

©Коллектив авторов

МЕТАБОЛОМНЫЙ АНАЛИЗ КРОВИ ДЛЯ СОЗДАНИЯ ЦИФРОВОГО ОБРАЗА ЗДОРОВОГО ЧЕЛОВЕКА

О.П. Трифонова^{1*}, Е.Е. Балашова¹, Д.Л. Маслов¹, А.И. Григорьев²,
А.В. Лисица¹, Е.А. Пономаренко¹, А.И. Арчаков¹

¹Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича,
119121, Москва, ул. Погодинская, 10; *эл. почта: oxana.trifonova@gmail.com

²Государственный научный центр Российской Федерации — Институт медико-биологических проблем,
123007, Москва, Хоросhevское шоссе, 76А

Систематизированы данные по внедрению метаболомных тестов в медицину. Основываясь на полученных данных, предложена совокупность протоколов, последовательная реализация которых позволяет провести метаболомный анализ крови для медицинских целей. Используя данный анализ и выборку образцов крови здоровых добровольцев, разработан прототип метаболомного образа здорового человека, позволяющий наглядно и в цифровом выражении оценить соответствие метаболома крови человека норме. При этом оценивается 99% метаболических процессов, отраженных в плазме крови. В случае выявления отклонений метаболомный образ позволяет получить в цифровом выражении величину этих отклонений метаболических процессов.

Ключевые слова: метаболомика; прецизионная медицина; лабораторная диагностика; метаболом крови; прямая масс-спектрометрия; цифровой образ человека

DOI: 10.18097/PBMC20206603216

ВВЕДЕНИЕ

В научной литературе накоплено множество примеров применения “омных” технологий в медицинских целях, результаты которых являются многообещающими в случае их внедрения [1-4]. Практически каждое научное метаболомное исследование крови, направленное на диагностику заболеваний, является успешным; точность диагностики при этом достигает 90-95% [5-15]. Более того, уже описана метаболическая картина многих нозологий [16]. Однако, несмотря на неоспоримые преимущества “омных” тестов перед существующими диагностическими системами и большие перспективы от их применения, их внедрение в клиническую практику происходит очень медленно. В первую очередь это связано с тем, что до сих пор отсутствуют регламентирующие процедуры и стандарты для прохождения пути от создания прототипа “омного” диагностического метода до его реализации в виде клинического анализа [17]. Отсутствие стандартизированных протоколов, а также общепринятых критериев оценки достоверности “омных” тестов привело к тому, что некоторые учёные поставили под сомнение достоверность данных технологий, предполагая, что использование их в клинике будет бесполезным [18-22]. Другие ученые, считающие “омные” тесты перспективными для клиники, наоборот, стали разрабатывать стратегию их внедрения, создавая необходимые стандарты и протоколы [4, 23-25]. Так, при поддержке National Cancer Institute (NCI), Food and Drug Administration (FDA), Centers for Disease Control and Prevention, U.S. Department of Veterans Affairs, American Society for Clinical Pathology и College of American Pathologists,

Institute of Medicine (IOM) был призван определить критерии и процесс оценки достоверности создаваемых для клиники тестов. IOM назначил комитет по рассмотрению “омных” тестов (“Committee on the Review of Omics-Based Tests for Predicting Patient Outcomes in Clinical Trials”), в состав которого вошли специалисты, обладающие широким диапазоном знаний и опыта, включая экспертов “омных” технологий. Результаты своей деятельности комитет представил в книге “Evolution of Translational Omics: Lessons Learned and the Path Forward”, изданной в 2012 году (National Academies Press) [1]. В результате работы комитета были созданы критерии для подготовки “омных” тестов к клиническим испытаниям на людях [2]. Создание “омных” тестов в соответствии с данными критериями, в частности написание для них новых протоколов, отражает современное представление о пути внедрения данных тестов в клиническую практику.

В США есть практика так называемых лабораторно-локализованных тестов (laboratory developed test, LDT), когда тест для *in vitro* диагностики разрабатывается, изготавливается и используется в одной определённой лаборатории [26]. Ряд таких тестов был разработан и используется компанией METABOLON® в CLIA (Clinical Laboratory Improvement Amendments)-сертифицированной/CAP (College of American Pathologists)-аккредитованной лаборатории. Например, для диагностики метаболических нарушений у детей — MetaIMD™ и MetaIMD™+ (<https://www.metabolon.com/who-we-serve/clinical-consumer-applications/meta-imd>). Данный тест позволяет определить более 866 метаболитов в 250 мкл ЭДТА-плазмы. Тест Meta UDx™ разработан и для взрослых, и для детей и позволяет определять

