

УДК 615.471.03:616—074:543.544+616—073.584

О ДИАГНОСТИЧЕСКИХ ВОЗМОЖНОСТЯХ ХРОМАТО-МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ В ПСИХИАТРИИ *

Дмитриев М.Т., Малышева А.Г., Растянинников Е.Г.

*Институт общей и коммунальной гигиены
им. А.Н.Смечина АМН СССР, Москва*

Установлено присутствие в продуктах жизнедеятельности больных с психическими расстройствами предельных углеводородов и их изомеров, нафтоновых, ароматических углеводородов, серу- и азотсодержащих соединений, эфиров, спиртов, альдегидов, кетонов, кислород- и хлорсодержащих соединений. Общее количество идентифицированных специфических соединений составляет несколько тысяч. Изучение механизмов психических расстройств на молекулярном уровне и идентификация метаболитов мозга может существенно приблизить к инструментальной, объективной диагностике этих заболеваний. Актуальной задачей является создание компьютерного банка хромато-масс-спектрометрических данных, характеризующих связи между содержанием специфических соединений в различных биологических средах и психическими заболеваниями. Банк данных позволит также выявить влияние загрязнения окружающей среды (токсикантов) на распространенность психических заболеваний.

* * *

В современной медицине наиболее эффективными признаются методы исследования на молекулярном уровне. Как было установлено во многих работах [1—3], молекулы, наряду с клетками, могут рассматриваться в качестве основных структурных единиц организма. Между различными макросистемами организма происходит непрерывный обмен молекул, часть которых выделяется в окружающую среду с продуктами жизнедеятельности [4, 5]. Нарушение же равновесия между макросистемами в предпатологическом состоянии или при заболевании приводит и к нарушениям в обмене молекулами. Для различных состояний организма и заболеваний характерны свои составы выделяемых специфических химических соединений, а также интенсивности их выделения [6]. На основании анализа состава таких веществ в последние годы разработаны эффективные методы хромато-масс-спектрометрической диагностики туберкулеза [7], панкреатита, цирроза печени, энзимопатии [8], гинекологических и стоматологических заболеваний [9, 10]. Этим успехам способствовало усовершенствование масс-спектрометрической аппаратуры, в частности разработка устройств для подготовки, концентрирования и анализа биопроб, ввода их в хромато-масс-спектрометр, более широкое использование электронно-вычислительной техники [11]. В диагностике психических заболеваний объективные инструментальные методы используются недостаточно, и это приводит к неоднозначности результатов такого диагностирования и к ошибкам при установлении связи их результатов с заболеваемостью. Еще в ранних руководствах указывалось на значительные аномалии у больных с психическими расстройствами в составе пота, мочи, слюны

(при неврастении, истерии, эпилепсии и др.) [12]. Недавно было установлено, что при шизофрении в выдыхаемом воздухе появляются в значительных количествах предельные углеводороды [13]. Специфические соединения выдыхаются и при эпилепсии.

Превращения химических веществ в биохимических процессах играют важнейшую роль в жизнедеятельности клеток мозга. Воздействием химических веществ, выделяемых глиальными клетками, управляется рост нейробластов, адгезия взаимораспознаваемых клеток, деятельность факторов роста нервов, способствующая выживанию нейронов, и возникновение нервных молекулярных меток с аксонами нервных клеток. Активация выделения химических веществ, в частности медиаторов, обуславливает проводимость синапсов. Иммунохимические реакции также связаны с синтезом и выделением веществ-коннекторов. В последние годы все более утверждается мнение, что если в организме животных или растений синтезируются какие-либо биологически активные соединения (природные стимуляторы), роль которых еще не ясна, то нельзя говорить об их бесполезности. Иногда вклад таких веществ в жизнедеятельность организма может быть весьма значительным [14].

Эндогенные химические соединения, вырабатываемые в мозгу и обладающие психотропным и анксиолитическим действиями, могут иметь большое диагностическое значение. При психических заболеваниях возможно спонтанное включение нейронов, что также может вызываться выделением специфических веществ.

У больных эндогенными психозами, находящимися в состоянии депрессии, выявлено увеличение активности процессов ПОЛ биомембран; образующиеся при этом вещества определяют нарушения в тканях мозга при психических заболеваниях. Эти химические соединения, несомненно, поступают в кровеносную систему, а затем, естественно, в выдыхаемый воздух и другие продукты жизнедеятельности. Обнаружение таких веществ открывает широкие диагностические возможности в психиатрии. Для идентификации таких метаболитов наиболее пригоден метод хромато-масс-спектрометрии, который наиболее эффективен для определения молекулярного состава различных биологических материалов, таких как выдыхаемый воздух, кровь, моча, пот, слюна, кал, гомогенизированные биологические материалы, жидкости, смывы, ногти, волосы [15].

