

## ОБЗОР

---

УДК 577.152.3

© Коллектив авторов

### МЕТАБОЛОМНОЕ ПРОФИЛИРОВАНИЕ КРОВИ

*О.П. Трифонова\*, П.Г. Лохов, А.И. Арчаков*

Федеральное государственное бюджетное учреждение  
“Научно-исследовательский институт биомедицинской химии  
имени В.Н. Ореховича” РАМН, Москва, 119121, ул. Погодинская, д.10;  
факс: +7 499 2450857; эл.почта: oxana.trifonova@gmail.com

Метаболомика – самая молодая “омная” наука, занимающаяся анализом всей совокупности низкомолекулярных веществ (метаболитов) биологических объектов. Метаболические профили являются молекулярным фенотипом живых систем, и отражают информацию, заложенную на геномном и реализованную на транскриптомном и протеомном уровнях. Анализ метаболомного профиля крови позволяют учесть влияние как внутренних (эндогенных), так и внешних (экзогенных) факторов, воздействующих на организм, что делает его универсальными и перспективными в плане клинического применения. В данном обзоре обсуждена техническая реализация метаболомного профилирования крови, методы статистического анализа метаболитических профилей для расчета рисков и диагностики заболеваний.

**Ключевые слова:** метаболомика, метаболомный профиль, масс-спектрометрия, плазма/сыворотка крови

**ВВЕДЕНИЕ.** Упрощённо, организацию живых систем можно разделить на четыре основных уровня: геном, транскриптом, протеом и метаболом. Живые системы существуют в результате сложного взаимодействия этих компонентов, осуществляемого путем потока вещества, энергии и информации от одного уровня к другому (рис. 1). Метаболом – совокупность низкомолекулярных веществ (метаболитов) живой системы, занимает особое положение, так как метаболиты являются субстратами, интермедиатами или продуктами большинства биохимических реакций, являются строительным материалом для всех макромолекул, в том числе составляющих основу генома (нуклеотиды), протеома (аминокислоты) и транскриптома (нуклеотиды). В основном, биоматериал в качестве источника энергии и строительного материала поступает в живую систему в виде низкомолекулярных веществ. В виде же низкомолекулярных веществ выводятся из организма и продукты распада.

---

\* - адресат для переписки

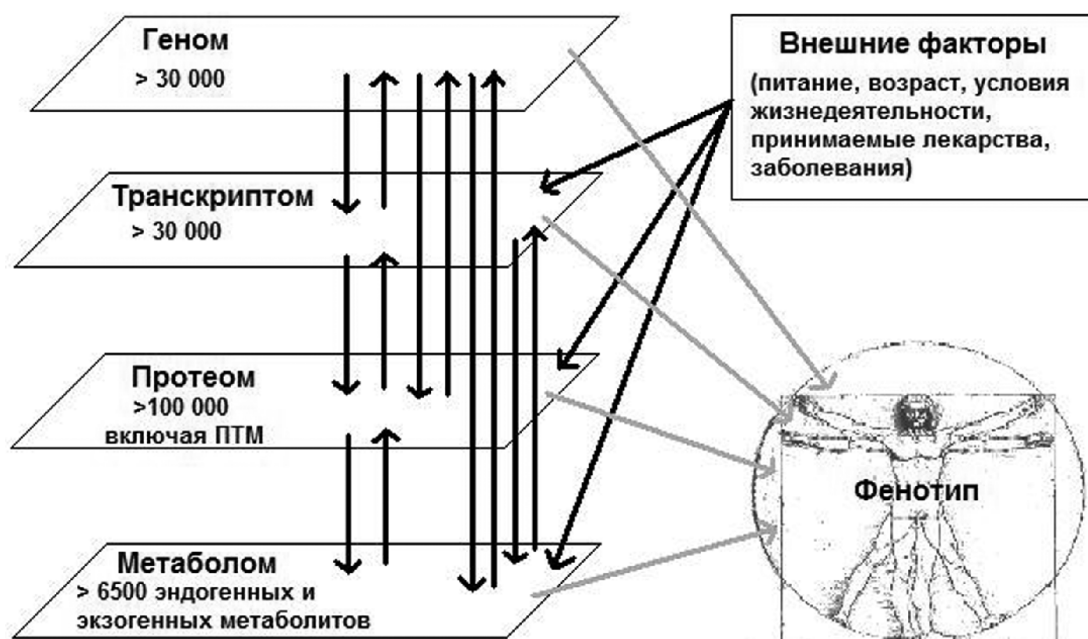


Рисунок 1.

Взаимосвязь генома, транскриптома, протеома и метаболома в живой системе. Влияние компонентов всех уровней живой системы и условий жизнедеятельности на формирование фенотипа. Адаптировано из [5].

Поэтому, изучая всю совокупность низкомолекулярных веществ, метаболомика всесторонне описывает молекулярный фенотип биологического объекта с предельно возможной степенью детализации и является неотъемлемой частью постгеномных исследований [1-4]. Посредством же анализа метаболитов, задействованных в патологических биохимических процессах, метаболомный анализ может использоваться в клинической практике для эффективной диагностики и расчета рисков заболеваний [3, 5-7].

