

УДК: 577.121

PROMEDIA – база данных химических соединений, потенциальных биомаркеров заболеваний, имеющих значение для неинвазивной диагностики

**Сайк О.В.*¹, Мошкин М.П.¹, Балдин М.Н.², Грузнов В.М.²,
Козлов В.А.³, Самороков С.Н.³, Деменков П.С.^{1,4}, Иванисенко В.А.¹,
Колчанов Н.А.^{1,5}**

¹ *Институт цитологии и генетики, Сибирское отделение Российской академии наук, Новосибирск, Новосибирская область, 630090, Россия*

² *Институт нефтегазовой геологии и геофизики им. А.А. Трофимука, Сибирское отделение Российской академии наук Новосибирск, Новосибирская область, 630090, Россия*

³ *Институт клинической иммунологии, Сибирское отделение Российской академии медицинских наук Новосибирск, Новосибирская область, 630047, Россия*

⁴ *Институт математики им. С. Л. Соболева, Сибирское отделение Российской академии наук Новосибирск, Новосибирская область, 630090, Россия*

⁵ *Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Новосибирская область, 630090, Россия*

Аннотация. Использование летучих биомаркеров в медицине является перспективным направлением развития неинвазивной диагностики. Создание базы данных ProMeDiA на основе интегрированных из разных источников данных о химических соединениях, имеющих потенциальное диагностическое значение, позволяет облегчить планирование экспериментов по неинвазивной диагностике заболеваний. База данных ProMeDiA содержит информацию о потенциальных биомаркерах заболеваний на уровне метаболитов, ферментов, транскрипционных факторов. С использованием базы данных ProMeDiA на примере аспергиллеза, вызванного *Aspergillus fumigatus*, проведен анализ летучих соединений, участвующих в реакциях, регулируемых ферментами человека, ассоциированными с данным заболеванием, а также ферментов, обнаруженных у грибов вида *A. fumigatus*. Предложены потенциальные летучие биомаркеры зараженности аспергиллезом. На примере изменений метаболизма при ревматоидном артрите показана возможность применения базы данных ProMeDiA для построения метаболических сетей, что позволяет выявлять потенциальные биомаркеры заболеваний.

Ключевые слова: базы данных, неинвазивная диагностика, летучие биомаркеры заболеваний, метаболиты, белки.

ВВЕДЕНИЕ

В ходе метаболизма в качестве конечных или побочных продуктов образуются многочисленные летучие соединения. Существует потенциальная возможность использования летучих биомаркеров в медицине для диагностики различных патологических состояний. Такой метод диагностики является неинвазивным, что особенно актуально во время сложных медицинских операций, в педиатрии, при плановых медицинских осмотрах. Несмотря на то, что еще античные врачи использовали обоняние для постановки диагноза, этот метод долгое время не применялся из-за плохой воспроизводимости результатов и субъективного критерия оценки, а также отсутствия необходимого оборудования. Только в последнее время в связи со значительными техническими достижениями интерес к этой области вновь возрос.

В настоящее время наиболее распространен экспериментальный подход к поиску летучих биомаркеров для неинвазивной диагностики заболеваний, основанный на сравнении профилей летучих соединений в образцах здоровых обследуемых и подверженных заболеванию. Предварительное теоретическое выявление потенциальных биомаркеров заболеваний среди метаболитов позволяет повысить эффективность экспериментального поиска летучих биомаркеров. Теоретический подход к поиску новых биомаркеров заболеваний основан на реконструкции метаболического пути потенциального соединения-биомаркера: выявлении ферментов, использующих в своих реакциях данное низкомолекулярное соединение, транскрипционных факторов, регулирующих работу генов ферментов и их связей с заболеваниями. Следует отметить, что установление связей между метаболитом и заболеваниями на основе ассоциаций «метаболит – транскрипционный фактор – заболевание» является совершенно новым подходом в задаче поиска метаболитов, которые могут быть маркерами заболеваний.

В настоящее время не существует единого формализованного информационного ресурса, включающего сведения о летучих соединениях – потенциальных маркерах заболеваний, и их метаболических и регуляторных путях.

Цель настоящей работы заключалась в создании единой базы данных, содержащей информацию о метаболитах, имеющих потенциальное диагностическое значение, ферментах, использующих метаболиты в реакциях, транскрипционных факторах, регулирующих работу генов ферментов и их связях с заболеваниями, позволяющей повысить эффективность экспериментов по неинвазивной диагностике заболеваний, основанной на анализе профилей летучих метаболитов.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЛЕТУЧИХ БИОМАРКЕРОВ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ РАЗЛИЧНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Летучие биомаркеры являются неинвазивным «окном» для наблюдения физиологических и патологических процессов в организме. Некоторые из этих летучих веществ появляются в выдыхаемом воздухе уже через несколько минут после их формирования в тканях. Концентрация соединений биомаркеров может быть использована для выявления заболеваний на ранней стадии. Методы диагностики, основанные на анализе профилей летучих биомаркеров, полностью неинвазивные, они могут выполняться повторно или постоянно без какой-либо нагрузки на пациента.

Долгое время лабораторный анализ летучих соединений представлял собой сложный, дорогостоящий и длительный процесс. Тем не менее, достижения в области аналитических технологий летучих соединений снизили влияние технических вопросов, предел обнаружения концентрации газа, увеличили повторяемость и стабильность измерений, что открывает возможность применения летучих соединений для биологического мониторинга [1].

В настоящее время для диагностики различных заболеваний предложен ряд летучих биомаркеров. Так, в 2003 году для диагностики ишемических заболеваний сердца было предложено использовать алканы и метилированные алканы [2]. В более поздних работах было предложено использовать уровень пентана в пробах выдыхаемого воздуха для мониторинга окислительного стресса. Уровень ацетона и изопрена – для оценки метаболического стресса и уровня липолиза [3].