до 1000 метаболитов в плазме крови и на выходе получать тепловую карту (англ. heatmap) списка метаболитов с указанием Z-score, на основе чего можно выделить изменённые метаболитические пути. Однако данные тесты позиционируются как дающие предварительные результаты для последующих подтверждающих тестов. Кроме того, компанией предлагаются и клинически подтверждённые тесты на инсулинорезистентность QUANTOSE® IR и нарушенную толерантность к глюкозе QUANTOSE® IGT. Результат (score) теста Quantose IR определяется по разработанному компанией алгоритму на основе измерения α -гидроксibuтирата, олеиновой кислоты, линолеоил-глицерофосфохолина и инсулина, теста Quantose IGT — комбинации глюкозы и ещё 7 биомаркеров, связанных с дисгликемией, включая α -гидроксibuтират, олеиновую кислоту и линолеоил-глицерофосфохолин. Следует учитывать, что данные тесты не были одобрены FDA и могут использоваться только как вспомогательные и вместе с другими стандартными клиническими диагностическими исследованиями. В РФ нет закона, позволяющего использовать не одобренные Минздравом тесты.

Кроме формальных ограничений для разработки и применения новых лабораторных тестов на основе метаболомики большую роль играет сложность интерпретации полученных данных, особенно если это касается крови. Метаболомика — одна из мультидисциплинарных областей, где требуются экспертные знания биологии, аналитической химии, статистики и биоинформатики [27, 28]. Автоматизированная обработка данных удобным для пользователя программным обеспечением и базами данных является единственным выходом для внедрения. В частности, следует предпринять усилия по разработке более открытых веб-платформ анализа данных. Это поможет сделать интерпретацию данных более надёжной и откроет новые возможности для трансляционных метаболомных исследований. С другой стороны, важна ещё и точность количественного определения метаболитов (относительная или абсолютная), особенно если речь идет о диагностике заболевания на преคลินิกеской стадии. Точная количественная оценка зависит от многих факторов, в том числе от эффективности экстракции метаболитов из проб, повторяемости и воспроизводимости этих этапов и инструментального анализа, а также от факторов, которые могут привести к искажению результатов, например, нечистые аналитические стандарты или влияние матрицы. Поэтому необходимо постоянно проводить контроль качества на всех этапах метаболомного исследования; это поможет избежать неточной количественной оценки метаболитов, которая способствует ошибочной биологической интерпретации [29]. В 2007 году для мониторинга и выработки протоколов стандартизации рабочего процесса выполнения метаболомных исследований и общих подходов анализа был создан комитет по надзору под названием “The metabolomics standards initiative (MSI)”. В 2011 году были опубликованы требования стандартных операционных процедур (Standard

operating procedures, SOP), которые следует выполнять в ходе исследования, включая определение дизайна эксперимента, получение данных и их проверку (валидацию) [30].

Ещё одним препятствием на пути внедрения метаболомного анализа является высокая стоимость его проведения, что обычно касается стоимости используемых технологических платформ. Так как метаболиты относятся к разным классам химических соединений и поэтому обладают большим спектром химических свойств, невозможно проанализировать весь метаболом какого-либо биологического объекта (биологическая жидкость, клетка, ткань, организм) с использованием только одной технологической платформы — GC-MS, LC-MS или ЯМР [31]. Кроме того, концентрация метаболитов может варьировать в широком диапазоне от г/л до нг/л и меньше [32]. Поэтому довольно сложно в одной лаборатории собрать все необходимые инструменты для проведения метаболомного анализа (и соответствующий персонал). Метаболиты сильно различаются ещё и по своей стабильности и времени распада в клетках организма. Некоторые нестабильны в присутствии кислорода или света, или различных температур, или в других аналитических условиях, что может создать сложности при пробоподготовке образцов, а также инструментальном анализе. Например, пробоподготовка для анализов витаминов очень сложна, так как их деградация может происходить под действием прямого света. Поэтому в настоящее время не существует универсального аналитического метода для количественной оценки полного объёма всех существующих метаболитов, присутствующих в широком диапазоне концентраций в анализируемых биологических образцах [33].

Ещё одним препятствием для трансляционных возможностей в метаболомике, как и в других “омиках”, является сложность результатов с точки зрения количества измеряемых параметров [34]. Если посмотреть на большинство опубликованных метаболомных исследований, то видно, что для разделения образцов по признаку “случай-контроль” (case-control) используется анализ главных компонент (Principal Component Analysis, PCA) или иерархический кластерный анализ (Hierarchical Cluster Analysis, HCA), необходимые для упрощения анализируемых данных и уменьшения количества переменных. Основная проблема заключается в том, что разработка рутинного теста или портативного устройства может оказаться недостижимой, если эти результаты получены с использованием сотни различных метаболитов. В этом случае коммерциализация мульти-тестов более трудоёмкая, чем при измерении несколько аналитов. Кроме того, мультивариационный анализ возможен только для исследований типа случай-контроль (case-control) и не работает на стандартном клиническом уровне из-за внутри- и межиндивидуальных колебаний.