Для определения специфических веществ в биологических средах и жидкостях пациентов мы использовали хромато-масс-спектрометр LKB-2091 (Швеция) с системой обработки данных LKB-2130. Предварительная подготовка проб биологических жидкостей (крови, мочи, слюны, смывов и др.) для хроматографического анализа осуществлялась методом, сочетающим газовую экстракцию с адсорбционным концентрированием, который позволяет достичь высокой чувствительности определения [16, 17].

Биологические жидкости или их водные растворы помещали в поглощающий прибор I (рис.1, а), к отводящему патрубку которого подсоединяли концентрирующую трубку 3 длиной 20 см и внутренним диаметром 4 мм с сорбентом тенаксом (поли-2,6-дифенил-пара-фениленоксидом). Поглощающий прибор представляет собой U-образную трубку с впаянным в виде пластины пористым стеклянным фильтром. Стеклянный фильтр

сделан из спекшейся массы стекла с различными величинами пор. Сорбент тенакс, использовавшийся для концентрирования проб, характеризуется высокой термостабильностью и умеренной адсорбционной активностью, что позволяет легко и количественно десорбировать с его поверхности высшие углеводороды вплоть до октадекана при $280-300^{\circ}$, химической инертностью к большинству органических соединений, гидрофобностью. Последнее качество (удельная влагоемкость всего 6 мг/г) крайне важно, так как при исследовании биологических жидкостей приходится сталкиваться с трудной задачей отделения от определяемых веществ большого количества воды, которая сильно мешает анализу или даже делает его невозможным.

Специфические органические соединения из биологических жидкостей извлекали, продувая через пробу гелий высокой чистоты. Скорость газа устанавливали на уровне 200 мл/мин с помощью игольчатого вентиля 4 и измеряли ротаметром 5 на выходе из поглотительной трубки. Барботируя через биологические смывы, гелий выдувал летучие растворенные вещества, которые попадали в заполненную тенаксом трубку, в которой происходила их адсорбция. Поскольку пары воды слабо удерживаются тенаксом, большая их часть выносилась из поглотительной трубки током гелия. По истечении определенного времени трубку снимали и помещали в электропечь. Адсорбированные тенаксом вещества десорбировали, нагревая поглотительную трубку 3 до температуры $200-300^{\circ}$ (рис.1, б). Десорбированные

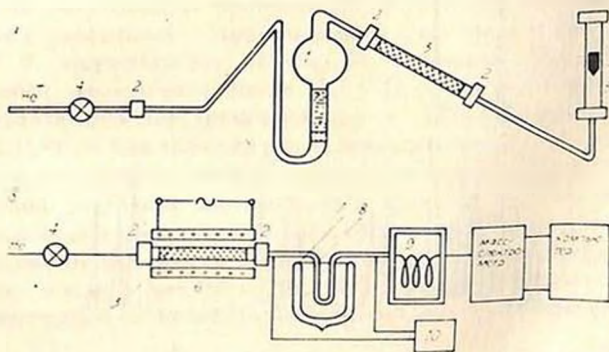


Рис.1. Схема установок для извлечения специфических веществ из биопробы (а) и их термодесорбции (б) для хромато-масс-спектрометрического анализа: 1 — поглотительный прибор, 2 — металлические уплотнительные муфты, 3 — концентрирующая пробоотборная трубка с сорбентом, 4 — игольчатый вентиль тонкой регулировки, 5 — ротаметр, 6 — раздвижная электропечь, 7 — сосуд Дьюара с жидким азотом, 8 — металлический капилляр, 9 — хроматографическая колонка

вещества поступали в охлаждаемый жидким азотом узкий металлический капилляр. По окончании процесса термодесорбции капилляр размораживали и вещество вводили в капиллярную хроматографическую колонку длиной 50 см и внутренним диаметром 0,3 мм, обработанную силиконом

SE-30, которая соединялась с масс-спектрометром. Хроматографическое разделение в течение первых 5 мин проводили при комнатной температуре, затем температуру колонки повышали до 150° со скоростью 5° в мин.