Исследования показали, что в выдыхаемом воздухе присутствует около 340 летучих соединений [4]. Неинвазивная диагностика, направленная на выявление биомаркеров рака легких, представляет большой интерес для выявления заболевания на ранней стадии. В 1985 году был выявлен ряд специфических алканов и монометилированных алканов в выдыхаемом воздухе пациентов с раком легких [5]. В 1999 году были предложены 22 летучих органических соединения (в основном алканы и дериваты бензола) для диагностики рака легких [6]. В 2009 году было предложено использовать для диагностики рака легких следующие маркеры: 1-пропанол, 2-бутанон, 3-бутан-2-ол, бензальдегид, 2-метил-пентан, 3-метил-пентан, н-пентан и н-гексан. Чувствительность диагностики рака легких, основанной на обнаружении этих соединений, составила 51%, а специфичность – 100% [7].

Профили выдыхаемого газа связаны с процессами эндогенного обмена веществ и, следовательно, постоянно меняются в ответ на чрезвычайно сложные изменения биохимической среды. Поэтому существует возможность использования анализа выдыхаемых летучих соединений для мониторинга уровня глюкозы в крови. Было показано, что профили летучих органических соединений выдыхаемого воздуха отражают метаболические характеристики гипергликемии при сахарном диабете первого типа у детей. Содержание метил нитрата (CH_3ONO_2) в выдыхаемом воздухе наиболее сильно коррелирует с острым приступом спонтанной гипергликемии у детей с диабетом первого типа, по сравнению с другими проанализированными летучими органическими соединениями [8].

Также были предложены некоторые потенциальные биомаркеры для диагностики причин диареи. Для диагностики диареи, вызванной *Clostridium difficile*, было предложено использовать 2-фуранкарбоксальдегид, 5-метил-2-фуранкарбоксальдегид, 3-метилиндол. В качестве маркера ротавируса был предложен этиловый лаурат [9]. При различных заболеваниях печени повышается концентрация серосодержащих соединений в крови и выдыхаемом воздухе из-за неполного метаболизма серосодержащих аминокислот в печени [10]. В 2008 году для диагностики цирроза печени было предложено использовать диметилсульфид, ацетон, 2-пентанон, 2-бутанон, причем чувствительность и специфичность метода составила 100% и 70% соответственно [11].

Неинвазивная диагностика заболеваний уже применяются в некоторых странах – это глюкозо-водородный тест дыхания для диагностики чрезмерного бактериального роста в кишечнике, водородный тест дыхания на непереносимость лактозы и тест дыхания на мочевины для обнаружения зараженности желудка *Helicobacter pylori* [12].

БАЗА ДАННЫХ PROMEDIA

Успехи в экспериментальных методиках идентификации метаболитов ставят задачу развития биоинформационных подходов для интерпретации экспериментальных данных и программно-информационной поддержки при разработках диагностических методов в ряд наиболее актуальных проблем современной биоинформатики.

Использование информации о физико-химических и физиологических свойствах метаболитов, имеющих потенциальное диагностическое значение, ферментах, использующих метаболиты в своих реакциях, транскрипционных факторах, регулирующих работу ферментов, и их связей с заболеваниями позволяет облегчить

планирование экспериментов по выявлению летучих биомаркеров заболеваний, необходимых для разработки методов неинвазивной диагностики. База данных ProMeDiA интегрирует в себе информацию, извлеченную из различных источников, включая фактографические базы данных, а также первоисточники в виде текстов научных публикаций. Установление ассоциаций между метаболитом и заболеваниями на основе ассоциаций «транскрипционный фактор – заболевание» является совершенно новым подходом в задаче поиска метаболитов, которые могут быть маркерами заболеваний. Такого рода сведения не представлены в существующих базах данных, содержащих информацию о метаболических путях и биохимических реакциях. Применение современных компьютерных методов при создании базы данных обеспечило высокую актуальность представленной в ней информации.

База данных ProMeDiA (рис. 1) включает разделы, посвященные метаболиту, ферментам, использующим метаболит в своих реакциях, транскрипционным факторам, регулирующим экспрессию генов ферментов, связанных с метаболитом, а также заболеваниям.

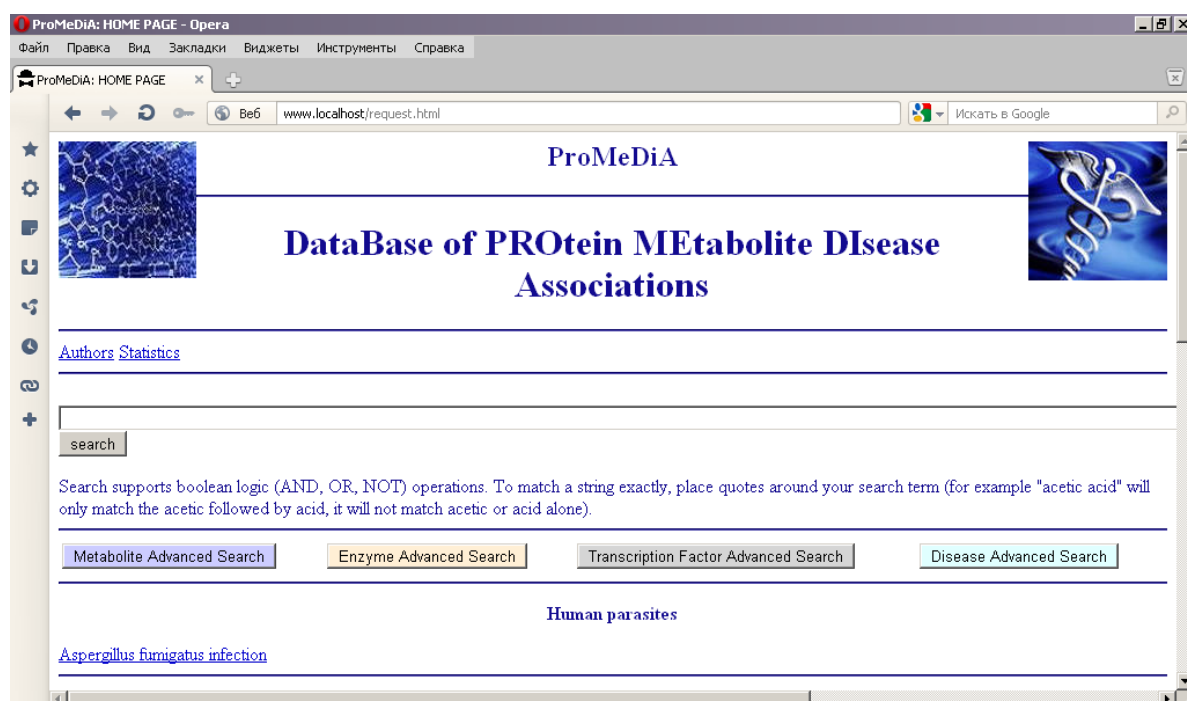


Рис. 1. Пользовательский интерфейс базы данных ProMeDiA, домашняя страница.