Таким образом, создание метаболомного образа здорового человека возможно только путём последовательной реализации хорошо документированных процедур, последовательно

решающих проблемы чувствительности, стандартизации, воспроизводимости результатов метаболомного анализа. В качестве биоматериала, метаболомный анализ которого является молекулярным образом здорового человека, была выбрана плазма крови как наиболее информативный и одновременно доступный биоматериал для анализа.

1. МЕТАБОЛОМНЫЙ ПРОФИЛЬ КРОВИ: ПРОБОПОДГОТОВКА И ОСОБЕННОСТИ АНАЛИЗА

В создании метаболомного профиля здорового человека использовали результаты метаболомного анализа образцов плазмы крови 190 здоровых добровольцев, предоставленных Государственным научным центром Российской Федерации – Институтом медико-биологических проблем (ГНЦ РФ ИМБП РАН), Федеральным исследовательским центром питания и биотехнологии и Национальным медицинским исследовательским центром онкологии им. Н.Н. Блохина в рамках научно-технического сотрудничества. Для анализа низкомолекулярной фракции плазмы крови использовали метод осаждения белков раствором метанола, хорошо зарекомендовавший себя в работах лаборатории масс-спектрометрической метаболомной диагностики Института биомедицинской химии по анализу метаболомного профиля плазмы крови для диагностики нарушенной толерантности к глюкозе и болезни Паркинсона [10, 12]. Масс-спектрометрический анализ образцов выполняли на гибридном квадруполь-времяпролетном масс-спектрометре с электроспрейным источником ионизации *maXis Impact* (“Bruker Daltonik”, Германия) методом прямой инъекции как описано в работах Лохова и соавт. [10, 12]. Предварительную обработку масс-спектров проводили в программе *DataAnalysis 4.1* (“Bruker Daltonics”) суммированием записанных сигналов. Дополнительную внутреннюю калибровку спектров проводили по характерным высокоинтенсивным пикам на всем диапазоне регистрируемых *m/z*. Детекцию пиков в спектрах осуществляли по следующим параметрам: количество точек на пик — 2; отношение интенсивности сигнала к шуму — 1; отсечение по относительной и абсолютной интенсивности — 0,01% и 100 соответственно. Интенсивность масс-спектрометрических пиков нормировали.

Выравнивание масс-спектрометрических пиков, то есть соотнесение измеренных масс одних и тех же метаболитов в разных спектрах, является необходимым этапом обработки масс-спектрометрических данных. Выравнивание проводили, используя алгоритм, представленный в работе Лохова и соавт. [12].

При метаболомных измерениях в одном образце биоматериала детектируют множество веществ. В случае анализа образцов биологических жидкостей это обеспечивает большой диагностический потенциал. Однако подобные измерения, как правило, связаны с представлением концентрации веществ в условных единицах. Например, при масс-спектрометрическом анализе метаболома плазмы крови концентрации

веществ выражены значениями интенсивности массовых пиков. Интенсивность этих массовых пиков выражается в условных единицах и зависит от типа прибора, его модели, настроек, рабочего состояния и т.д. Однако, условные единицы, успешно используемые в многочисленных научных исследованиях типа “случай-контроль”, не подходят для лабораторной диагностики. В исследованиях “случай-контроль” образцы обычно анализируются в одинаковых условиях и сравниваются друг с другом. Это позволяет избежать необходимости определения фактических концентраций анализируемых веществ. Однако для преобразования интенсивностей массовых пиков в фактические концентрации, что является обязательным для медицинских целей, для каждого вещества необходимо построить калибровочные кривые. Этот процесс представляет собой серьезную проблему из-за количества веществ, обнаруженных в метаболомных измерениях, а также ограниченного количества коммерчески доступных химических стандартов, необходимых для построения калибровочных кривых.

С целью устранения вышеупомянутой проблемы был проведен анализ существующих методов определения фактического содержания веществ в биологических образцах, используемых в метаболомных исследованиях. Среди существующих способов, пригодных для метаболомики, есть способы, основанные на применении химических стандартов [35]. Проведя измерение известного и коммерчески доступного химического стандарта вещества, можно подобрать условия на измерительном приборе, когда химический стандарт даёт чёткий измерительный сигнал и можно записать его параметры, указывающие на его концентрацию в биопробе. Подобное можно повторить с химическими стандартами многих веществ. Если настройки измерительного прибора будут идентичны для группы химических стандартов веществ, то можно провести анализ биоматериала и измерить в нем концентрацию веществ из этой группы.