### 1. МЕТОДЫ АНАЛИЗА В МЕТАБОЛОМИКЕ.

Все метаболомные исследования в зависимости от стратегии проведения анализа и характера получаемой информации можно условно разделить на две группы – целевой анализ и метаболитическое профилирование (рис. 2). Первая группа исследований проводится при наличии чётко выработанной научной гипотезы и направлена на изучение конкретных мишеней. Однако часто в исследовании определена только основная задача (например, найти различия в метаболоме здоровых людей и пациентов с патологией) и нет информации о том, какие именно метаболиты связаны с исследуемыми (пато)физиологическими процессами в организме. В таких случаях важно получить достоверную информацию о возможно большем количестве метаболитов, т.е. получить метаболитический профиль. Последующий анализ полученных данных позволяет выявить различия в содержании конкретных метаболитов и построить гипотезу относительно исследуемого в организме процесса. Таким образом, метаболитическое профилирование является начальной стадией для проведения дальнейших целевых исследований [7, 8].

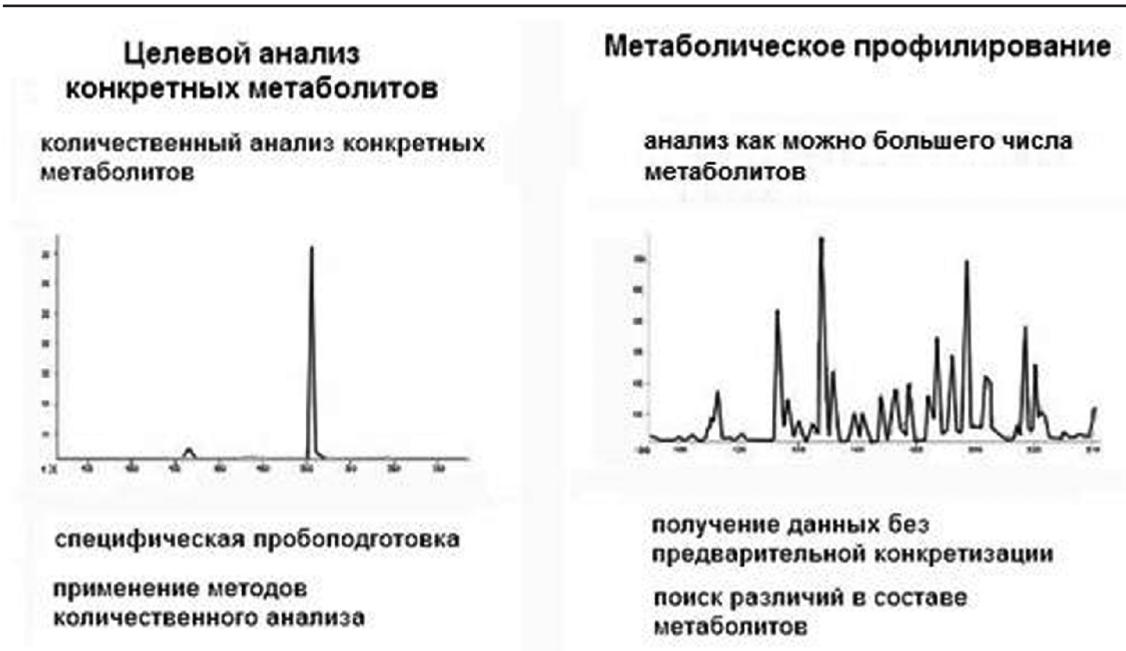


Рисунок 2.

Стратегии анализа в метаболомике - целевой анализ и метаболическое профилирование. При метаболическом профилировании анализируют все пики метаболитов, детектируемые в масс-спектре, при целевом - только конкретного метаболита. Адаптировано из [5].

Метаболическое профилирование дает информацию о сотнях или тысячах метаболитов за один анализ, что обеспечивается применением современных высокопроизводительных технологий на основе ядерного магнитного резонанса (ЯМР) и масс-спектрометрии (МС) [5, 9]. Наиболее распространенными методами анализа метаболического профиля плазмы/сыворотки крови является ЯМР спектроскопия, прямая масс-спектрометрия, масс-спектрометрия, сопряженная с высокоэффективной жидкостной (ВЭЖХ) или газовой хроматографией [9].

### 1.1. ЯМР спектроскопия.

ЯМР спектроскопия стала важным инструментом для химиков и структурных биологов и в течение более 20 лет интенсивно использовалась исследователями для метаболомного профилирования биологических жидкостей. Основные достоинства данного метода в его высокой воспроизводимости и универсальности – все виды метаболитов могут быть определены одновременно. То есть для анализа не требуется предварительное разделение смеси метаболитов, что значительно упрощает пробоподготовку. Кроме того, ЯМР спектроскопия является единственным методом, который позволяет использовать исследуемые образцы для дальнейшего анализа. Хотя, конечно, ЯМР имеет существенно более низкую чувствительность, чем масс-спектрометрические методы и может использоваться только для анализа метаболитов с относительно высокой концентрацией. Так, с помощью одномерной ЯМР спектроскопии можно детектировать всего 20-30 метаболитов в плазме или сыворотке крови [10, 11].

### 1.2. Масс-спектрометрия.

Применение масс-спектрометрии позволило значительно продвинуться в изучении метаболитов, т.к. масс-спектрометры позволяют анализировать сотни или тысячи метаболитов в одном образце (рис. 3). Масс-спектрометрия

## МЕТАБОЛОМНОЕ ПРОФИЛИРОВАНИЕ КРОВИ

может применяться как после предварительного разделения веществ образца, так и без него, то есть методом т.н. прямой масс-спектрометрии, которая подразумевает непосредственное внесение анализируемого биоматериала в источник ионизации масс-спектрометра без какого-либо предварительного разделения [12]. Так как биологические образцы содержат большое количество метаболитов, то при прямой масс-спектрометрии используют масс-спектрометры с высоким разрешением и точностью измерения массы для большего числа детектируемых метаболитов.