Раздел, посвященный метаболиту, содержит названия и синонимы метаболита, физико-химические и физиологические характеристики, локализацию в организме, пути метаболизма, ассоциированные заболевания. Информация о метаболитах была извлечена из баз данных HMDB, KEGG, ChEBI, MetaCyc. Раздел, посвященный ферментам, содержит название и синонимы фермента и кодирующего гена, кофакторы фермента, ионы металлов, связываемых ферментом, ингибиторы, данные о локализации фермента в клетках и тканях организма, ассоциированные заболевания. Информация о ферментах была извлечена из баз данных HMDB, KEGG, UniProt, BRENDA. Раздел, посвященный транскрипционным факторам, содержит название транскрипционного фактора; название гена фермента и сайта связывания, с которым связывается транскрипционный фактор; ассоциированные с транскрипционным фактором заболевания. Информация о транскрипционных факторах была извлечена из баз данных TRRD, ANDCELL и UniProt, и научных публикаций. Раздел, посвященный заболеваниям, содержит название заболевания, ассоциированные метаболиты,

ферменты, транскрипционные факторы, а также ассоциативные пути заболевания, основанные на взаимных связях метаболитов, ферментов и транскрипционных факторов между собой и с заболеванием.

База данных ProMeDiA содержит информацию о биологических и химических свойствах соединений и их ассоциациях с заболеваниями, необходимую для планирования экспериментов по разработке средств неинвазивной диагностики. В разработанной базе данных представлена информация по 7982 метаболитам, 7042 ферментам, 645 транскрипционным факторам и 3040 заболеваниям. 362 метаболита, 1810 ферментов и 181 транскрипционный фактор имеют непосредственные связи с заболеваниями. Большинство метаболитов, ферментов, транскрипционных факторов имеют не прямые ассоциативные связи с заболеваниями через соответствующий молекулярный путь «метаболит-фермент-транскрипционный фактор».

АНАЛИЗ ДАННЫХ, ПРЕДСТАВЛЕННЫХ В PROMEDIA

Анализ сведений, представленных в базе данных ProMeDiA, показал что, большая часть метаболитов, имеющих непосредственные связи с заболеваниями (308 из 362), ассоциирована с небольшим числом заболеваний (от 1 до 5). Однако 9 метаболитов имеют связи более чем с десятью заболеваниями. Среди них представлены метаболиты, имеющие отношение к энергетическому обмену организма (кортизол, глюкоза, гликохолевая кислота), выполняющие роль «управляющих» молекул (фенилаланин, 3-метокси-4-гидроксифенил гликоль), обладающие антивирусной активностью (пипеколиновая кислота, хинолиновая кислота). Большая часть ферментов, имеющих непосредственные связи с заболеваниями (834 из 1810), ассоциированы менее чем со ста заболеваниями. Наибольшее число связей с заболеваниями (более 900) отмечается у семи ферментов, широко распространенных в тканях и связанных с процессами общего метаболизма. К этим ферментам относятся 4 вида щелочной фосфатазы, предшественники лактопероксидазы, эозинофилпероксидазы, миелопероксидазы. Большая часть транскрипционных факторов, имеющих непосредственные связи с заболеваниями (97 из 181), ассоциирована с небольшим числом заболеваний (от 1 до 10). Наибольшее число связей с заболеваниями (более 100) отмечается у шести транскрипционных факторов (APEX1, ESR1, FOS, MYC, NFKB1, P53), которые участвуют в регуляции многих клеточных процессов. Для большинства заболеваний характерны связи с небольшим числом метаболитов (от 1 до 5) и ферментов (от 1 до 100). Однако 18 заболеваний, половина из которых связана с нарушениями деятельности нервной системы и психическими расстройствами, имеют ассоциации более чем с десятью метаболитами. 21 заболевание (большая часть которых является раковыми) имеет ассоциации более чем с тысячей ферментов.

Следовательно, разработка методов диагностики, основанной на идентификации изменений концентрации метаболитов, для раковых заболеваний и заболеваний, связанных с нарушениями деятельности нервной системы и психическими расстройствами, требует одновременного массового контроля изменения концентрации многих метаболитов в силу ассоциаций этих заболеваний с большим количеством ферментов и метаболитов.

Метаболиты, имеющие отношение к энергетическому обмену организма, выполняющие роль «управляющих» молекул, обладающие антивирусной активностью, метаболиты ферментов, широко распространенных в тканях связанных с процессами общего метаболизма, и метаболиты ферментов, регулируемых транскрипционными факторами, участвующими во многих клеточных процессах, связаны со многими заболеваниями, вследствие чего для диагностики их необходимо использовать совместно с более специфичными биомаркерами.

ПОИСК ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ БИОМАРКЕРОВ ЗАБОЛЕВАНИЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ БАЗЫ ДАННЫХ PROMEDIA

Использование базы данных ProMeDiA позволяет облегчить планирование экспериментов по выявлению летучих биомаркеров заболеваний. Одним из серьезных паразитических заболеваний является аспергиллез, вызываемый грибами вида *Aspergillus fumigatus*. Исход заболевания во многом зависит от ранней постановки диагноза. Своевременная диагностика аспергиллеза имеет некоторые трудности в силу сходства симптомов с рядом других, более распространенных заболеваний и расплывчатостью диагностических критериев, что делает разработку нового инструмента для диагностики аспергиллеза актуальной задачей.