Однако данный подход в случае измерений концентрации множества веществ, а не ограниченной группы, имеет свои недостатки. Так, необходимо иметь химические стандарты для каждого анализируемого вещества. Для большинства веществ не существует соответствующих им коммерчески или как-то иначе доступных химических стандартов. Замер параметров измерительного сигнала для каждого химического стандарта вещества также представляет серьезную проблему ввиду трудоёмкости. Кроме того, использование значительного числа химических чистых стандартов существенно повышает стоимость анализа. Совокупность этих проблем ограничит применение данного подхода в медицине. Как правило, в данном случае возможно единовременное измерение только небольшого количества похожих веществ, например измерение сходных по структуре стероидных гормонов.

Среди существующих способов, пригодных для измерения фактической концентрации нескольких веществ, есть способы, основанные на применении

изотопно-меченых аналогов. Однако этим способом присущи все вышеописанные недостатки, связанные с применением химических стандартов.

С учётом критического анализа возможных методов, применимых для фактического измерения концентрации веществ, мы полагаем, что на текущий момент оптимальным является математическая стандартизация данных (представляющая компромисс в сложившейся ситуации при измерении множества веществ в ходе метаболомного анализа). Наиболее приемлемым вариантом является предложенный Лоховым и соавт. [36] алгоритм стандартизации масс-спектрометрических данных, позволяющий применять метаболомные данные в клинической практике.

Согласно данному алгоритму, берется фрагмент масс-спектра шириной m/z 50 в начале масс-спектра (то есть в начале масс-спектра с самыми низкими значениями m/z). Масс-спектрометрические пики, расположенные внутри фрагмента, ранжируют в порядке уменьшения их интенсивности. Кривая, аппроксимирующая значения интенсивности, строится с использованием аппроксимирующей функции $y = ax^b + c$. Устанавливается точка изгиба этой кривой путём нахождения первой и второй производных, которая и определяет величину нормализации для значения m/z в середине выбранного фрагмента. Итеративно, пока весь масс-спектр не будет обработан, стандартизируемый фрагмент сдвигают на m/z 1 и все вычисления повторяют. Рассчитанные точки нормализации аппроксимируют кривой (называемой кривой нормализации) с использованием аппроксимирующей функции. Чтобы получить масс-спектр в безразмерном независимом от прибора масштабе, интенсивность каждого массового пика делят на значение кривой нормализации в точке m/z соответствующего пика.

Таким образом, плазма крови имеет набор стабильных внутренних стандартов. Надлежащее использование этих недавно открытых внутренних стандартов обеспечивает основу для стандартизации метаболомных данных без химических стандартов. Используя точку перегиба, метаболомные данные могут быть преобразованы в стандартизованную шкалу, которая может заменить фактические измерения концентрации, делая данные метабомики сопоставимыми друг с другом, а также со справочными данными, представленными в той же шкале.

2. ЦИФРОВОЙ ОБРАЗ ЗДОРОВОГО ЧЕЛОВЕКА НА ОСНОВЕ МЕТАБОЛОМНЫХ ДАННЫХ

С момента зарождения метабомики как науки и в процессе развития метаболомных методов анализа было апробировано множество статистических алгоритмов для обработки метаболомных данных, полученных с помощью масс-спектрометрического анализа. Со временем были отобраны наиболее эффективные методы, которые стали общепринятыми для метабомики. В экспериментах, включающих метаболический фингерпринтинг, когда классификация образцов проводится на основе

метаболомных данных, чаще всего используют иерархический кластерный анализ и метод главных или независимых компонент (principal component analysis (PCA) и independent component analysis (ICA) соответственно) [37]. В метаболомных исследованиях метод PCA считается наиболее распространённым и его можно реализовать при помощи большинства статистических программ [38, 39].

Перед проведением PCA масс-спектров здоровых добровольцев масс-спектрометрические данные были ранжированы согласно представленности масс-спектрометрических пиков в масс-спектрах разных образцов плазмы крови (рис. 1). Это позволило наглядно продемонстрировать наличие трёх видов данных (кластеров) в масс-спектрах. Первый кластер включает масс-спектрометрические пики, как правило, присутствующие во всех спектрах (3581 масс-спектрометрический пик). Ко второму кластеру относятся масс-спектрометрические пики, появляющиеся с той или иной частотой в масс-спектрах. К последнему (третьему) кластеру относятся масс-спектрометрические пики, эпизодически появляющиеся в отдельных масс-спектрах.

Наличие огромного количества пробелов в кластере 2 и кластере 3 указывает на их связь с метаболитами, сигнал от которых близок к пределу детекции метода, а также на их возможное отношение к индивидуальным особенностям метаболического профиля конкретного человека. Кластер 1 относится к чётко регистрируемым метаболитам, присутствующим у всех здоровых людей, что делает его целевым для построения метаболомного образа здорового человека. Результат PCA данного кластера показан на рисунке 2.