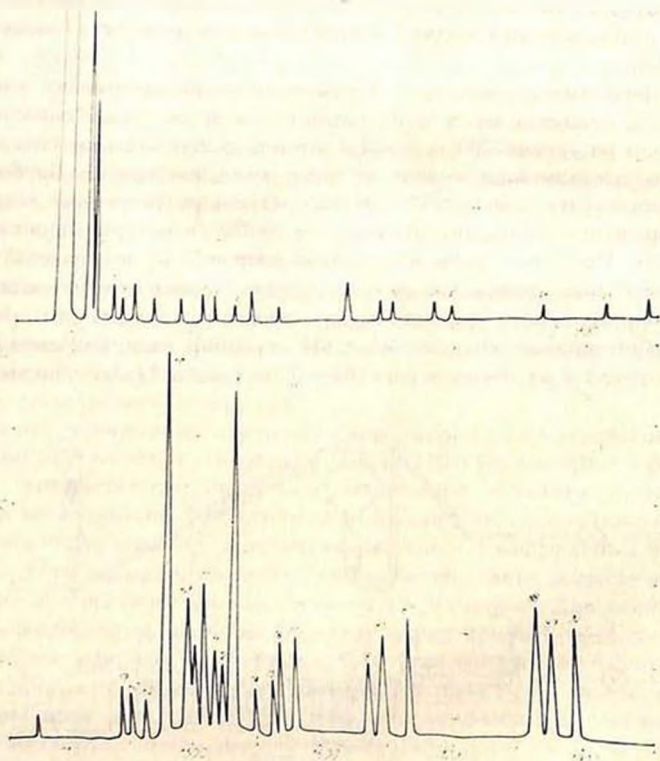


Рис.2. Часть масс-хроматограммы по полному ионному току выдыхаемого воздуха больного шизофренией. Идентифицированные соединения: 1— углекислый газ, 2— ацетальдегид, 3— ацетон, 4— изопрен, 5— изопентан, 6— этилмеркаптан, 7— пентан, 8— 2-метилпентан, 9— 3-метилпентан, 10— гексан, 11— метилциклопентан, 12— 2,4-диметилпентан, 13— триметиламин, 14— этилацетат, 15— 3-метилбутаналь, 16— бензол, 17— изопропиламин, 18— 2-пентанон, 19— 4-пентаналь, 20— циклогексан, 21— 2-метилгексан, 22— 3-метилгексан, 23— пентаналь, 24— 2,2,4-триметилпентан, 25— гептан, 26— метилциклогексан, 27— диметилсульфид, 28— триметилциклопентан, 29— 2,3,4-триметилпентан, 30— толуол, 31— пирролидин, 32— изобутилацетат, 33— 2,3-диметилгексан, 34— 2-метилгептан, 35— 1,3-диметилциклогексан, 36— 3-метилгептан, 37— гексаналь, 38— этилбутират, 39— 2,2,3-триметилпентан.

40— диметилциклогексан, 41— тетрахлорэтилен, 42— октан, 43—бутилацетат, 44— амилмеркаптан, 45— этилциклогексан, 46— 1,1,3-триметилциклогексан, 47— 2,5-диметилдоктан, 48— этилбензол, 49— м.п.-ксилол, 50— 2,3-диметилгептан, 51— 2-метилдоктан, 52— о-ксилол, 53—55— изомеры нонана, 56— 2,5,5-триметилгептан, 57— нонан, 58— изопропилбензол, 59,60, 62, 68—72— изомеры декана, 61— пропилциклогексан, 63— 2,6-диметилдоктан, 64— 2,3-диметилдоктан, 65— 1-метил-3-этилбензол, 66— 1,3,5-триметилбензол, 67— 4и-пропилгептан, 73— н-декан, 74—78,83— изомеры ундекана, 79— н-бутилбензол, 80— 1,3-диметил-5-этилбензол, 81— 1-метил-2и-пропилбензол, 82— 1,4-диметил-2-этилбензол, 84— алкен ундекана, 85— нональ, 86— 1,2,4,5-тетраметилбензол, 87— ундекан, 88, 89— изомеры додекана, 90— амилциклогексан, 91— деканаль, 92— додекан

На рис.2 в качестве примера приведена часть масс-хроматограммы пробы воздуха, выдыхаемого больным шизофренией. Для сравнения на рис.3 приведена часть масс-хроматограммы воздуха, выдыхаемого практически здоровым человеком. Сравнение рис. 2 и 3 показывает, что состав выдыхаемого воздуха больными шизофренией намного сложнее состава выдыхаемого воздуха здорового человека. Это видно при сопоставлении количества интенсивности пиков на обоих рисунках.