В базе данных ProMeDiA имеется информация о связях 85 ферментов человека с аспергиллезом, для них представлена информация по 122 ассоциированным метаболитам. Исходя из литературных данных по молекулярной массе летучих соединений, идентифицируемых масс-спектрометрией [13–18], нами было установлено ограничение в 250 г/моль на максимальную величину молекулярной массы соединения-потенциального биомаркера. Среди метаболитов, связанных с ферментами человека, были отобраны 24 метаболита с молекулярной массой менее 250 г/моль. Из списка отобранных метаболитов были исключены ионы металлов и соединения, не имеющие диагностической ценности (вода, фосфат-ион).

Также в базе данных представлена информация по 71 ферменту, выявляемому у грибов вида *A. fumigatus*, 330 метаболитов участвуют в реакциях, регулируемых этими ферментами. Среди 330 метаболитов, ассоциированных с ферментами *A. fumigatus*, были отобраны 7 метаболитов: были исключены метаболиты, ассоциированные с ферментами, широко распространенными среди различных организмов, в том числе у человека и его симбионтов (*Escherichia coli*, *Lactobacillus spp.*, *Bifidobacterium spp.*, *Eubacterium sp.*), а также метаболиты с молекулярной массой более 250 г/моль.

Таким образом, на основании информации из базы данных ProMeDiA о физико-химических свойствах метаболитов, участвующих в реакциях ферментов человека, ассоциированных с аспергиллезом, а также ферментов, обнаруженных у грибов вида *A. fumigatus*, были предложены потенциальные летучие биомаркеры зараженности аспергиллезом (табл. 1).

Таблица 1. Предсказанные потенциальные летучие биомаркеры аспергиллеза, вызванного грибами вида *A. fumigatus*

Метаболит - потенциальный биомаркер аспергиллеза	Фермент, регулирующий реакцию, в которой участвует метаболит	Организм
Hydrogen peroxide	Lactoperoxidase precursor, Eosinophil peroxidase precursor, Catalase, Dual oxidase 1 precursor, Dual oxidase 2 precursor, Superoxide dismutase [Cu-Zn], Extracellular superoxide dismutase [Cu-Zn] precursor	<i>Homo sapiens</i>
2-Phenylacetamide	Lactoperoxidase precursor, Eosinophil peroxidase precursor	<i>Homo sapiens</i>
Formic acid	Cytochrome P450 19A1, Cytochrome P450 1A2, Cytochrome P450 1B1, Cytochrome P450 2A7, Cytochrome P450 2A13, Cytochrome P450 2B6, Cytochrome P450 2C8, Cytochrome P450 2E1,	<i>Homo sapiens</i>

	Cytochrome P450 2F1, Cytochrome P450 2J2, Cytochrome P450 4B1, Cytochrome P450 4Z1, Cytochrome P450 2S1	
3-Mercaptolactic acid	L-lactate dehydrogenase A-like 6A, L-lactate dehydrogenase B chain, L-lactate dehydrogenase C chain, L-lactate dehydrogenase A-like 6B	<i>Homo sapiens</i>
Mevalonic acid	3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase	<i>Homo sapiens</i>
Formaldehyde	Lactoperoxidase precursor, Eosinophil peroxidase precursor, Catalase, Cytochrome P450 19A1, Cytochrome P450 1A2, Cytochrome P450 1B1, Cytochrome P450 2A7, Cytochrome P450 2A13, Cytochrome P450 2B6, Cytochrome P450 2C8, Cytochrome P450 2E1, Cytochrome P450 2F1, Cytochrome P450 2J2, Cytochrome P450 4B1, Cytochrome P450 4Z1, Cytochrome P450 2S1	<i>Homo sapiens</i>
1-Butanol	Alkaline phosphatase, placental-like precursor, Intestinal alkaline phosphatase precursor, Alkaline phosphatase, tissue-nonspecific isozyme precursor	<i>Homo sapiens</i>
L-Lactic acid	L-lactate dehydrogenase A-like 6A, L-lactate dehydrogenase B chain, L-lactate dehydrogenase C chain, L-lactate dehydrogenase A-like 6B	<i>Homo sapiens</i>
Isobutanol	Alkaline phosphatase, placental-like precursor, Intestinal alkaline phosphatase precursor, Alkaline phosphatase, tissue-nonspecific isozyme precursor	<i>Homo sapiens</i>
2-Phospho-D-glyceric acid	Alpha-enolase, Gamma-enolase	<i>Homo sapiens</i>
Dihydroxyacetone	Alkaline phosphatase, placental-like precursor, Alkaline phosphatase, tissue-nonspecific isozyme precursor, Alkaline phosphatase, placental type precursor	<i>Homo sapiens</i>
3-Mercaptopyruvic acid	L-lactate dehydrogenase A-like 6A, L-lactate dehydrogenase B chain, L-lactate dehydrogenase C chain, L-lactate dehydrogenase A-like 6B, cDNA FLJ54086, moderately similar to L-lactate dehydrogenase A chain (EC 1.1.1.27), Indoleamine 2,3-dioxygenase, Cytochrome P450 19A1, Cytochrome P450 1A2, Cytochrome P450 1B1, Cytochrome P450 2A7, Cytochrome P450 2A13, Cytochrome P450 2B6, Cytochrome P450 2C8, Cytochrome P450 2E1, Cytochrome P450 2F1, Cytochrome P450 2J2, Cytochrome P450 4B1, Cytochrome P450 4Z1, Cytochrome P450 2S1	<i>Homo sapiens</i>
4-Coumaryl alcohol	Lactoperoxidase precursor, Eosinophil peroxidase precursor	<i>Homo sapiens</i>