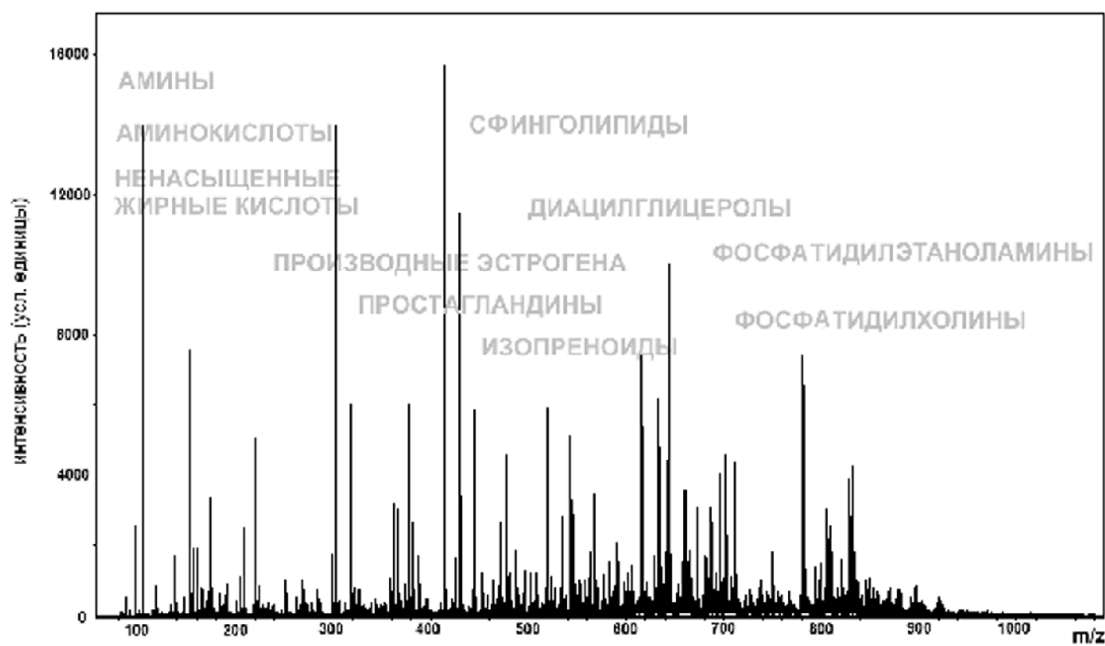


Рисунок 3.

Масс-спектр метаболитов плазмы крови, полученный методом прямой инъекции в электроспрейный источник ионизации квадруполь-время-пролетного масс-спектрометра micrOTOF-Q (Bruker Daltonik). На масс-спектре указаны области регистрации основных групп метаболитов крови.

Хотя прямое масс-спектрометрическое профилирование является быстрым и хорошо воспроизводимым методом, позволяющим анализировать до 60 образцов в час, оно имеет один недостаток. Из-за одновременного ввода всех веществ биопробы в источник ионизации при прямом масс-спектрометрическом анализе происходит подавление сигнала отдельных метаболитов (ионная супрессия), что влияет на количественные характеристики масс-спектрометрических данных и затрудняет интерпретацию получаемых результатов. Поэтому данный метод достаточно редко применяется в метаболомных исследованиях [5, 13].

В целях устранения недостатков, проявляющихся при прямом масс-спектрометрическом анализе сложных биологических объектов, непосредственно масс-спектрометрической детекции может предшествовать разделение метаболитов с помощью хроматографии или электрофореза. Предварительное разделение веществ этими методами существенно снижает ионную супрессию и, устраняя фоновый шум, увеличивает динамический диапазон детекции метаболитов. Методы хроматографического разделения

биологических образцов, применяемые в сочетании с масс-спектрометрией, делятся на два основных вида – газовая хроматография (ГХ) и высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ). Газовая хромато-масс-спектрометрия (ГХ-МС) – один из наиболее мощных и широко используемых методов анализа в метаболомике. Она даёт очень высокое хроматографическое разрешение, но применима только для анализа летучих соединений. Поэтому некоторые макромолекулы и полярные метаболиты не могут исследоваться с помощью газовой хроматографии [14, 15].

По сравнению с газовой хроматографией, ВЭЖХ имеет более низкое хроматографическое разрешение, но это компенсируется более широким диапазоном соединений, которые потенциально могут быть проанализированы. Увеличение разрешающей способности ВЭЖХ достигается за счёт использования более высокой скорости потока, мобильной фазы, увеличения давления и уменьшения диаметра частиц стационарной фазы (менее 2 мкм) (так называемая ультраэффективная жидкостная хроматография (УЭЖХ)) [16]. Применение УЭЖХ разделения на обращенофазовом носителе (C8 или C18) позволяет детектировать масс-спектрометрически до 1000 метаболитов в одном образце [17]. Однако данный метод применим для анализа относительно неполярных метаболитов, включая липиды, и совершенно не подходит для полярных, таких как сахара и некоторые аминокислоты. Для таких метаболитов используют хроматографию на полярном сорбенте (hydrophilic interaction chromatography, HILIC). Причем неполярные липиды практически не удерживаются на данном носителе, поэтому HILIC нужно применять вместе с обратнофазовым разделением [18].

Ещё один способ предварительного разделения сложных биологических смесей – капиллярный электрофорез (КЭ) имеет более высокую теоретическую эффективность разделения, нежели ВЭЖХ, и может использоваться для исследования более широкого диапазона соединений, чем газовая хроматография. Как и все электрофоретические методы, он наиболее удобен для разделения ионов. Однако невозможность анализа неполярных метаболитов и технически сложная процедура разделения привели к тому, что капиллярный электрофорез редко применяют в метаболомных исследованиях [19, 20].