Следует отметить, что для полноценного описания метаболома здорового человека необходимо использовать не менее 40 принципиальных компонент. Согласно PCA, первые 40 компонент описывают 99% вариативности, представленной в кластере 1. Для визуализации в 40-мерном пространстве классический вариант представления данных PCA не подходит, так как он ограничен трёхмерным пространством. Поэтому каждый главный компонент для каждого масс-спектра был оценен с помощью Z-score. Z-score или стандартизованная оценка (z-оценка) — это мера относительного разброса, наблюдаемого или измеренного значения, которая показывает, сколько стандартных отклонений составляет его разброс относительного среднего значения. Данный статистический показатель является безразмерным и поэтому может использоваться для сравнения значений разной размерности или шкалой измерений. Полученные значения Z-score были нормализованы делением на 1,64 (соответствует границе нормы для нормального распределения). Все полученные 40 значений Z-score для каждого масс-спектра представляли в виде радиального графика (рис. 3).

Данная диаграмма позволяет визуально и практически моментально оценить соответствие метаболома человека норме. Для этого все 40 значений не должны превышать порогового значения, равного 1.

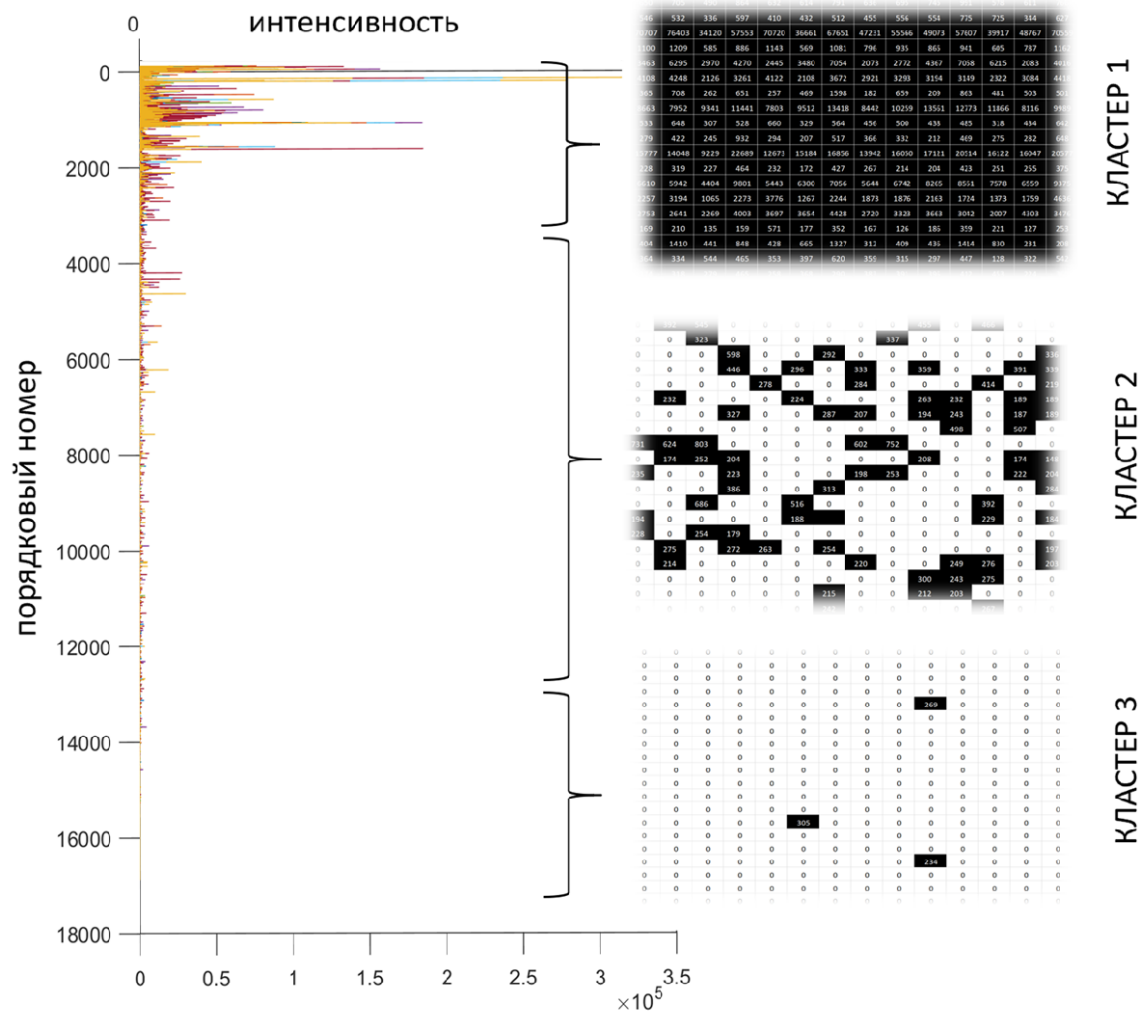


Рисунок 1. Визуализация основных кластеров в масс-спектрометрических данных плазмы крови человека. Слева массив масс-спектрометрических данных, ранжированный сверху вниз по наличию в нем данных (присутствие или отсутствие массовых пиков). Справа указаны основные кластеры и показаны их фрагменты. Ячейки, отмеченные чёрным цветом, имеют значения интенсивностей масс-спектрометрических пиков отличные от нуля.

