

Федеральное государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего образования
«Волгоградский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

Отчетная работа

по результатам выполнения индивидуальных заданий учебной практики
«Профильная учебная практика по биохимии»

на тему:

«Применение ^{список} Масс-спектрометрического анализа»

Выполнили:

студенты 3 курса 2 группы

Медико-биологического факультета

Направления подготовки Биология

Профиль Биохимия

Киндерова Анастасия Геннадиевна

Кобец Анна Александровна

Мараховская Алена Дмитриевна

Проверил:

Доцент кафедры фундаментальной

медицины и биологии, к.м.н.

Морковин Евгений Игоревич

*Существенное улучшение
в формате работы и
оформлении работы*

20.08.2017

С помощью методов ВЭЖХ-МС возможно определить широкий спектр различных соединений (гормоны, биомаркеры, токсины в биологических жидкостях и тканях, витамины), провести мониторинг лекарственных препаратов, изучить наследственные нарушения метаболизма и т. д.

Клинические исследования с применением ВЭЖХ-МС *полуприем*

Исследования врожденных пороков метаболизма (жирные кислоты, аминокислоты, оксидативные нарушения, формы гемоглобинов);

Терапевтический мониторинг лекарственных средств (иммунодепрессанты, обезболивающие препараты, нейролептики, противосудорожные препараты, антираковые агенты);

Биомаркеры (витамин D и его метаболиты, гомоцистеин, оротовая кислота, раковые маркеры);

Токсикологические исследования (полный скрининг лекарств, каннабиоиды, опиаты, амфетамины, барбитураты).

Исследования врожденных пороков метаболизма (НБО).

1. Аминокислоты. Анализ на аминокислоты проводится с целью выявления заболеваний, связанных с нарушением метаболизма. Данный вид анализа назначается чаще всего детям.

Признаками нарушения метаболизма аминокислот являются: нарушение зрения, умственная отсталость, судороги, поражения кожи, изменение органолептических показателей мочи. К таким заболеваниям относятся тирозиноз, фенилкетонурия.

2. Желчные кислоты. С помощью тандемной масс-спектрометрии можно определить посторонние метаболиты желчных кислот, появляющихся при

нарушениях метаболизма холестерина и липидов (хронические заболевания печени неизвестной этиологии, синдром Целлевегера, тирозинемии типа I, билиарной атрезии), концентрации конъюгированных желчных кислот в различных биологических жидкостях[5].

3. Катехоламины. Определение концентрации метанефрина и норметанефрина позволяет диагностировать опухоли надпочечников и нервных тканей. Лабораторное исследование проводят при феохромоцитоме, нейробластоме, ганглионевроме, в период кризов гипертонической болезни.

С помощью ВЭЖХ проводят разделение плазмы крови на компоненты, а с помощью МС идентифицирует вещества и определяет их количество. Данный анализ позволяет находить остаточные следы органических веществ в плазме крови на уровне наноконцентраций[1].

Терапевтический мониторинг лекарственных средств.

Лекарственный мониторинг крови применяется для определения оптимальных доз сильнодействующих препаратов или корректировки этих доз.

Преимущества метода:

Высокая чувствительность и точность определения;

Универсальность применения (возможно исследование более 95% всех лекарственных средств);

Возможность быстрого переключения с определения одного препарата на другой (при условии наличия метода определения),

Относительно невысокая стоимость анализа (закрывающаяся в малых количествах используемых реактивов и прочих затратах).

Определяют концентрацию лекарственного вещества в различных биологических жидкостях (кровь, моча, спинномозговая жидкость, амниотическая жидкость и др.) в определенные моменты времени после приема препарата [12].

Биомаркеры *— консультируются*

Биомаркеры *⊕* это такие показатели, которые могут быть использованы в качестве индикаторов какого-либо болезненного или физиологического состояния организма.