### 1.3. Анализ данных.

Большое количество метаболитов, содержащихся в крови, усложняет понимание биохимической информации, заключенной в метаболомном профиле. Масс-спектры могут содержать несколько тысяч пиков относящихся к сотням, а то и тысячам метаболитов. Поэтому проведенная надлежащим образом биоинформационная обработка является определяющей в интерпретации полученных при профилировании масс-спектрометрических данных.

Прежде всего, масс-спектрометрические данные нуждаются в предварительной обработке – так называемом выравнивании спектров и их нормализации. Процедуру выравнивания проводят для соотнесения между собой пиков одних и тех же метаболитов в разных спектрах. Необходимость данного шага вызвана сдвигами, наблюдаемыми как при масс-спектрометрическом анализе (время выходы из колонки, точность определения соотношения массы к заряду ( $m/z$ )), так и при ЯМР-спектроскопии (химический сдвиг из-за изменения pH или осмолярности) [6, 21, 22]. Как правило, нормализацию масс-спектрометрических данных проводят по сумме площадей всех детектируемых в спектре пиков.



Статистические методы для обработки масс-спектрометрических данных выбирают в соответствии с поставленной задачей. Если целью является классификация биопроб, то, как правило, используют иерархический кластерный анализ, метод главных или независимых компонент. Метод главных компонент в метаболомных исследованиях по праву можно считать наиболее популярным, реализовать который можно при помощи большинства статистических программ [5]. Другим перспективным методом для применения в метаболомике является метод независимых компонент, который менее требователен в выборе компонент. С помощью этого метода из масс-спектрометрических данных можно удалить вариабельность, связанную с работой прибора, что существенно улучшает конечный результат анализа [23]. Часто для анализа масс-спектрометрических данных эффективно использовать несколько различных методов вместе [24, 25].

В исследованиях, ориентированных на поиск биомаркеров, преимущественно применяют методы с обучающей выборкой, что позволяет использовать заранее известную информацию о принадлежности биопроб к здоровым или больным пациентам и приводит к более достоверной идентификации биомаркеров [26]. Одним из наиболее удобных методов для оценки диагностической значимости выявляемых биомаркеров является ROC-кривая (Receiver–Operator Characteristic) [27]. ROC-кривая строится по значениям следующих показателей – диагностическая чувствительность, показывающая долю истинно положительных результатов у всех лиц с исследуемой патологией, и диагностическая специфичность, показывающая долю истинно отрицательных результатов у всех лиц не имеющих исследуемой патологии (здоровых) (рис. 4). Для “идеального” теста кривая проходит через верхний левый угол, где доля истинно положительных случаев составляет 100%, соответственно, чем ниже изгиб кривой, тем менее качественен тест. Для получения численного значения клинической значимости теста вычисляют показатель AUC (Area Under ROC Curve). Если площадь под ROC кривой равна 1, то данный тест работает со 100% чувствительностью (нет ложно отрицательных результатов) и 100% специфичностью (нет ложно положительных результатов).

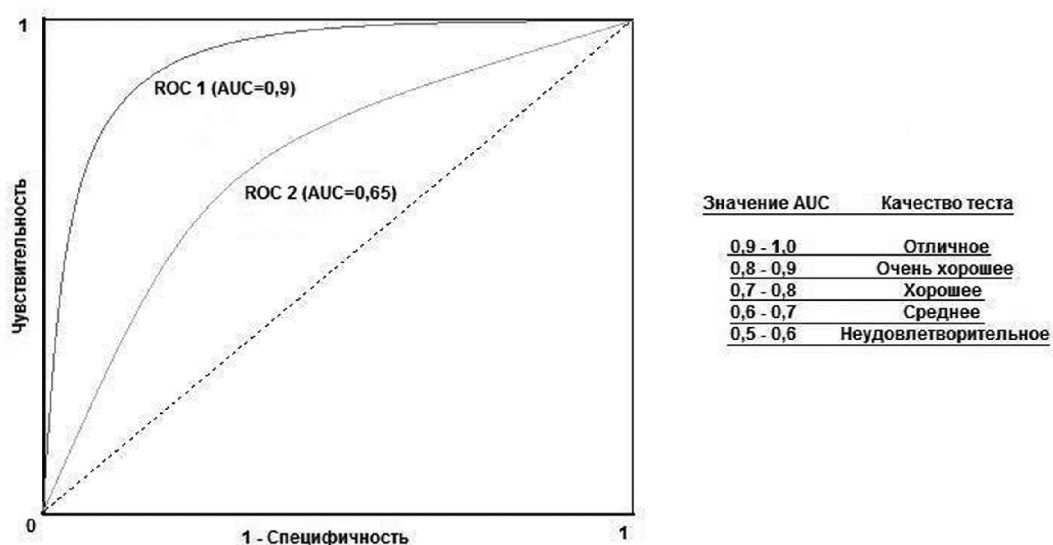


Рисунок 4.

Пример характеристических кривых (ROC) с хорошими (AUC=0,9) и средними (AUC=0,65) показателями специфичности и чувствительности теста. Экспертная шкала для значений AUC, по которой можно судить о качестве теста. Адаптировано из [49].