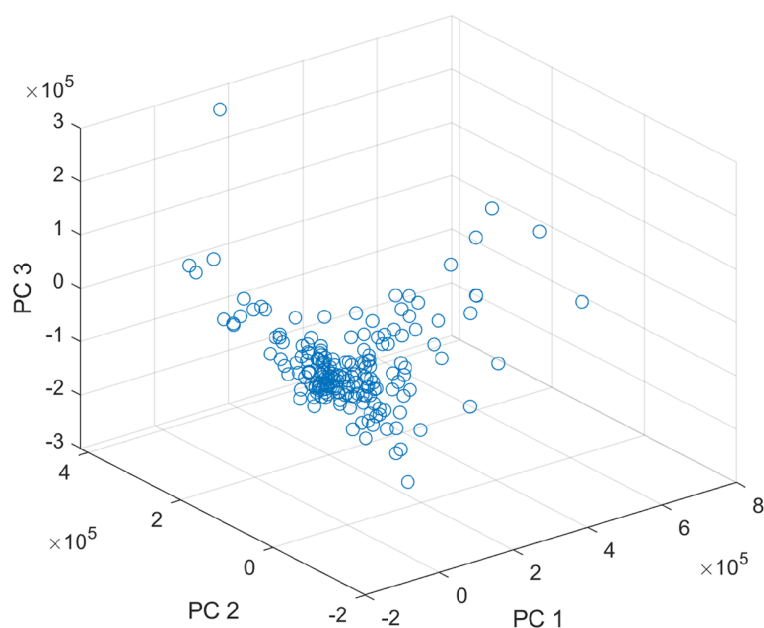


Рисунок 2. PCA кластера 1.

Если же какой-то из процессов вышел за рамки нормы, то по соответствующему ему значению на диаграмме можно точно и в числовом выражении оценить степень его отклонения от нормы. Также с точностью до сотых долей процента можно указать, какая часть метаболических процессов, протекающих в организме, относится к выявленному нарушению.

- номер цифрового образа, согласно внутренней нумерации организации, осуществившей получение метаболомных данных и перевод их в двумерный символ согласно QR-кодировке (рядом указывается сокращенное название организации);

- На рисунке 4 представлен пример такого кода цифрового метаболомного образа здорового человека и его расшифровка.

В работе проанализированы объективные сложности внедрения метаболомных тестов в медицинскую практику и предложен протокол анализа многомерных масс-спектрометрических данных для формирования цифрового образа здорового человека. В результате работы по проекту был разработан прототип метаболомного образа здорового человека, позволяющего визуально и практически моментально оценить соответствие метаболома крови человека норме. При этом оценивается 99% метаболических процессов, отраженных в плазме крови. В случае выявления отклонений визуально и в цифровом выражении будет получена величина этих отклонений, а также размер затрагиваемых метаболических процессов с точностью до сотых долей процента.



ID(p):4509060230 / 345435674587 IBMC /
PMID: 25762595 / 1_1
27/2/2019

38% - 0.42, 17% - 0.38, 13% - 0.1, 8% - 0.05, 5% - 0.03, 2.5% - 0.3, 2.3% - 0.025, 1.8% - 0.5, 1.5% - 0.1, 1.2% - 0.3, 1.0% - 0.4, 0.74% - 0.25, 0.61% - 0.5, 0.49% - 1.0, 0.46% - 0.45, 0.42% - 0.25, 0.38% - 0.62, 0.36% - 0.8, 0.34% - 0.45, 0.29% - 0.1, 0.26% - 0.75, 0.25% - 0.35, 0.22% - 0.1, 0.19% - 0.55, 0.17% - 0.2, 0.16% - 0.6, 0.15% - 0.4, 0.13% - 0.2, 0.13% - 0.25, 0.11% - 0.06, 0.11% - 0.28, 0.09% - 0.55, 0.09% - 0.48, 0.08% - 0.77, 0.07% - 0.08, 0.06% - 0.1.

