю стадию опухолевого роста, но и определить степень злокачественности новообразования [4].

Martano G. et al. в своей работе использовали метод ГХ-МС с предшествующей твердофазной экстракцией для определения в клеточной культуре летучих продуктов расщепления β -каротина, как проканцерогенных веществ [19]. Известно, что β -каротин, предшественник витамина А, уменьшает риск развития сердечно-сосудистых болезней, катаракты и дегенерации макулы. Однако было замечено, что при ежедневном приеме 20-30 мг β -каротина пациентами с большим стажем курения или длительным контактом с асбестом на 16-28% увеличивается заболеваемость раком легкого, что связывают с прооксидантными и проканцерогенными свойствами продуктов распада β -каротина, которые образуются в большом количестве в условиях высокого парциального давления кислорода, окислительного стресса и высокого уровня реактивных форм кислорода (РФК) в ткани легкого курильщиков [2, 22, 24].

Очевидно, продукты распада β -каротина, образующиеся эксцентральным (неферментативным) расщеплением в богатой радикалами среде бронхолегочной системы курильщиков, провоцируют развитие онкологических заболеваний разнообразными путями. В воспаленной ткани легкого отмечают возрастание экспрессии белков-маркеров, характерное для прогрессирования опухолевого процесса [23], низкорегулируемую супрессию опухоли и локальную пролиферацию альвеолярных макрофагов или нейтрофилов [18]. Активные нейтрофилы продуцируют H_2O_2 , $O_2^{\cdot-}$ и миелопероксидазу (МПО) – фермент, который активизирует табачные проканцерогенные вещества [7] и участвует в образовании белковых, полисахаридных и ДНК-радикалов, приводящих к фрагментации белка, окислению клеточной мембраны и разрыву нити ДНК [13]. Кроме того, МПО катализирует формирование $HOCl$ из H_2O_2 и Cl^- [17], которые индуцируют распад β -каротина до короткоцепочечных продуктов распада. Эти продукты распада могут влиять на синтез $O_2^{\cdot-}$ нейтрофилами и активируют их апоптоз, таким образом уменьшая клиренс раковых клеток [34, 35]. Продукты распада β -каротина также индуцируют цитохром Р450, который активизирует проканцерогенные компоненты дыма [24, 25]. Пос-

ледующие изменения в росте клетки и клеточном цикле вызывают дальнейшую прогрессию опухолевого роста [18, 23]. Семейство ферментов цитохром Р450 также индуцирует рост уровня РФК, главным образом в легких и печени [24, 25]. Летучие продукты распада β -каротина, обнаруженные методом ГХ-МС, представлены β -иононом, циклоцитралем, дигидроактинидиолом, 1,1,6-триметилтетралином. Эти продукты распада β -каротина являются инициаторами скрытого развития опухолей [22, 25], которые можно обнаружить путем определения биологически значимых летучих продуктов распада β -каротина в клеточных системах [19].

Изучают метаболический профиль и при других широко распространенных заболеваниях, в частности бронхолегочной системы.

Bos L. et al. исследовали возможности нового диагностического подхода выявления острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС) на основе определения ЛОС. Авторы искали специфические биомаркеры заболевания в выдыхаемом воздухе больных палаты интенсивной терапии, находящихся на искусственной вентиляции легких (ИВЛ) [3]. Диагноз ОРДС был подтвержден с учетом Берлинских критериев. Забор образцов выдыхаемого газа производили в первые сутки заболевания. По данным своего исследования методом ГХ-МС авторы обнаружили отличие метаболома больных ОРДС от здоровых лиц, которое проявлялось наличием высокого уровня октана, ацетальдегида и 3-метилгептана в образцах выдыхаемого воздуха. Кроме того, авторами установлено, что по химическому составу выдыхаемого воздуха пациенты с кардиогенным отеком легких и пневмонией отличаются от больных с ОРДС, что важно для ранней диагностики этих патологических состояний. Также Bos L. et al. установили, что метаболом ОРДС не зависит от патогенеза ОРДС, тяжести заболевания, сопутствующих заболеваний и параметров ИВЛ [3].