Для оценки риска развития заболевания при наличии определенных факторов рассчитывают коэффициент несогласия или отношение шансов (Odds Ratio, OR) [28, 29]. Данный показатель отражает на сколько больше вероятность развития заболевания у индивидуума, подвергающегося действию исследуемого фактора, по сравнению с индивидуумом, на которого этот фактор не действует. Таким образом, риск развития заболевания рассчитывается как отношение вероятности что “событие” случится к вероятности, что оно не произойдет (рис. 5). Если отношение шансов (OR) больше единицы, то вероятность развития события (заболевания) при наличии исследуемого фактора больше чем при его отсутствии. Если OR меньше единицы, то наоборот. Если OR равен единице, вероятность развития события не связана с исследуемым фактором. В случае метаболического профилирования биологической пробы величиной, отражающей исследуемый фактор, является интенсивность масс-спектрометрического пика определенного (или группы) метаболита. При этом пороговое значение интенсивности пика рассчитывают исходя из наилучших значений чувствительности и специфичности теста, построенного на этом метаболите, то есть соответствует точке на ROC кривой наиболее приближенной к левому верхнему углу.

	<b>Больные</b>	<b>Здоровые</b>	
<b>Есть</b>	<b>a</b>	<b>b</b>	$OR = \frac{a/b}{c/d} = \frac{a \cdot d}{b \cdot c}$
<b>Нет</b>	<b>c</b>	<b>d</b>	

Рисунок 5.

Формула расчета отношения шансов (OR) развития заболевания в двух группах по показателю наличия или отсутствия пика в масс-спектре.

В последнее время на фоне роста метаболомных исследований стали появляться программные продукты, ориентированные на комплексный анализ масс-спектров метаболитов: MET-IDEA [30], MathDAMP [31], TagFinder [32] и др. Многие производители масс-спектрометрического оборудования предлагают собственные программные пакеты для анализа масс-спектрометрических данных метаболомных исследований. Например с 2007 г. фирма “Bruker Daltonics” (Германия) продает или поставляет вместе со своим оборудованием программу “Metabolic Profiler”. Готовые программные продукты позволяют проводить сравнительный анализ метаболических профилей образцов используя масс-спектры в качестве входных данных.

Помимо сравнительного анализа метаболических профилей для предсказания развития болезни или эффективности/токсичности лекарственных препаратов, большой интерес представляют еще и сведения о задействованных биохимических путях патофизиологических процессов исследуемых болезней. Такую информацию с классификацией метаболитов, например, по классам или метаболическим путям, можно получить путём проекции данных метаболомного профилирования на такие базы данных как KEGG и HMDB [5, 33].

## 2. МЕТАБОЛОМ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА.

В медицине кровь является объектом детального химического анализа на протяжении уже более 70-ти лет [9]. На сегодня наибольшее распространение в клинической диагностике получил анализ 10-20 метаболитов крови. Среди них глюкоза, мочеви́на, билирубин, триглицериды, креатинин и холестерин, так называемый общий биохимический анализ крови. Известно, что до 2000-х годов были опубликованы референсные значения только для 100 метаболитов крови [34]. В 2000-е годы наряду с отдельными исследованиями конкретных метаболитов, связанных с заболеваниями, началось глобальное изучение метаболома человека. Так, с целью идентификации и количественного измерения всех детектируемых метаболитов человеческого организма в 2004 году был начат Human Metabolome Project (HMP) (<http://www.hmdb.ca>). В процессе выполнения этого многолетнего проекта были не только идентифицированы и определены количественно сотни метаболитов в различных биологических жидкостях организма, но также дополнена и проверена информация о ранее выявленных метаболитах. Результаты вошли в электронную базу данных общего пользования Human Metabolome Database (HMDB) [35, 36]. На данный момент в ней содержатся сведения о более чем 7900 метаболитах организма человека, представленных как в высокой ( $>10^{-6}$  M), так и относительно низкой ( $<10^{-9}$  M) концентрациях (<http://www.hmdb.ca>). Позднее была создана база данных метаболитов сыворотки крови (Serum Metabolome Database (SMDb), <http://www.serummetabolome.ca>). В результате экспериментальной работы и анализа литературных источников были собраны данные для 4229 подтвержденных и вероятных метаболитов сыворотки/плазмы крови, с соответствующей им концентрацией и возможной связью с заболеваниями [9].

Создателями базы данных SMDb (<http://www.serummetabolome.ca>) был проведен анализ 149 образцов сыворотки крови здоровых людей и пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями пятью разными методами метаболомического профилирования: 1) ЯМР; 2) ГХ-МС; 3) УЭЖХ-МС (липидные медиаторы); 4) TLC/GC-FIDMS (профилирование липидов); и 5) прямой МС анализ. Всего перечисленными методами было идентифицировано 3564 метаболита сыворотки крови, включая несколько экзогенных – пропиленгликоль и ацетаминофен. Результаты данной работы представлены на рисунке 6.

Из рисунка видно, что каждым методом было детектировано разное количество метаболитов. Больше всего низкомолекулярных соединений в сыворотке крови было идентифицировано методом профилирования липидов (TLC/GC-FIDMS) – 3381, и меньше всего – ЯМР спектроскопией – 49. То есть, применение целевого метода (в данном случае для анализа липидов) позволяет значительно увеличить количество идентифицируемых метаболитов за счет увеличения диапазона концентраций. В то время как профилирующие методы на основе ЯМР и сканирующей МС позволяют анализировать только средне-представленные полярные метаболиты. В то же время 29 метаболитов были идентифицированы и ЯМР, и ГХ-МС и всего 15 метаболитов тремя методами – ЯМР, ГХ-МС и прямой МС. При этом ни одного соединения не удалось идентифицировать всеми пятью методами. Это может объясняться многими причинами, включая различия в пробоподготовке, процедуре разделения анализируемой смеси, чувствительности приборов, устойчивости и летучести анализируемых соединений.