Dihydroxyacetone phosphate	Alkaline phosphatase, placental-like precursor, Alkaline phosphatase, tissue-nonspecific isozyme precursor, Alkaline phosphatase, placental type precursor	<i>Homo sapiens</i>
5-Hydroxy-L-tryptophan	Indoleamine 2,3-dioxygenase	<i>Homo sapiens</i>
Propyl alcohol	Alkaline phosphatase, placental-like precursor, Intestinal alkaline phosphatase precursor, Alkaline phosphatase, tissue-nonspecific isozyme precursor	<i>Homo sapiens</i>
2-Hydroxybutyric acid	L-lactate dehydrogenase A-like 6A, L-lactate dehydrogenase B chain, L-lactate dehydrogenase C chain, L-lactate dehydrogenase A-like 6B	<i>Homo sapiens</i>
Hydrogen sulfide	Cytochrome P450 19A1, Cytochrome P450 1A2, Cytochrome P450 1B1, Cytochrome P450 2A7, Cytochrome P450 2A13, Cytochrome P450 2B6, Cytochrome P450 2C8, Cytochrome P450 2E1, Cytochrome P450 2F1, Cytochrome P450 2J2, Cytochrome P450 4B1, Cytochrome P450 4Z1, Cytochrome P450 2S1	<i>Homo sapiens</i>
Melatonin	Indoleamine 2,3-dioxygenase, Cytochrome P450 19A1	<i>Homo sapiens</i>
6-Hydroxymelatonin	Cytochrome P450 19A1, Cytochrome P450 1A2, Cytochrome P450 1B1, Cytochrome P450 2A7, Cytochrome P450 2A13, Cytochrome P450 2B6, Cytochrome P450 2C8, Cytochrome P450 2E1, Cytochrome P450 2F1, Cytochrome P450 2J2, Cytochrome P450 4B1, Cytochrome P450 4Z1, Cytochrome P450 2S1	<i>Homo sapiens</i>
Isopropyl alcohol	Alkaline phosphatase, placental-like precursor, Intestinal alkaline phosphatase precursor, Alkaline phosphatase, tissue-nonspecific isozyme precursor	<i>Homo sapiens</i>
Methanol	Catalase, Lactoperoxidase precursor, Eosinophil peroxidase precursor	<i>Homo sapiens</i>
Ethanol	Cytochrome P450 2E1	<i>Homo sapiens</i>
4-Nitrophenol	Alkaline phosphatase, placental-like precursor, Alkaline phosphatase, tissue-nonspecific isozyme precursor, Alkaline phosphatase, placental type precursor Beta-galactofuranosidase, beta-primeverosidase	<i>Homo sapiens</i> , <i>Aspergillus fumigatus</i>
2-oxoadipate	homocitrate dehydrogenase	<i>Aspergillus fumigatus</i>
eugenol	beta-primeverosidase	<i>Aspergillus fumigatus</i>

NH ₃	blasticidin-S deaminase	<i>Aspergillus fumigatus</i>
1-hydroxy-1,2,4-butanetricarboxylate	homocitrate dehydrogenase	<i>Aspergillus fumigatus</i>
dimethylallyl diphosphate	7-dimethylallyltryptophan synthase	<i>Aspergillus fumigatus</i>
indole-3-acetic acid	7-dimethylallyltryptophan synthase	<i>Aspergillus fumigatus</i>

Среди потенциальных биомаркеров аспергиллеза представлены соединения, обладающие низкой специфичностью, такие как пероксид водорода, который является распространенным маркером воспаления, а также молочная кислота, муравьиная кислота, этанол, ассоциированные с рядом других заболеваний. В связи с этим для диагностики аспергиллеза целесообразно использовать профиль потенциальных биомаркеров в целом, который является более специфичным, чем отдельные метаболиты.

ЛЕТУЧИЕ ОРГАНИЧЕСКИЕ СОЕДИНЕНИЯ (ЛОС) ПРИ АУТОИММУННОЙ ПАТОЛОГИИ

Воспаление, развивающееся при обострении аутоиммунных патологий различной природы, оказывает существенное влияние на липидный обмен. Это происходит в результате взаимодействия цитокинов с системами нейроэндокринной регуляции метаболизма [19, 20, 21, 22]. В частности при таких заболеваниях как ревматоидный артрит отмечается увеличение концентрации в плазме крови одного из ключевых регуляторов обмена липидов – лептина [23].

Кроме того, ряд внутриклеточных процессов, сопровождающих воспаление, также создает предпосылки для изменений метаболизма жиров (рис. 2). Так, в очагах воспаления обычно падает рН, что способствует активации липазы. Поступление жирных кислот в метаболизм приводит к образованию бета-оксибутирата, кетоновых тел и ацетона [24]. При ревматоидном артрите отмечается снижение концентрации линолевой кислоты [25] и повышение концентрации ее метаболитов, таких как арахидоновая кислота и 9,10-эпоксиоктадеценовая кислота [26]. Арахидоновая кислота является предшественником для соединений, медирующих воспаление: простагландинов, тромбоксанов и лейкотриенов, которые активируют продукцию воспалительных цитокинов [27], а также 5,6-, 8,9-, 11,12-, 14,15-эпоксиэкозатриеновых кислот (EETs), 5-,20-гидроксиэйкозатетраеновых кислот (5-HEETE, 20-HEETE), концентрация которых повышена при ревматоидном артрите [28]. Эти соединения участвуют в регуляции процесса воспаления [29]. В ряде исследований отмечено сопряженное с воспалением изменение обмена холестерина [30–32], что может отразиться на образовании изопрена [33] и ряда других соединений (дегидроэпиандростерона, дегидроэпиандростерон-сульфата, 17-гидроксипрогестерона, андростендиона [34], 7альфа-гидроксидегидроэпиандростерона [35, 36]).