De Laurentiis G. et al. использовали принципы метаболомики в определении биомаркеров хронической обструктивной болезни (ХОБЛ) [9]. В качестве субстрата исследования был выбран конденсат выдыхаемого воздуха пациентов, содержащий жидкости дыхательных путей. Для определения метаболомического профиля конденсата применяли ЯМР-спектроскопию. Эта методика не обладает высокой чувствительностью по сравнению с МС, однако не требует сложной подготовки образца и не разрушает метаболиты в пробе, позволяя полностью обнаружить содержащиеся в ней химические соединения. Для чистоты эксперимента авторы изучили спектр слюны как наиболее вероятного источника загрязнения образцов выдыхаемого воздуха, а также дублировали все пробы путем повторного забора материала в тот же день с интервалом в двенадцать часов. Обнаружили, что спектры конденсата выдыхаемого воздуха в образцах больных ХОБЛ и здоровых имели четкие отличия.

Сигнал пирувата в спектре больных ХОБЛ определялся, но был значительно слабее, чем в спектре здоровых лиц. Сигнал сукцината был небольшой в спектре здоровых, но отсутствует в спектре ХОБЛ. Глютамин, холин и фосфорилхолин и триметил-амин N-оксид присутствовали только в спектре здоровых и отсутствовали в спектре больных ХОБЛ. На основе этих данных был сделан вывод о том, что метаболомический анализ конденсата выдыхаемого воздуха является неинвазивным методом изучения жидкости, содержащейся в дыхательных путях, что позволяет четко дифференцировать здоровых и пациентов с заболеваниями дыхательных путей [9]. Представляет интерес экспериментальная работа We H. et al. по изучению метаболомического профиля при бронхиальной астме [47]. Они изучали метаболиты, выделенные из промывных вод бронхов сенсibilизированных мышей. Результаты показали, что бронхоальвеолярная жидкость, полученная от животных с экспериментальной астмой, имеет определенные метаболитические особенности. Эти особенности заключаются в повышении уровня таких метаболитов, как лактат, малат и креатинин, в легких больных животных и в снижении уровня углеводов – маннозы, галактозы и арабинозы. Лактат и малат являются продуктами измененного энергетического метаболизма и образуются в процессе аномального легочного дыхания, особенно в условиях гипоксии или воспаления [51]. Увеличение уровня креатинина в легких предполагает изменение энергетического обмена через цикл мочевины. Углеводы являются источниками энергии в клетках легкого, и постепенное истощение сахаридов в условиях измененного энергетического обмена может способствовать развитию воспаления и усилению выраженности симптомов заболевания.

В ряде работ отмечены изменения метаболизма липидов и стеролов со значительным снижением уровня фосфатидилхолинов, диглицеридов, триглицеридов, холестерина и желчных кислот в легких больных бронхиальной астмой мышей. Снижение уровня фосфатидилхолинов при астме может привести к снижению функции легких [52]. Триглицериды выполняют в организме структурную и энергетическую функции, служат для защиты легких, выступая в роли антиоксидантов, и способствуют проявлению цитопротекторных эффектов в отношении эпителиальных, эндотелиальных клеток и фибробластов при повреждении свободными радикалами кислорода [44]. Холин обладает защитными свойствами при астме, способствует уменьшению выраженности воспалительной реакции и окислительного стресса [20, 21]. Значительное сокращение стерина, в том числе желчных кислот и холестерина, также свидетельствует о возможном негативном воздействии на метаболизм кортизола, который может быть важным фактором в развитии астмы. С этих позиций метаболомический анализ бронхоальвеолярной жидкости может быть ис-

пользован в качестве нового подхода к диагностике бронхиальной астмы [47].