**Рисунок 6.**

Распределение результатов идентификации метаболитов в 149-и образцах сыворотки крови здоровых людей и пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями пятью разными профилирующими методами: 1) ЯМР; 2) ГХ-МС; 3) УЭЖХ-МС (липидные медиаторы); 4) TLC/GC-FIDMS (профилирование липидов); и 5) прямое МС профилирование. Адаптировано из [9].

Авторы показали, что хотя применение спектроскопии ЯМР и ГХ-МС дает больше информации о гидрофильных метаболитах, ВЭЖХ-МС и прямая МС больше подходят для анализа метаболического профиля сыворотки крови благодаря высокой чувствительности детектирования [9]. Однако, учитывая время, необходимое на проведение анализа, можно сказать, что прямой масс-спектрометрический анализ является более высокопроизводительной технологией для исследования метаболического профиля крови, чем ВЭЖХ-МС, что немаловажно в случае анализа большого количества образцов. Это связано, в первую очередь, с невозможностью поддержания высокой воспроизводимости анализа большого количества образцов в течение недель или даже месяцев методом ВЭЖХ-МС из-за хроматографического сдвига и других инструментальных изменений, которые влияют на результаты [6, 37].

---

### 3. МЕТАБОЛОМНЫЙ АНАЛИЗ КРОВИ В МЕДИЦИНСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ.

---

Метаболомные исследования, несомненно, играют большую роль в изучении патологий организма, однако их трансляция в прикладные пока продвигается медленно. За последние несколько лет выросло количество метаболомных исследований с целью поиска новых биомаркеров социально-значимых болезней, включая онкологические, сердечно-сосудистые и нейродегенеративные заболевания [38-42]. Метаболическое профилирование образцов сыворотки крови женщин на стадии операбельного эпителиального рака яичников, с кистой и здоровых женщин позволили различать все три группы друг от друга [43]. Метаболическое исследование образцов крови больных раком простаты выявило 6 метаболитов, диагностирующих больных со специфичностью существенно превышающей тест на простат-специфичный антиген (ПСА-тест) [40]. Сравнительный анализ метаболитов крови 36 пациентов до и после физической нагрузки, 18 из которых страдали ишемией, показали достоверные различия в уровне 6 метаболитов цикла лимонной кислоты [41]. При сравнении метаболических профилей сыворотки крови 17 пациентов с острой почечной недостаточностью и здоровых людей наблюдали различия в уровне ацилкарнитинов, аминокислот и лизофосфатидилхолинов [44]. Таким образом, проведенные работы продемонстрировали, что найденные и идентифицированные в спектрах метаболиты с высокой чувствительностью и специфичностью классифицируют группы здоровых людей и больных.

Кроме диагностики уже развившихся заболеваний метаболомный профиль крови может служить и для оценки риска развития болезни в будущем. Применение метаболического профилирования для анализа крови 189 пациентов, у которых в течение 12 лет развился диабет, в сравнении с 189 здоровыми людьми выявило пять аминокислот – изолейцин, лейцин, валин, тирозин и фенилаланин – коррелирующих с развитием диабета в будущем [42]. Принимая во внимание, что большинство биохимических процессов в организме связаны между собой, становится ясно, что для лучшей диагностики необходимо использовать панель из нескольких биомаркеров–метаболитов.

Одно из потенциальных применений метаболомики – это идентификация профилей метаболитов в биологических жидкостях организма, способных предсказать эффективность и токсичность лекарств (т.н. фармакометабономика). Метаболический профиль отображает метаболизм ксенобиотиков в организме. То есть, метаболический профиль, содержит всю информацию необходимую для расчета эффективной дозы лекарственного средства для конкретного больного, учитывающую не только особенности индивидуальной фармакокинетики лекарственного вещества, но и реакцию организма на него [45-48].

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ.** В последнее время в клинических исследованиях все больше возрастает роль метаболического профилирования как с целью поиска биомаркеров заболеваний и изучения развивающихся при этом в организме процессов, так и оценки эффективности и токсичности лекарственных препаратов. По причине низких затрат на проведение анализа и полноты получаемой информации обо всех процессах, протекаемых в организме, метаболомные исследования являются наиболее эффективными постгеномными исследованиями. Они позволяют учесть влияние всех возможных факторов (как эндогенных, так и экзогенных), оказывающих

влияние на организм, и уже на основании этих данных сделать необходимое заключение как о механизме заболевания, диагностических маркерах, так и предсказывать индивидуальные вариации ответа на введение лекарственных средств. Комбинируя результаты метаболического профилирования с данными геномных, транскриптомных и протеомных исследований можно получить более полную информацию для понимания механизмов развития болезни и результатов лекарственной терапии. Анализ метаболомного профиля крови, позволяющий единовременно получить информацию о сотнях и тысячах метаболитов, уже сейчас показывает значимые результаты в решении большого количества научных и клинических задач. Однако, как и в других профилирующих платформах – протеомике, транскриптомике и геномике, – цель которых состоит в поиске клинически значимых биомаркеров, важную роль для получения качественных результатов играет валидация. Поэтому на фоне развития новых аналитических и инструментальных методов и новых информационных подходов для метаболомных исследований с биологическим или клиническим аспектом требуется стандартизация, правильное планирование эксперимента и качество проверки полученных результатов.

Данная работа поддержана программой “Протеомика в медицине и биотехнологии” Российской Академии Медицинских Наук и государственным контрактом №16.522.12.2002 Министерства Образования и Науки Российской Федерации.