1. Гомоцистеин (Hcy) – серосодержащая аминокислота, не встречающаяся в белках. Продукт метаболизма метионина (Met). Возрастание концентрации гомоцистеина приводит к повреждению эндотелия и образованию тромбов и атеросклеротических бляшек, повышению риска возникновения болезни Альцгеймера и старческого слабоумия. При сочетании гипергомоцистеинемии и сахарного диабета чаще возникают сосудистые осложнения *⊕* заболевания периферических сосудов, нефропатия, ретинопатия и др. Во время беременности повышенные уровни гомоцистеина приводят к нарушениям фетоплацентарного кровообращения, что может быть причиной невынашивания беременности и бесплодия в результате дефектов имплантации зародыша.

Различают несколько форм гипергомоцистеинемии (ГГЦ)

Тяжелая форма ГГЦ (>100 $\mu\text{моль/л}$);

Умеренная форма ГГЦ ($30-100$ $\mu\text{моль/л}$);

Легкая форма ГГЦ ($10-30$ $\mu\text{моль/л}$) [24].

Легкая форма ГГЦ

2. Пурины и пиримидины. При нарушении метаболизма пуринов и пиримидинов (недостаточности пуриноклеозидфосфорилазы,

орнитинтранскарбамилазы, молибденового кофактора, аденилосукциназы, дегидропиримидиндегидрогеназы) в сыворотке, моче или клетках крови обнаруживаются аномальные метаболиты. Так, разработаны быстрые методы тандемной масс-спектрометрии, позволяющие количественно определять от 17 до 24 пуринов и пиримидинов в моче в одном анализе.

3. Витамин D. При дефиците витамина **Витамина D** возможно развитие таких патологических заболеваний и состояний, как рахит, остеопороз, остеомалация. Витамин D имеет большое значение и для органов дыхания. Недостаток **Витамина D** может увеличить риск развития некоторых видов рака, иммунных и сердечно-сосудистых заболеваний. Существует две основные формы **Витамина D**: 25-гидроксикальциферол и 1,25-дигидроксивитамин D. Оценка количества **Витамина D** производится благодаря определению концентрации в организме 25-гидроксикальциферола.

Токсикологические исследования

— Неутрафактор

Метод ВЭЖХ-МС/МС благодаря возможности быстрого проведения анализа различных лекарственных препаратов и наркотических веществ с высокой избирательностью и специфичностью получил применение и в судебных исследованиях.

С помощью данного метода можно определить в биологических материалах группы наркотических средств, психотропных и сильнодействующих веществ, (опиаты и их синтетические аналоги: героин, морфин, метадон, трамадон); амфетамин и производные амфетамина (метамфетамин, экстази); наркотические средства из конопли (марихуана, гашиш); барбитураты (фенобарбитал, циклобарбитал, барбитал), бензодиазепины (реланиум, феназепам, седуксен и т.д); фенциклидин; кокаин.

Кросс-реакция также на псевдоэфедрин, хлорохин, фенилпропаноламин, эфедрин, тирамин, ранитидин, фенфлюрамин.

3.2. Протеомика. Протеомика – наука, изучающая белки организма, их функции и взаимодействия в живых организмах.

Масс-спектрометрия устанавливает состав молекулы, структуру, изотопный состав и массу молекулы.

В протеомике чаще всего используют такой вид ионизации как MALDI. Метод позволяет анализировать такие биополимеры, как полисахара, пептиды и макромолекулы, без риска повредить их структуру. Матрица защищает молекулы от разрушения лазером.

В клинической биохимии анализ индивидуальных белков человека используется для:

- диагностики вида патологического процесса (дистрофии, опухолевый рост, воспаление) и определения пораженного органа (инфаркт миокарда);

- установления природы патологии, например, при диагностике энзимопатий, инфекционных (гепатит) и других заболеваний; - оценки течения различных физиологических процессов (беременность, развитие иммунной системы) и обнаружения осложнений в их течении (патология беременности).

Список литературы:

2. Бёккер К. Хроматография. Инструментальная аналитика: методы хроматографии и капиллярного электрофореза.- Москва.: Техносфера, 2009. – 472 с.
3. Винарский В. А. Хроматография [Электронный ресурс]/ Курс лекций в двух частях: Часть 1. Газовая хроматография. - Режим доступа: <http://anubis.bsu.by/publications/elresources/Chemistry/vinarski.pdf>
4. Жидкостная хроматография: книга/ Под ред. В. Ф. Крамаренко.- М.:Техносфера", 2009.- 264 с.