Интересны исследования, проведенные J. Yang et al., по изучению метаболомического профиля больных муковисцедозом [54]. Ими проведен анализ химических веществ группы оксипинов в образцах мокроты пациентов. Установлено присутствие в образцах простагландинов, тромбоксанов, лейкотриенов, липоксинов и др. Известно, что оксипины являются метаболитами арахидоновой и линолевой кислот и обладают как провоспалительным, так и противовоспалительным эффектом. Был также обнаружен широкий спектр липидных медиаторов, в том числе PGE₂, PGD₂, TXB₂, LTB₄, 6-*trans*-LTB₄, 20-OH-LTB₄, 20-COOH-LTB₄, 20-HETE, 15-HETE, 11-HETE, 12-HETE, 8-HETE, 9-HETE, 5-HETE, EETs, LXA₄, Resolvin E1, 15-deoxy-PGJ₂ и диолы. Всего в мокроте больных муковисцедозом J. Yang et al. диагностировали тридцать один оксипин, из которых только девять (в том числе PGE₂, PGF₁, PGF_{2α}, TXB₂, 6-*oxo* PGF₁, 8-*iso*-PGF_{2α}, cys-LTs) зарегистрированы в предшествующих исследованиях [32, 55, 56]. Ими также установлено, что уровень липоксина A₄ (LXA₄) в образцах мокроты больных муковисцедозом снижен по сравнению с контрольной группой. В ходе исследования удалось выявить взаимосвязь доли провоспалительных биоактивных липидов в метаболомическом профиле со степенью нарушения легочной функции (ОФВ₁). J. Yang et al. также обнаружили, что пациенты, в мокроте которых выявлялся противовоспалительный липидный медиатор Resolvin E1, демонстрировали лучшую функцию легких по сравнению с пациентами с неопределяемыми уровнями данного оксипина [54].

Дыхательные пути являются одним из наиболее излюбленных мест для патогенных микроорганизмов [42]. Всеми микробами синтезируются ЛОС, являясь частью их нормального обмена веществ. Типы и классы производимых микроорганизмами ЛОС обширны и включают, например, углеводороды, алифатические спирты и кетоны, ароматические соединения, азотсодержащие вещества и летучие соединения серы. Goeminne P. C. et al. определяли ЛОС, вырабатываемые *Pseudomonas aeruginosa*, в мокроте больных кистозным фиброзом легких методом ТФМЭ-ГХ-МС [11]. Они обнаружили связь между присутствием *Pseudomonas aeruginosa* в дыхательных путях пациентов и высокой концентрацией терпенов 1-ундецена и 1- α -пинена и соединений додекана, терпинен-4-ола и 2,2,6-триметил-октана в образцах мокроты.

В ряде других исследований установлено, что колонии *Aspergillus fumigates*, полученные из дыхательных путей пациентов с хроническими заболеваниями легких, были ассоциированы с присутствием летучего вещества 2-пентилфурана при анализе выдыхаемого воздуха методом ГХ-МС, и в настоящее время разрабатывается в качестве нового диагности-

ческого дыхательного теста [5]. Для *Staphylococcus aureus* биомаркерами могут быть обнаруженные в биологических образцах изовалериановая кислота и 2-метил-бутанол.

Проведенные исследования способствовали формированию мнения о том, что метаболомические исследования позволяют получать данные для построения прогностической модели наличия хронической инфекции в дыхательных путях человека [11].

Изучение данных литературы и анализ результатов собственных исследований позволили Goeminne P. C. et al. сделать заключение о том, что не один метаболит, а специфический набор ЛОС указывает наличие определенного возбудителя в организме [11].

Вышеприведенные данные явились основанием для предположения о том, что выявление ЛОС микроорганизмов помогает достичь в медицинской практике три важные цели: 1) подтвердить отсутствие бактериальных патогенов в организме и, соответственно, подтвердить отсутствие необходимости применения антибиотиков; 2) подтвердить наличие определенного штамма бактерий в организме и начать соответствующую антимикробную терапию; 3) определить фенотип бактериального штамма, предотвратить использование антибиотиков, к которым возбудитель нечувствителен [46].

Имеются основания предполагать, что новые быстрые, чувствительные, специфичные и недорогие диагностические методики будут весьма полезны для ранней диагностики туберкулеза [48]. В настоящее время начаты изучение технологии анализа ЛОС при туберкулезе и поиск специфических биомаркеров *Mycobacterium tuberculosis*. Эти исследования, проводимые в условиях эксперимента, свидетельствуют о том, что способны путем обоняния обнаруживать наличие возбудителя туберкулеза в образцах мокроты. По мнению авторов исследования, чувствительность данного метода обнаружения микобактерий туберкулеза является в такой же мере чувствительным методом обнаружения, как и микроскопия мокроты [48]. Определены специфические биомаркеры роста культур *Mycobacterium tuberculosis* и *Mycobacterium bovis in vitro* (метил фенилацетат, метил-п-анизат, метил никотинат и о-фениланизол) с помощью ТФМЭ и ГХ-МС [39]. Имеются данные о том, что определение метил никотината выдыхаемого воздуха пациентов может рассматриваться как обнаружение маркера микобактерий туберкулеза [40]. В другом исследовании методом ГХ-МС последовательно определены 130 летучих соединений *Mycobacterium tuberculosis*. С помощью распознавания этих ЛОС в выдыхаемом воздухе пациентов провели сравнение проб выдыхаемого воздуха у госпитализированных по поводу туберкулеза больных и здоровых людей [29]. По мнению авторов, такое исследование в дальнейшем может стать