## ЛИТЕРАТУРА

1. *Nicholson J.K., Lindon J.C.* (2008) *Nature*, **455**, 1054-1056.
2. *Atherton H.J., Gulston M.K., Bailey N.J., Cheng K.K., Zhang W., Clarke K., Griffin J.L.* (2009) *Mol. Syst. Biol.*, **5**, 259.
3. *Schnackenberg L.K.* (2007) *Expert Rev. Mol. Diagn.*, **7**, 247-259.
4. *Richards S.E., Dumas M.E., Fonville J.M., Ebbels T.M.D., Holmes E., Nicholson J.K.* (2010) *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, **104**, 121-131.
5. *Dunn W.B., Broadhurst D.I., Atherton H.J., Goodacre R., Griffin J.L.* (2011) *Chem. Soc. Rev.*, **40**, 387-426.
6. *Barrett D.* (2012) *Bioanalysis*, **4**, 643-644.
7. *Schnackenberg L.K., Beger R.D.* (2006) *Pharmacogenomics*, **7**, 1077-1086.
8. *Kell D.B., Oliver S.G.* (2004) *Bioessays*, **26**, 99-105.
9. *Psychogios N., Hau D.D., Peng J., Guo A.C., Mandal R., Bouatra S., Sinelnikov I., Krishnamurthy R., Eisner R., Gautam B., Young N., Xia J., Knox C., Dong E., Huang P., Hollander Z., Pedersen T.L., Smith S.R., Bamforth F., Greiner R., McManus B., Newman J.W., Goodfriend T., Wishart D.S.* (2011) *PLoS One*, **6**, e16957.
10. *Brindle J.T., Antti H., Holmes E., Tranter G., Nicholson J.K., Bethell H.W., Clarke S., Schofield P.M., McKilligin E., Mosedale D.E., Grainger D.J.* (2002) *Nat. Med.*, **8**, 1439-1444.
11. *Kirschenlohr H.L., Griffin J.L., Clarke S.C., Rhydwen R., Grace A.A., Schofield P.M., Brindle K.M., Metcalfe J.C.* (2006) *Nat. Med.*, **12**, 705-710.
12. *Vaidyanathan S., Kell D.B., Goodacre R.* (2002) *J. Am. Soc. Mass. Spectrom.*, **13**, 118-128.

13. *Ellis D.I., Dunn W.B., Griffin J.L., Allwood J.W., Goodacre R.* (2007) *Pharmacogenomics*, **8**, 1243-1266.
14. *Schauer N., Steinhauser D., Strelkov S., Schomburg D., Allison G., Moritz T., Lundgren K., Roessner-Tunali U., Forbes M.G., Willmitzer L., Fernie A.R., Kopka J.* (2005) *FEBS Lett.*, **579**, 1332-1337.
15. *Begley P., Francis-McIntyre S., Dunn W.B., Broadhurst D.I., Halsall A., Tseng A., Knowles J., Goodacre R., Kell D.B.* (2009) *Anal. Chem.*, **81**, 7038-7046.
16. *Wang X., Sun H., Zhang A., Wang P., Han Y.* (2011) *J. Sep. Sci.*, **34**, 3451-3459.
17. *Wilson I.D., Nicholson J.K., Castro-Perez J., Granger J.H., Johnson K.A., Smith B.W., Plumb R.S.* (2005) *J. Proteome Res.*, **4**, 591-598.
18. *Wang Y., Lehmann R., Lu X., Zhao X., Xu G.* (2008) *J. Chromatogr. A*, **1204**, 28-34.
19. *Monton M.R., Soga T.* (2007) *J. Chromatogr. A*, **1168**, 237-246; discussion 236.
20. *Baidoo E.E., Benke P.I., Neuss C., Pelzing M., Kruppa G., Leary J.A., Keasling J.D.* (2008) *Anal. Chem.*, **80**, 3112-3122.
21. *Beckwith-Hall B.M., Nicholson J.K., Nicholls A.W., Foxall P.J., Lindon J.C., Connor S.C., Abdi M., Connelly J., Holmes E.* (1998) *Chem. Res. Toxicol.*, **11**, 260-272.
22. *Goodacre R., Vaidyanathan S., Dunn W.B., Harrigan G.G., Kell D.B.* (2004) *Trends Biotechnol.*, **22**, 245-252.
23. *Scholz M., Gatzek S., Sterling A., Fiehn O., Selbig J.* (2004) *Bioinformatics*, **20**, 2447-2454.
24. *Smilde A.K., Jansen J.J., Hoefsloot H.C., Lamers R.J., van der Greef J., Timmerman M.E.* (2005) *Bioinformatics*, **21**, 3043-3048.
25. *Vis D.J., Westerhuis J.A., Smilde A.K., van der Greef J.* (2007) *BMC Bioinformatics*, **8**, 322.
26. *Jonsson P., Bruce S.J., Moritz T., Trygg J., Sjostrom M., Plumb R., Granger J., Maibaum E., Nicholson J.K., Holmes E., Antti H.* (2005) *Analyst*, **130**, 701-707.
27. *Linden A.* (2006) *J. Eval. Clin. Pract.*, **12**, 132-139.
28. *Westergren A., Karlsson S., Andersson P., Ohlsson O., Hallberg I.R.* (2001) *J. Clin. Nurs.*, **10**, 257-269.
29. *Bland J.M., Altman D.G.* (2000) *BMJ*, **320**, 1468.
30. *Broeckling C.D., Reddy I.R., Duran A.L., Zhao X., Sumner L.W.* (2006) *Anal. Chem.*, **78**, 4334-4341.
31. *Baran R., Kochi H., Saito N., Suematsu M., Soga T., Nishioka T., Robert M., Tomita M.* (2006) *BMC Bioinformatics*, **7**, 530.
32. *Luedemann A., Strassburg K., Erban A., Kopka J.* (2008) *Bioinformatics*, **24**, 732-737.
33. *Denkert C., Budczies J., Weichert W., Wohlgemuth G., Scholz M., Kind T., Niesporek S., Noske A., Buckendahl A., Dietel M., Fiehn O.* (2008) *Mol. Cancer*, **7**, 72.
34. *Burtis C.A., Ashwood E.R., Bruns D.E., Tietz N.W.* (2008) *Tietz fundamentals of clinical chemistry*. St. Louis, Mo.: Saunders Elsevier.
35. *Wishart D.S., Tzur D., Knox C., Eisner R., Guo A.C., Young N., Cheng D., Jewell K., Arndt D., Sawhney S., Fung C., Nikolai L., Lewis M., Coutouly M.A., Forsythe I., Tang P., Shrivastava S., Jeroncic K., Stothard P., Amegbey G., Block D., Hau D.D., Wagner J., Miniaci J., Clements M., Gebremedhin M., Guo N., Zhang Y., Duggan G.E., Macinnis G.D., Weljie A.M., Dowlatabadi R., Bamforth F., Clive D., Greiner R., Li L., Marrie T., Sykes B.D., Vogel H.J., Querengesser L.* (2007) *Nucleic Acids Res.*, **35** (Database issue), D521-526.