Рисунок 4. Пример QR кода цифрового метаболомного образа здорового человека и его расшифровка.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена в рамках Программы фундаментальных научных исследований государственных академий наук на 2013-2020 годы.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием людей или с использованием животных в качестве объектов.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

- Micheel C.M., Nass S.J., Omenn G.S., Policy H.S. (2012) Institute of Medicine Committee on the Review of Omics-Based Tests for Predicting Patient Outcomes in Clinical Trials. Evolution of translational omics: lessons learned and the path forward. Washington (DC): National Academies Press (US).
- McShane L.M., Cavenagh M.M., Lively T.G., Eberhard D.A., Bigbee W.L., Williams P.M., Mesirov J.P., Polley M.Y., Kim K.Y., Tricoli J.V., Taylor J.M., Shuman D.J., Simon R.M., Doroshow J.H., Conley B.A. (2013) *Nature*, **502**(7471), 317-320.
- Bossuyt P.M. (2014) *Clin. Chem.*, **60**(10), 1256-1257.
- Moshkovskii S., Pyatnitsky M., Lokhov P., Baranova A. (2015) OMICS for tumor biomarker research. In: Biomarkers in Disease: Methods, Discoveries and Applications: Biomarkers in Cancer. Springer, Netherlands, pp. 3-30.
- Cobb J., Gall W., Adam K.P., Nakhle P., Button E., Hathorn J., Lawton K., Milburn M., Perichon R., Mitchell M., Natali A., Ferrannini E. (2013) *J. Diabetes Sci. Technol.*, **7**(1), 100-110.
- Jelonek K., Widlak P. (2018) *Contemp. Oncol. (Pozn.)*, **22**(3), 135-140.
- Lokhov P.G., Voskresenskaya A.A., Trifonova O.P., Maslov D.L., Shestakova E.A., Balashova E.E., Lisitsa A.V. (2015) *Int. J. Mass Spectrom.*, **388**, 53-58.
- Lokhov P.G., Dashtiev M.I., Moshkovskii S.A., Archakov A.I. (2010) *Metabolomics*, **6**, 156-163.
- Lokhov P.G., Kharybin O.N., Archakov A.I. (2012) *Int. J. Mass Spectrom.*, **309**, 200-205.
- Lokhov P.G., Trifonova O.P., Maslov D.L., Archakov A.I. (2013) *Eur. J. Cancer Prev.*, **22**(4), 335-341.
- Lokhov P.G., Trifonova O.P., Maslov D.L., Balashova E.E., Archakov A.I., Shestakova E.A., Shestakova M.V., Dedov I.I. (2014) *PLoS One*, **9**(9), e105343. DOI: 10.1371/journal.pone.0105343.
- Lokhov P.G., Balashova E.E., Voskresenskaya A.A., Trifonova O.P., Maslov D.L., Archakov A.I. (2016) *Biomed. Rep.*, **4**(1), 122-126.
- Balashova E.E., Lokhov P.G., Maslov D.L., Trifonova O.P., Khasanova D.M., Zalyalova Z.A., Nigmatullina R.R., Archakov A.I., Ugrumov M.V. (2017) *Current Metabolomics*, **6**(1), 75-82.
- Lokhov P.G., Balashova E.E., Trifonova O.P., Maslov D.L., Ponomarenko E.A., Archakov A.I. (2020) *Int. J. Mol. Sci.*, **21**(2), E568. DOI: 10.3390/ijms21020568.
- Mehta K.Y., Wu H.J., Menon S.S., Fallah Y., Zhong X., Rizk N., Unger K., Mapstone M., Fiandaca M.S., Federoff H.J., Cheema A.K. (2017) *Oncotarget*, **8**(40), 68899-68915.
- Johnson C.H., Ivanisevic J., Siuzdak G. (2016) *Nature Revs. Mol. Cell Biol.*, **17**(7), 451-459.
- Nass S.J., Moses H.L. (2007) *Cancer biomarkers: The promises and challenges of improving detection and treatment*. National Academies Press. 250 p. DOI: 10.17226/11892
- Burke W., Psaty B.M. (2007) *JAMA*, **298**(14), 1682-1684.
- Burke W., Laberge A.M., Press N. (2010) *Public Health Genomics*, **13**(4), 215-223.
- Veenstra D.L., Roth J.A., Garrison L.P., Ramsey S.D., Burke W. (2010) *Genet. Med.*, **12**(11), 686-693.
- Ramos E., Callier S.L., Rotimi C.N. (2012) *Per. Med.*, **9**(8), 839-847.
- Burke W. (2014) *Curr. Protoc. Hum. Genet.*, **81**, 9.15.1-9.15.8. DOI: 10.1002/0471142905.hg0915s81
- MacConaill L.E., Garraway L.A. (2010) *J. Clin. Oncol.*, **28**(35), 5219-5228.
- Tian Q., Price N.D., Hood L. (2012) *J. Intern. Med.*, **271**(2), 111-121.
- Robson M.E., Bradbury A.R., Arun B., Domchek S.M., Ford J.M., Hampel H.L., Lipkin S.M., Syngal S., Wollins D.S., Lindor N.M. (2015) *J. Clin. Oncol.*, **33**(31), 3660-3667.
- Genzen J.R. (2019) *Am. J. Clin. Pathol.*, **152**(2), 122-131.
- Pinu F.R., Beale D.J., Paten A.M., Kouremenos K., Swarup S., Schirra H.J., Wishart D. (2019) *Metabolites*, **9**(4), 76. DOI: 10.3390/metabo9040076