новым дыхательным тестом на активный легочный туберкулез. При этом скрининг будет направлен на выявление наличия как продуктов окислительного стресса (алканов и производных алкана), так и летучих метаболитов *Mycobacterium tuberculosis* (с помощью ГХ-МС) [31].

В заключение отметим, что многие метаболомические исследования по-прежнему в значительной степени ограничены научно-исследовательской работой, но предполагается, что в будущем ЛОС-профилирование «у постели больного» откроет возможность быстрой диагностики заболеваний, обеспечивая важной информацией медицинских работников по тактике ведения больного [43].

ЛИТЕРАТУРА

1. Царев Н. И., Царев В. И., Катраков И. Б. Практическая газовая хроматография. – Барнаул: Изд-во Алт. ун-та, 2000. – 156 с.
2. Arora A., Willhite C. A., Liebler D. C. Interactions of β -carotene and cigarette smoke in human bronchial epithelial cells // *Carcinogenesis*. – 2001. – Vol. 22, № 8. – P. 1173-1178.
3. Bos L., Weda H., Wang Y. et al. Exhaled breath metabolomics as a noninvasive diagnostic tool for acute respiratory distress syndrome // *ERJ Express*. – 2014. – P. 1-10.
4. Brown M. V., McDunn J. E., Gunst P. R. et al. Cancer detection and biopsy classification using concurrent histopathological and metabolomic analysis of core biopsies // *Genom Med*. – 2012. – Vol. 4. – P. 33.
5. Chambers S. T., Bhandari S., Scott-Thomas A. et al. Novel diagnostics: progress toward a breath test for invasive *Aspergillus fumigatus* // *Med. Mycol*. – 2011. – Vol. 49. – P. 54-61.
6. Catchpole G., Platzer A., Weikert C. et al. Metabolic profiling reveals key metabolic features of renal cell carcinoma // *J. Cell. Mol. Med*. – 2011. – Vol. 15. – P. 109-118.
7. Dally H., Gassner K., Jager B., Schmezer P. Myeloperoxidase (mpo) genotype and lung cancer histologic types: the mpo-463 a allele is associated with reduced risk for small cell lung cancer in smokers // *Int. J. Cancer*. – 2002. – Vol. 102, № 5. – P. 530-535.
8. Daviss. Growing pains for metabolomics // *Scientist*. – 2005. – Vol. 19, № 8. – P. 25-28.
9. de Laurentiis G., Paris D., Melck D. et al. Metabonomic analysis of exhaled breath condensate in adults by nuclear magnetic resonance spectroscopy // *Eur. Respir. J.* – 2008. – Vol. 32, № 5. – P. 1175-1183.
10. Denkert C., Budczies J., Fiehn O. et al. Metabolite profiling of human colon carcinoma-deregulation of TCA cycle and amino acid turnover // *Mol. Cancer*. – 2008. – Vol. 7. – P. 72.
11. Goeminne P. C., Vandendriessche T., Eldere J. V. et al. Detection of *Pseudomonas aeruginosa* in sputum headspace through volatile organic compound analysis // *BioMed Central*. – 2012. – Vol. 13. – P. 83.
12. Hakim M., Broza Y. Y., Barash O., Peled N. et al. Volatile Organic Compounds of Lung Cancer and Possible Biochemical Pathways // *Chemical Reviews*. – 2012. – Vol. 112, № 11. – P. 5949-5966.
13. Hawkins C. L., Davies M. J. Hypochlorite-induced damage to DNA, RNA, and polynucleotides: formation of chloramines and nitrogen-centered radicals // *Chem. Res. Toxicol*. – 2002. – Vol. 15, № 1. – P. 83-92.