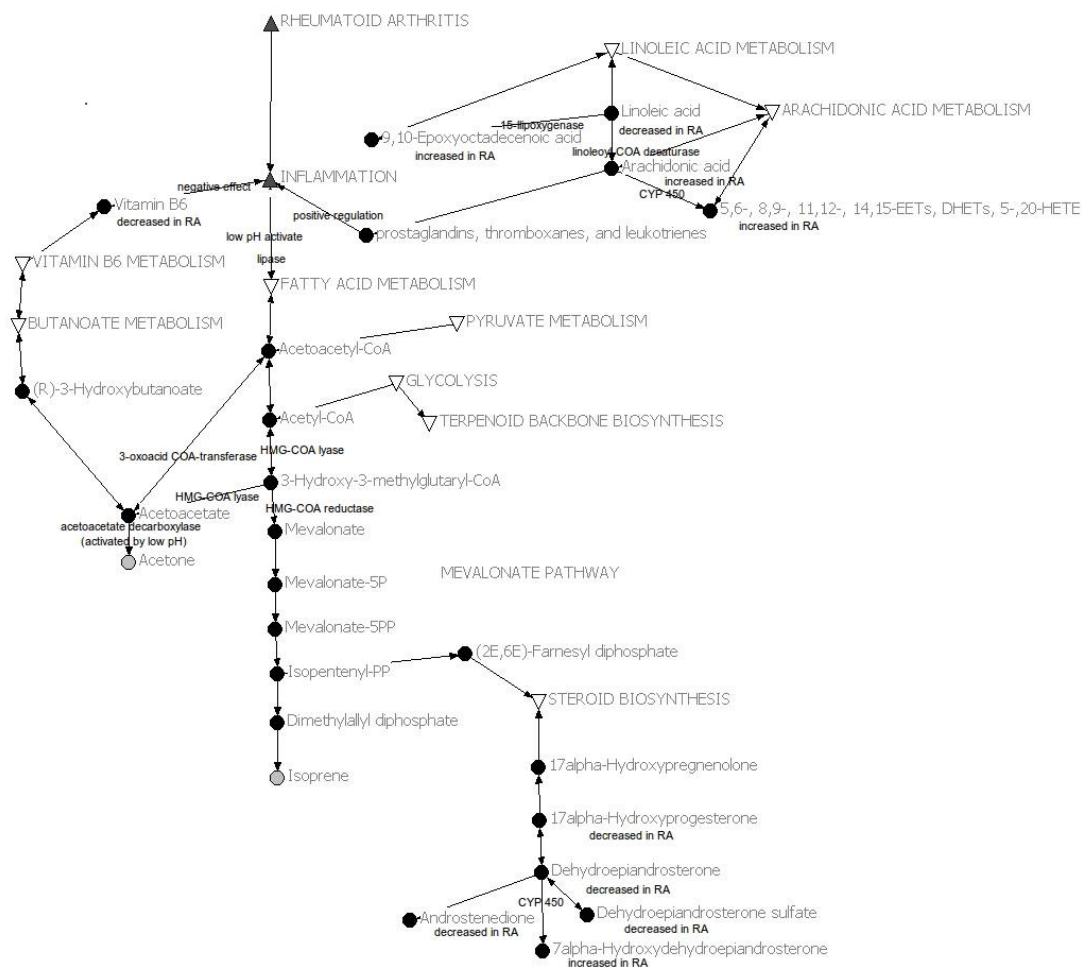


Рис. 2. Потенциальные пути воздействия воспалительных процессов на показатели липидного обмена.

Итак, анализ системных и внутриклеточных процессов свидетельствует о том, что при аутоиммунных патологиях можно ожидать изменений в концентрации таких ЛОС, как ацетон и изопрен, которые выделяются в составе выдыхаемого воздуха. Для проверки данного предположения были исследованы пациенты, проходившие стандартный курс лечения в Институте клинической иммунологии СО РАМН (Новосибирск). Всего было исследовано 15 пациентов, страдающих бронхиальной астмой (возраст 33–81 год), и 22 пациента с ревматоидным артритом (возраст 25–74 года). Газовый анализ выдыхаемого воздуха проводили в утренние часы, натощак, трижды за период лечения – при поступлении, в середине лечебного курса и перед выпиской. Полуколичественное определение концентрации ацетона и изопрена выполняли на поликапиллярном газовом хроматографе ЭХО-В-ФИД (разработка ИНГТ СО РАН) с полярной колонкой OV 215 при температуре хроматографирования 35°C. Площади хроматографических пиков ацетона и изопрена служили условными единицами (у.е.) содержания анализируемых ЛОС.

При поступлении в клинику содержание ацетона и изопрена было практически одинаковым у больных бронхиальной астмой и ревматоидным артритом (рис.3). При бронхиальной астме уровни ЛОС существенно не изменялись в процессе лечения. При ревматоидном артрите было отмечено статистически значимое снижение концентрации ацетона в выдыхаемом воздухе и отношения ацетон/изопрен (рис. 3).

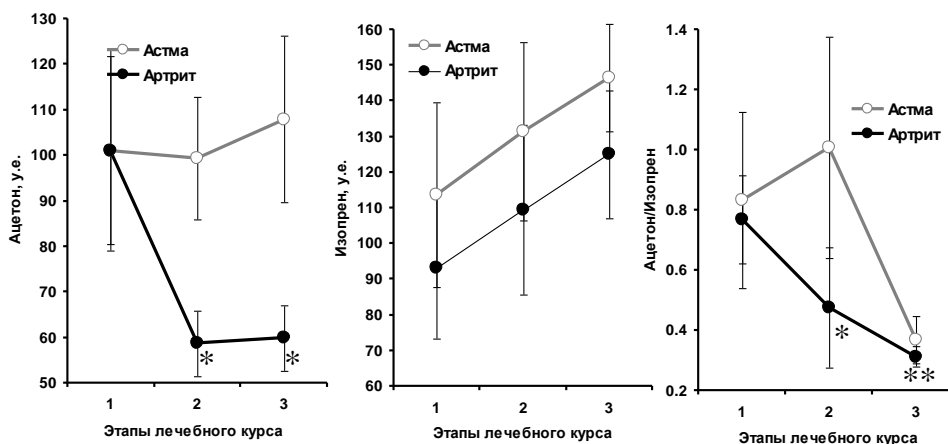


Рис. 3. Изменение концентрации ЛОС у больных бронхиальной астмой и ревматоидным артритом в процессе лечения. * - $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, LSD тест.