36. Wishart D.S., Knox C., Guo A.C., Eisner R., Young N., Gautam B., Hau D.D., Psychogios N., Dong E., Bouatra S., Mandal R., Sinelnikov I., Xia J., Jia L., Cruz J.A., Lim E., Sobsey C.A., Shrivastava S., Huang P., Liu P., Fang L., Peng J., Fradette R., Cheng D., Tzur D., Clements M., Lewis A., De Souza A., Zuniga A., Dawe M., Xiong Y., Clive D., Greiner R., Nazyrova A., Shaykhutdinov R., Li L., Vogel H.J., Forsythe I. (2009) *Nucleic Acids Res.*, **37** (Database issue), D603-610.
37. Lin L., Yu Q., Yan X., Hang W., Zheng J., Xing J., Huang B. (2010) *Analyst*, **135**, 2970-2978.
38. Kaddurah-Daouk R., Krishnan K.R. (2009) *Neuropsychopharmacology*, **34**, 173-186.
39. Lokhov P.G., Kharybin O.N., Archakov A.I. (2012) *Int. J. Mass Spectr.*, **309**, 200-205.
40. Lokhov P.G., Dashtiev M.I., Moshkovskii S.A., Archakov A.I. (2010) *Metabolomics*, **6**, 156-163.
41. Sabatine M.S., Liu E., Morrow D.A., Heller E., McCarroll R., Wiegand R., Berriz G.F., Roth F.P., Gerszten R.E. (2005) *Circulation*, **112**, 3868-3875.
42. Wang T.J., Larson M.G., Vasan R.S., Cheng S., Rhee E.P., McCabe E., Lewis G.D., Fox C.S., Jacques P.F., Fernandez C., O'Donnell C.J., Carr S.A., Mootha V.K., Florez J.C., Souza A., Melander O., Clish C.B., Gerszten R.E. (2011) *Nat. Med.*, **17**, 448-453.
43. Odunsi K., Wollman R.M., Ambrosone C.B., Hutson A., McCann S.E., Tammela J., Geisler J.P., Miller G., Sellers T., Cliby W., Qian F., Keitz B., Intengan M., Lele S., Alderfer J.L. (2005) *Int. J. Cancer*, **113**, 782-788.
44. Sun J., Shannon M., Ando Y., Schnackenberg L.K., Khan N.A., Portilla D., Beger R.D. (2012) *J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.*, **893-894**, 107-113.
45. Gutiu I.A., Andries A., Radulescu F., Georgescu A-M., Cioaca D. (2010) *Rom. J. Intern. Med.*, **48**, 187-191.
46. Kaddurah-Daouk R., Kristal B.S., Weinshilboum R.M. (2008) *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **48**, 653-683.
47. Schnackenberg L.K., Beger R.D. (2008) *Toxicol. Mech. Methods*, **18**, 301-311.
48. Lindon J.C., Holmes E., Nicholson J.K. (2006) *Pharm. Res.*, **23**, 1075-1088.
49. Metz C.E. (1978) *Semin. Nucl. Med.*, **8**, 283-298.

Поступила: 03. 09. 2012.



**METABOLIC PROFILING OF HUMAN BLOOD**

*O.P. Trifonova, P.G. Lokhov, A.I. Archakov*

Orehovich Institute of Biomedical Chemistry, Russian Academy of Medical Sciences,  
ul. Pogodinskaya, 10, Moscow, 119121 Russia; fax: (499) 245-0857;  
e-mail: oxana.trifonova@gmail.com

Metabolomics is a novel “omics” branch of science intended for studying a comprehensive set of low molecular weight substances (metabolites) of various biological objects. Metabolite profiles represent a molecular phenotype of biological systems and reflect information encoded at the genome level and realized at the transcriptome and proteome levels. Analysis of human blood metabolic profile is universal and promising tool for clinical applications because it is a sensitive measure of both endogenous and exogenous (environmental) factors affected on the patient's organism. Technical implementation of metabolic profiling of blood and statistic analysis of metabolite profiles for effective diagnostics and risk assessments of diseases are discussed in this review.

**Key words:** metabolomics, metabolite profile, mass-spectrometry, blood plasma/serum.