14. Jin L., Lloyd R. V. In situ hybridization: methods and applications // J. Clin. Lab. Anal. – 1997. – Vol. 11 – P. 2-9.
15. Jordan K. W., Nordenstam J., Lauwers G. Y. et al. Metabolomic characterization of human rectal adenocarcinoma with intact tissue magnetic resonance spectroscopy // Diseases of the Colon & Rectum. – 2009 – Vol. 52, № 3 – P. 520-525.
16. Kouremenos K. A., Pitt J., Marriott P. J. Metabolic profiling of infant urine using comprehensive two-dimensional gas chromatography: Application to the diagnosis of organic acidurias and biomarker discovery // J. Chromatography A. – 2010 – Vol. 1217. – P. 104-111.
17. Lau D., Mollnau H., Eiserich J. P., Freeman B. A. et al. Myeloperoxidase mediates neutrophil activation by association with cd11b/cd18 integrins // Proc Natl Acad Sci USA. – 2005. – Vol. 102, № 2. – P. 431-436.
18. Liu C., Wang X.-D., Bronson R. T. et al. Effects of physiological versus pharmacological β -carotene supplementation on cell proliferation and histopathological changes in the lungs of cigarette smoke-exposed ferrets // Carcinogenesis. – 2000. – Vol. 21, № 12. – P. 2245-2253.
19. Martano G., Vogl C., Bojaxhi E. et al. Solid-phase extraction and GC-MS analysis of potentially genotoxic cleavage products of β -carotene in primary cell cultures // An. Bioanal. Chem. – 2011. – Vol. 400 – P. 2415-242.
20. Mehta A. K., Arora N., Gaur S. N. et al. Choline supplementation reduces oxidative stress in mouse model of allergic airway disease // Eur. J. Clin. Invest. – 2009. – Vol. 39. – P. 934-941.
21. Mehta A. K., Singh B. P., Arora N. et al. Choline attenuates immune inflammation and suppresses oxidative stress in patients with asthma // Immunobiology. – 2010. – Vol. 215. – P. 527-534.
22. Palozza P., Serini S., Di Nicuolo F. et al. β -Carotene exacerbates DNA oxidative damage and modifies p53-related pathways of cell proliferation and apoptosis in cultured cells exposed to tobacco smoke condensate // Carcinogenesis. – 2004 – Vol. 25, № 8. – P. 1315-1325.
23. Palozza P. Can β -carotene regulate cell growth by a redox mechanism? An answer from cultured cells // Biochim. Biophys. Acta Mol. Basis Dis. – 2005 – Vol. 1740, № 2. – P. 215-221.
24. Paolini M., Antelli A., Pozzetti L. et al. Induction of cytochrome p450 enzymes and over-generation of oxygen radicals in beta-carotene supplemented rats // Carcinogenesis – 2001. – Vol. 22, № 9. – P. 1483-1495.
25. Paolini M., Abdel-Rahman S. Z., Sapone A. et al. β -Carotene: a cancer chemopreventive agent or a co-carcinogen? // Mutat. Res. Rev. Mutat. Res. – 2003. – Vol. 543, № 3. – P. 195-200.
26. Patti G. J., Yanes O., Siuzdak G. Innovation: Metabolomics: the apogee of the omics trilogy // Nat. Rev. Mol. Cell Biol. – 2012. – Vol. 13. – P. 263-269.
27. Pauling L., Robinson A. B., Teranishi R. et al. Quantitative analysis of urine vapor and breath by gas-liquid partition chromatography // Proc. Natl Acad. Sci. USA. – 1971. – Vol. 68. – P. 2374-2376.
28. Phillips M., Cataneo R. N., Cummin A. R. C. et al. Detection of lung cancer with volatile markers in the breath // Chest. – 2003. – Vol. 123, № 6. – P. 2115-2123.
29. Phillips M., Cataneo R. N., Condos R. et al. Volatile biomarkers of pulmonary tuberculosis in the breath // Tuberculosis. – 2007. – Vol. 87. – P. 44-52.
30. Phillips M., Altorki N., Austin J. H. M. et al. Detection of lung cancer using weighted digital analysis of breath biomarkers // Clin. Chim. Acta. – 2008. – Vol. 393, № 2. – P. 76-84.
31. Phillips M., Basa-Dalay V., Bothamley G. et al. Breath biomarkers of active pulmonary tuberculosis // Tuberculosis (Edinb.). – 2010. – Vol. 90. – P. 145-151.
32. Reid D. W., Misso N., Aggarwal S. et al. Oxidative stress and lipid-derived inflammatory mediators during acute exacerbations of cystic fibrosis // Respirology. – 2007. – Vol. 12. – P. 63-69.
33. Sands C. J., Coen M., Ebbels T. M. et al. Data-driven approach for metabolite relationship recovery in biological ^1H NMR data sets using iterative statistical total correlation spectroscopy // An. Chem. – 2011. – Vol. 83. – P. 2075-2082.
34. Siems W., Capuozzo E., Crifo C. et al. Carotenoid cleavage products modify respiratory burst and induce apoptosis of human neutrophils // Biochim. Biophys. Acta Mol. Basis Dis. – 2003 – Vol. 1639, № 1. – P. 27-33.
35. Siems W., Wiswedel I., Salerno C., Crifo C. et al. β -Carotene breakdown products may impair mitochondrial functions – potential side effects of high-dose β -carotene supplementation // J. Nutr. Biochem. – 2005. – Vol. 16, № 7. – P. 385-397.
36. Silva C. L., Passos M., Camara J. S. Investigation of urinary volatile organic metabolites as potential cancer biomarkers by solid-phase microextraction in combination with gas chromatography-mass spectrometry // Brit. J. Cancer. – 2011. – Vol. 105. – P. 1894-1904.
37. Smith D., Španel P., Sule-Suso J. Advantages of breath testing for the early diagnosis of lung cancer // Expert Rev. Mol. Diagn. – 2010. – Vol. 10. – P. 255-257.
38. Sreekumar A., Poisson L. M., Rajendiran T. M. et al. Metabolomic profiles delineate potential role for sarcosine in prostate cancer progression // Nature. – 2009. – Vol. 457. – P. 910-914.
39. Syhre M., Chambers S. T. The scent of *Mycobacterium tuberculosis* // Tuberculosis (Edinb.). – 2008 – Vol. 88 – P. 317-323.
40. Syhre M., Manning L., Phuanukoonnon S. et al. The scent of *Mycobacterium tuberculosis* – part II breath // Tuberculosis (Edinb.). – 2009. – Vol. 89 – P. 263-266.
41. Taylor C. R., Barr N. J. Techniques of Immunohistochemistry: Principles, Pitfalls, and Standardization // In Diagnostic Immunohistochemistry. Edited by: Dabbs D. Philadelphia: Saunders Elsevier. – 2010. – P. 1-41.
42. Thorn R. M., Greenman J. Microbial volatile compounds in health and disease conditions // J. Breath Research. – 2012. – Vol. 6 – P. 1-25.
43. Thorn R. M., Reynolds D. M., Greenman J. Multivariate analysis of bacterial volatile compound profiles for discrimination between selected species and strains *in vitro* // J. Microbiol. Methods. – 2011 – Vol. 84. – P. 258-264.
44. Torday J. S., Torday D. P., Gutnick J. et al. Biologic role of fetal lung fibroblast triglycerides as antioxidants // Pediatr. Res. – 2001 – Vol. 49. – P. 843-849.
45. Veenstra T. D. Metabolomics: the final frontier // Genome Med. – 2012. – Vol. 4. – P. 40.
46. Vincent J. L., Rello J., Marshall J. et al. International study of the prevalence and outcomes of infection in intensive care units // JAMA. – 2009. – Vol. 302. – P. 2323-2329.
47. We H., Xu Y. J., Xu F. et al. Metabolomics reveals altered metabolic pathways in experimental asthma // Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol. – 2013 – Vol. 48, № 2. – P. 204-211.