Примечание. Для изопрена статистический анализ выполнен на Log-трансформированных данных.

Традиционные показатели воспаления, такие как С-реактивный пептид (СРП) и скорость оседания эритроцитов (СОЭ), измеренные при поступлении больного, не коррелировали с содержанием ЛОС. Вместе с тем, при анализе взаимозависимостей ЛОС и показателей воспаления на основе данных, полученных на 2-ом и 3-ем этапах лечения, была установлена статистически значимая корреляция содержания ацетона и СОЭ ($r_s = 0.43$, $p = 0.038$, $n = 24$). Для статистических расчетов первичные данные были центрированы относительно средних значений для пациентов с разными диагнозами.

Как следует из проведенного нами пилотного эксперимента, содержание ацетона в выдыхаемом воздухе, коррелирующее с общепринятым критерием воспаления (СОЭ), закономерно снижается в процессе лечения больных ревматоидным артритом. При этом значения СОЭ и СРП практически не изменяются. Таким образом, метаболические критерии могут быть более динамичными индикаторами реакции организма на лечебные мероприятия, проводимые при данной патологии, а газовая хроматография, как необременительный для пациента метод тестирования, может найти применение в мониторинге эффективности лечебного процесса.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Была создана база данных ProMeDiA, содержащая в интегрированном виде информацию о потенциальных биомаркерах заболеваний, на уровне метаболитов, ферментов, генетической регуляции экспрессии генов, которая позволяет планировать эксперименты по неинвазивной диагностике заболеваний, а также исследовать особенности патологических процессов и метаболических сетей. В базе данных ProMeDiA представлена информация по 7982 метаболитам, 7042 ферментам, 645 транскрипционным факторам и 3040 заболеваниям.

Использование информации, содержащейся в базе данных ProMeDiA, позволило предложить ряд потенциальных летучих биомаркеров для неинвазивной диагностики аспергиллеза, вызванного *A. Fumigatus*. На примере изменений концентраций ацетона и изопрена при ревматоидном артрите была показана возможность применения базы данных ProMeDiA для построения метаболических сетей, что позволяет выявлять потенциальные биомаркеры заболеваний.

Работа поддержана междисциплинарными интеграционными проектами СО РАН №94, 111, 119, грантом РФФИ 11-04-01748а, программой РАН 19 Химические аспекты энергетики, программой РАН Б.27 и программой РАН "Молекулярная и клеточная биология" А.П.6.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Corradi M., Mutti A. Exhaled breath analysis: from occupational to respiratory medicine. *Acta Biomed.* 2005. V. 76. P. 20–29.
2. Phillips M., Cataneo R.N., Ditkoff B.A. Volatile markers of breast cancer in the breath. *Breast J.* 2003. V. 9. P. 184–191.
3. Pabst F., Miekisch W., Fuchs P., Kischkel S., Schubert J.K. Monitoring of oxidative and metabolic stress during cardiac surgery by means of breath biomarkers: an observational study. *J. Cardiothorac Surg.* 2007. V. 2. P. 37–44.
4. Phillips M., Herrera J., Krishnan S., Zain M., Greenberg J., Cataneo R.N. Variation in volatile organic compounds in the breath of normal humans. *Journal of Chromatography B.* 1999. V. 729. P. 75–88.
5. Gordon S.M., Szidon J.P., Krotoszynski B.K., Gibbons R.D., O'Neill H.J. Volatile organic compounds in exhaled air from patients with lung cancer. *Clin. Chem.* 1985. V. 31. P. 1278–1282.
6. Phillips M., Gleeson K., Hughes J.M., Greenberg J., Cataneo R.N., Baker L., McVay W.P. Volatile organic compounds in breath as markers of lung cancer: a cross-sectional study. *Lancet.* 1999. V. 353. P. 1930–1933.
7. Ligor M., Ligor T., Bajtarevic A., Ager C., Pienz M., Klieber M., Denz H., Fiegl M., Hilbe W., Weiss W., Lukas P., Jamnig H., Hackl M., Buszewski B., Miekisch W., Schubert J., Amann A. Determination of volatile organic compounds in exhaled breath of patients with lung cancer using solid phase microextraction and gas chromatography mass spectrometry. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2009. V. 47. № 5. P. 550–560.
8. Novak B.J., Blake D.R., Meinardi S., Rowland F.S., Pontello A., Cooper D.M., Galassetti P.R. Exhaled methyl nitrate as a noninvasive marker of hyperglycemia in type 1 diabetes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2007. V. 104. № 40. P. 15613–15618.
9. Probert C.S., Jones P.R., Ratcliffe N.M. A novel method for rapidly diagnosing the causes of diarrhea. *Gut.* 2004. V. 53. № 1. P. 58–61.
10. Tangerman A., Meuwese-Arends M.T., Jansen J.B. Cause and composition of foetor hepaticus. *Lancet.* 1994. V. 343. P. 483–490.
11. Van den Velde S., Nevens F., Van Hee P., van Steenberghe D., Quirynen M. GC-MS analysis of breath odor compounds in liver patients. *Journal of Chromatography B.* 2008. V. 875. P. 344–348.
12. Braden B., Lembcke B., Kuker W., Caspary W.F. 13C-breath tests: current state of the art and future directions. *Dig. Liver Dis.* 2007. V. 39. P. 795–805.
13. Chen X., Xu F., Wang Y., Pan Y., Lu D., Wang P., Ying K., Chen E., Zhang W. A study of the volatile organic compounds exhaled by lung cancer cells in vitro for breath diagnosis. *Cancer.* 2007. V. 110. № 4. P. 835–844.
14. Poli D., Carbognani P., Corradi M., Goldoni M., Acampa O., Balbi B., Bianchi L., Rusca M., Mutti A. Exhaled volatile organic compounds in patients with non-small cell lung cancer: cross sectional and nested short-term follow-up study. *Respir. Res.* 2005. V. 14. P. 6–71.
15. Abaffy T., Duncan R., Riemer D.D., Tietje O., Elgart G., Milikowski C., DeFazio R.A. Differential Volatile Signatures from Skin, Naevi and Melanoma: A Novel Approach to Detect a Pathological Process. *PLoS One.* 2010. V. 5. № 11. P. 13813–13825.
16. Qin T., Liu H., Song Q., Song G., Wang H., Pan Y., Xiong F., Gu K., Sun G., Chen Z. The screening of volatile markers for hepatocellular carcinoma. *Cancer. Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2010. V. 19. P. 2247–2253.