28. Лохов П.Г., Лисица А.В., Арчаков А.И. (2017) Биомед. химия, **63**(3), 232-240. [Lokhov P.G., Lisitsa A.V., Archakov A.I. (2017) Biomed. Khimiya, **63**(3), 232-240.]
29. Broadhurst D., Goodacre R., Reinke S.N., Kuligowski J., Wilson I.D., Lewis M.R., Dunn W.B. (2018) Metabolomics, **14**(6), 72. DOI: 10.1007/s11306-018-1367-3.
30. Bernini P., Bertini I., Luchinat C., Nincheri P., Staderini S., Turano P. (2011) J. Biomol. NMR, **49**(3-4), 231-243.
31. Wishart D.S. (2016) Nat. Rev. Drug Discov., **15**(7), 473-484.
32. Beale D.J., Pinu F.R., Kouremenos K.A., Poojary M.M., Narayana V.K., Boughton B.A., Kanojia K., Dayalan S., Jones O.A.H., Dias D.A. (2018) Metabolomics, **14**(11), 152. DOI: 10.1007/s11306-018-1449-2.
33. Pinu F.R., Villas-Boas S.G., Aggio R. (2017) Metabolites, **7**(4), E53. DOI: 10.3390/metabo7040053.
34. Snyder N.W., Mesaros C., Blair I.A. (2015) Biomark. Med., **9**(9), 821-834.
35. Bronsema K.J., Bischoff R., van de Merbel N.C. (2012) J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci., **893-894**, 1-14.
36. Lokhov P.G., Maslov D.L., Kharibin O.N., Balashova E.E., Archakov A.I. (2017) BioData Min., **10**, 10. DOI: 10.1186/s13040-017-0132-x.
37. Лохов П.Г., Арчаков А.И. (2008) Биомед. химия, **54**, 497-511. [Lokhov P.G., Archakov A.I. (2008) Biomed. Khimiya, **54**, 497-511].
38. Dunn W.B., Broadhurst D.I., Atherton H.J., Goodacre R., Griffin J.L. (2011) Chem. Soc. Rev., **40**(1), 387-426.
39. Putri S.P., Nakayama Y., Matsuda F., Uchikata T., Kobayashi S., Matsubara A., Fukusaki E. (2013) J. Biosci. Bioeng., **115**(6), 579-589.
40. Balashova E.E., Lokhov P.G., Ponomarenko E.A., Markin S.S., Lisitsa A.V., Archakov A.I. (2019) Per. Med., **16**(2), 133-144.

Поступила в редакцию: 13. 04. 2020.
 После доработки: 24. 04. 2020.
 Принята к печати: 07. 05. 2020.

BLOOD METABOLOME ANALYSIS FOR CREATING A DIGITAL IMAGE OF A HEALTHY PERSON

O.P. Trifonova^{1*}, E.E. Balashova¹, D.L. Maslov¹, A.I. Grigoriev², A.V. Lisitsa¹, E.A. Ponomarenko¹, A.I. Archakov¹

¹Institute of Biomedical Chemistry,
 10 Pogodinskaya str., Moscow, 119121 Russia; *e-mail: oxana.trifonova@gmail.com

²Institute of Biomedical Problems of the Russian Academy of Sciences,
 76a Khoroshevskoe shosse, Moscow, 123007 Russia

In the frame of the work, data on the implementation of metabolomics tests in medicine have been systematized. Based on the obtained data, a set of protocols was proposed, the sequential realization of which makes it possible to conduct a blood metabolome analysis for medical purposes. Using this analysis and the number of blood samples from healthy volunteers, a prototype of a healthy person's metabolomic image has been developed; it allows visually and digitally to assess the compliance of the human blood metabolome with the norm. At the same time, 99% of the metabolic processes reflected in the blood plasma are estimated. If abnormalities are detected, the metabolomic image allows to get the value of these deviations of metabolic processes in digital terms.

Key words: metabolomics; precision medicine; laboratory diagnostics; blood metabolome; direct injection mass spectrometry; digital image of a person

Funding. The work was performed in the framework of the Program for Basic Research of State Academies of Sciences for 2013-2020.

Received: 13.04.2020, revised: 24.04.2020, accepted: 07.05.2020.