48. Weetjens B. J. et al. African pouched rats for the detection of pulmonary tuberculosis in sputum samples // *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* – 2009. – Vol. 13 – P. 737-743.
49. Wehinger A., Schmid A., Mechtcheriakov S. et al. Lung cancer detection by proton transfer reaction mass-spectrometric analysis of human breath gas // *Int. J. Mass Spectrom.* – 2007. – Vol. 265, № 1, – P. 49-59.
50. Wishart D. S., Tzur D., Knox C. et al. HMDB: the Human Metabolome Database // *Nucleic Acids Research.* – 2007. – Vol. 35. – P. 521-526.
51. Wolak J. E., Esther C. R., O'Connell T. M. Metabolomic analysis of bronchoalveolar lavage fluid from cystic fibrosis patients // *Biomarkers.* – 2009. – Vol. 14. – P. 55-60.
52. Wright S. M., Hockey P. M., Enhorning G. et al. Altered airway surfactant phospholipid composition and reduced lung function in asthma // *J. Appl. Physiol.* – 2000. – Vol. 89. – P. 1283-1292.
53. Wu H., Xue R., Tang Z. Metabolomic investigation of gastric cancer tissue using gas chromatography/mass spectrometry // *An. Bioanal. Chem.* – 2010. – Vol. 396. – P. 1385-1395.
54. Yang J., Eiserich J. P., Cross C. E. et al. Metabolomic Profiling of Regulatory Lipid Mediators in Sputum from Adult Cystic Fibrosis Patients // *Free Radic. Biol. Med.* – 2012. – Vol. 53, № 1 – P. 160-171.
55. Zakrzewski J. T., Barnes N. C., Piper P. J. et al. Detection of sputum eicosanoids in cystic fibrosis and in normal saliva by bioassay and radioimmunoassay // *Br. J. Clin. Pharmacol.* – 1987. – Vol. 23 – P. 19-27.
56. Zakrzewski J. T., Barnes N. C., Costello J. F. et al. Lipid mediators in cystic fibrosis and chronic obstructive pulmonary disease // *Am. Rev. Respir. Dis.* – 1987. – Vol. 136. – P. 779-782.