17. Liu C., Feng S., van Heemst J., McAdam K.G. New insights into the formation of volatile compounds in mainstream cigarette smoke. *Anal. Bioanal. Chem.* 2010. V. 396. № 5. P. 1817–1830.
18. Filipiak W., Sponring A., Filipiak A., Ager C., Schubert J., Miekisch W., Amann A., Troppmair J. TD-GC-MS analysis of volatile metabolites of human lung cancer and normal cells in vitro. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2010. V. 19. № 1. P. 182–195.
19. Claudio G., Calder P.C. Effects of Fat and Fatty Acid intake on inflammatory and immune responses: A critical review. *Ann. Nutr. Metab.* 2009. V. 55. P. 123–139.
20. Tkacova R. Systemic Inflammation in Chronic Obstructive Pulmonary Disease: May Adipose Tissue Play a Role? Review of the Literature and Future Perspectives. *Mediators of Inflammation.* 2010. V. 2010. P. 585989-586000.
21. Drager L.F., Jun J.C., Polotsky V.Y. Metabolic consequences of intermittent hypoxia: Relevance to obstructive sleep apnea. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism.* 2010. V. 24. P. 843–851.
22. Fern'andez-Riejos P., Najib S., Santos-Alvarez J., Mart'in-Romero C., P'erez-P'erez A., Gonz'alez-Yanes C., S'anchez-Margalet V. Role of Leptin in the Activation of Immune Cells. *Mediators of Inflammation.* 2010. V. 2010. P. 568343-568351.
23. Yoshino T., Kusunoki N., Tanaka N., Kaneko K., Kusunoki Y., Endo H., Hasunuma T., Kawai S. Elevated serum levels of resistin, leptin, and adiponectin are associated with C-reactive protein and also other clinical conditions in rheumatoid arthritis. *Intern. Med.* 2011. V. 50. № 4. P. 269–275.
24. Andreelli F., Jacquier D., Troy S. Molecular aspects of insulin therapy in critically ill patients. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care.* 2006. V. 9. № 2. P. 124–130.
25. Suryaprabha P., Das U.N., Ramesh G., Kumar K.V., Kumar G.S. Reactive oxygen species, lipid peroxides and essential fatty acids in patients with rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids.* 1991. V. 43. № 4. P. 251–255.
26. Jira W., Spiteller G. Dramatic increase of linoleic acid peroxidation products by aging, atherosclerosis, and rheumatoid arthritis. *Adv. Exp. Med. Biol.* 1999. V. 469. P. 479–483.
27. Calder P.C. Long-chain n-3 fatty acids and inflammation: potential application in surgical and trauma patients. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 2003. V. 36. № 4. P. 433–446.
28. Zhao X., Imig J.D. Kidney CYP450 enzymes: biological actions beyond drug metabolism. *Curr. Drug. Metab.* 2003. V. 4. № 1. P. 73–84.
29. Pompeia C., Lima T., Curi R. Arachidonic acid cytotoxicity: can arachidonic acid be a physiological mediator of cell death? *Cell Biochem. Funct.* 2003. V. 21. № 2. P. 97–104.
30. Kanadaşı M., Cayli M., Demirtaş M., Inal T., Demir M., Koç M., Avkaroğullari M., Dönmez Y., Usal A., Alhan C.C., San M. The effect of early statin treatment on inflammation and cardiac events in acute coronary syndrome patients with low-density lipoprotein cholesterol. *Heart Vessels.* 2006. V. 21. № 5. P. 291–297.
31. Chae J.S., Kim O.Y., Paik J.K., Kang R., Seo W.J., Jeong T.S., Sweeney G., Lee S.H., Lee J.H. Association of Lp-PLA(2) activity and LDL size with interleukin-6, an inflammatory cytokine and oxidized LDL, a marker of oxidative stress, in women with metabolic syndrome. *Atherosclerosis.* 2011. V. 218. № 2. P. 499–506.
32. Saggini A., Anogeianaki A., Maccauro G., Tete S., Salini V., Caraffa A., Conti F., Fulcheri M., Galzio R., Shaik-Dasthagirisaheb Y.B. Cholesterol, cytokines and diseases. *Int. J. Immunopathol. Pharmacol.* 2011. V. 24. № 3. P. 567–581.
33. Koc H., King J., Teschl G., Unterkofler K., Teschl S., Mochalski P., Hinterhuber H., Amann A. The role of mathematical modeling in VOC analysis using isoprene as a prototypic example. *J. Breath Res.* 2011. V. 5. № 3. P. 37102-37109.
34. Straub R.H., Weidler C., Demmel B., Herrmann M., Kees F., Schmidt M., Schölmerich

- J., Schedel J. Renal clearance and daily excretion of cortisol and adrenal androgens in patients with rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. *Ann. Rheum. Dis.* 2004. V. 63. № 8. P. 961–968.
35. Hennebert O., Chalbot S., Alran S., Morfin R. Dehydroepiandrosterone 7 α -hydroxylation in human tissues: possible interference with type 1 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase-mediated processes. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 2007. V. 104. P. 326–333.
36. Dulos J., van der Vleuten M.A., Kavelaars A., Heijnen C.J., Boots A.M. CYP7B expression and activity in fibroblast-like synoviocytes from patients with rheumatoid arthritis: regulation by proinflammatory cytokines. *Arthritis Rheum.* 2005. V. 52. № 3. P. 770–778.

Материал поступил в редакцию 11.10.2011, опубликован 28.10.2011.