ДЛЯ КОРРЕСПОНДЕНЦИИ:

Фурина Раиса Рустэмовна

ГБУ РМЭ «Республиканская клиническая больница»,
врач-эндоскопист эндоскопического отделения,
424030, г. Йошкар-Ола, ул. Осипенко, д. 33.
Тел.: 8 (362) 42-64-54.
E-mail: furina_raisa@mail.ru

Поступила 18.02.2014

Диагностика пневмоний с тяжелым течением

► за **4 часа**

- нозокомиальные пневмонии, в том числе вентилятор-ассоциированные
- острые внебольничные пневмонии

Быстрый и простой метод анализа на основе автоматизированной ПЦР

Система Unyvero™ для выявления возбудителей пневмоний и определения их лекарственной устойчивости



1. **Unyvero™ A50**
универсальный анализатор
2. **Unyvero™ C8**
простая в обращении управляющая рабочая станция
3. **Unyvero™ L4**
универсальный модуль для лизирования образца
4. **Unyvero™**
картриджи: расходные материалы для диагностики пневмонии

Срочная диагностика с использованием системы Unyvero™



Клинический образец материала, полученный из нижних дыхательных путей, загружается в готовый к использованию картридж с реагентами Unyvero™



Все этапы молекулярного анализа происходят в картридже под контролем системы приборов Unyvero™



Длительность полностью автоматизированного ПЦР-анализа



Своевременный клинически достоверный результат анализа: выявление более 80% значимых возбудителей пневмонии и определение их устойчивости к антибиотикам

Ранняя корректировка эмпирической терапии

Более благоприятный прогноз или спасенная жизнь пациента, находящегося в критическом состоянии

Реклама

Эксклюзивный дистрибьютор Curetis AG (Германия) в России – компания «БиоЛайн»

ООО «БиоЛайн»
197101, Россия, Санкт-Петербург
Петроградская наб., 36 А
тел.: (812) 320 49 49
факс: (812) 320 49 40
e-mail: main@bioline.ru
www.bioline.ru

Москва, тел.: (800) 555 49 40
Новосибирск, тел.: (383) 227 09 63
Екатеринбург, тел.: (343) 287 32 49
Нижний Новгород, тел.: (831) 278 61 47
Ростов-на-Дону, тел.: (863) 268 99 32
Казань, тел.: (843) 570 66 88

ДП «БиоЛайн Украина»
Украина, Киев
тел.: +38 (044) 200 89 37
ООО «БиоЛайн-БС»
Республика Беларусь, Минск
тел.: +37 (517) 399 43 79

Единый бесплатный номер сервисной службы для всех регионов России:
8 800 333 00 49



Группа компаний **БиоЛайн**