Разделенные компоненты смеси идентифицировали, сравнивая экспериментально полученные масс-спектры со спектрами библиотеки [18, 19]. Масс-спектр является строго специфической характеристикой конкретного вещества, наиболее информативной для его идентификации. На рис. 4 приведены масс-спектры типичных соединений для выдыхаемого воздуха больного шизофренией — триметиламина и изопропиламина (пики 13 и 17 на рис. 2, отсутствующие на рис. 3). Молекулы этих веществ имеют одинаковый элементный состав — C_3H_9N , но отличаются строением (структурная формула триметиламина — $(CH_3)_3N$, изопропиламина — $(CH_3)_2CHNH_2$). Как видно из рис. 4, масс-спектры этих молекул различны. Наиболее интенсивные пики каждой из трех групп ионов спектра имеют совершенно различные значения m/z (пики с m/z 15, 30 и 42 для триметиламина и пики с m/z 18, 29 и 44 для изопропиламина). Пики ионов с одинаковыми значениями m/z значительно отличаются интенсивностями (см. пики ионов с m/z 58 и 59). Таким образом, анализ масс-спектров позволяет провести практически однозначную идентификацию этих веществ.

Обследование нами нескольких десятков пациентов показало, что в выдыхаемом воздухе больных шизофренией может наблюдаться следующее содержание специфических соединений в $мкг/м^3$ (в скобках приведено содержание в норме): предельных углеводородов — пентана 14560 (4920), гексана 1580 (526), октана 1220 (470), нонана и изомеров 705 (250), декана и изомеров 690 (230), ундекана и изомеров 510 (215), додекана и изомеров 505 (202); нафтеновых углеводородов — метилциклопентана 1210 (460), триметилциклопентана 1100 (390), диметилциклогексана 725 (250), этилциклогексана 1040 (380), пропилциклогексана 740 (260), амилциклогексана 690 (256); ароматических соединений — толуола 4622 (1926), ксилола 2038 (784), этилбензола 4270 (1708), триметилбензола 70 (25), изопропилбензола 318 (123), бутилбензола 74 (31), 1-метил-3-этилбензола 374 (162), 1,3-диметил-5-этилбензола 65 (31); кислородсодержащих соеди-

нений — ацетальдегида 629 (242), гексаналя 201 (70), нонаняля 36 (14), деканаля 23 (11), ацетона 1854 (662), пентанона 53 (5), этилацетата 1624

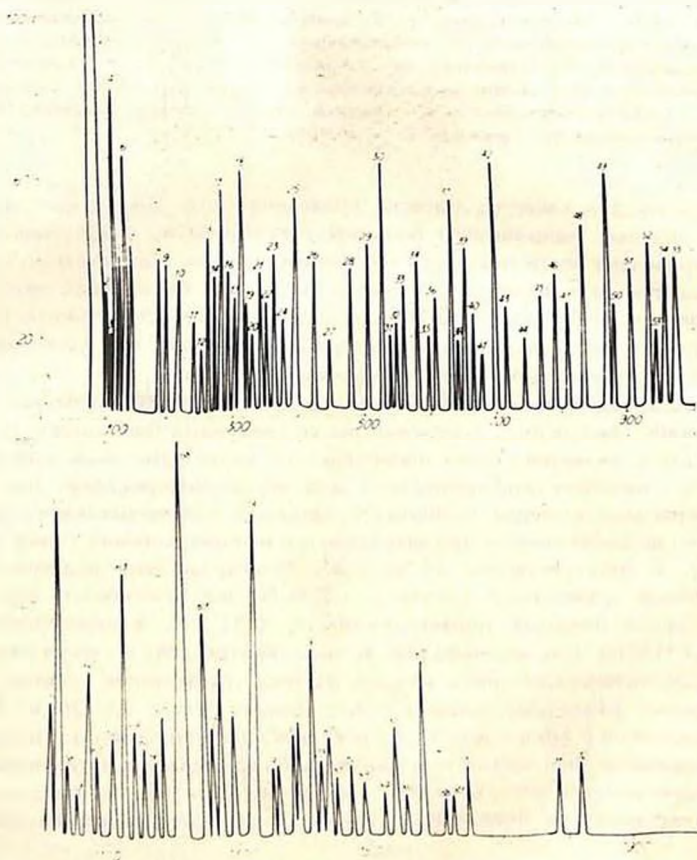


Рис.3. Часть масс-хроматограммы по полному ионному току выдыхаемого воздуха практически здорового человека. Наименования идентифицированных веществ приведены в подписи к рис.2

(706), бутилацетата 1160 (552), изобутилацетата 778 (324); серусодержащих соединений — этилмеркаптана 75 (5,2), диметилсульфида 88 (37), амилмеркаптана 31 (3,4); азотсодержащих соединений — изопропиламина 1466 (698), триметиламина 530 (210), пирролидина 8,3 (0,1); хлорсодержащих углеводородов — тетрахлорэтилена 549 (210); непредельных углеводородов — изопрена 5670 (2700) и др.

Знание строения и количественного содержания этих метаболитов мозга при психических расстройствах может создать основы инструментальной, объективной диагностики этих заболеваний. Поэтому актуальной задачей является создание во Всесоюзном научном центре психического

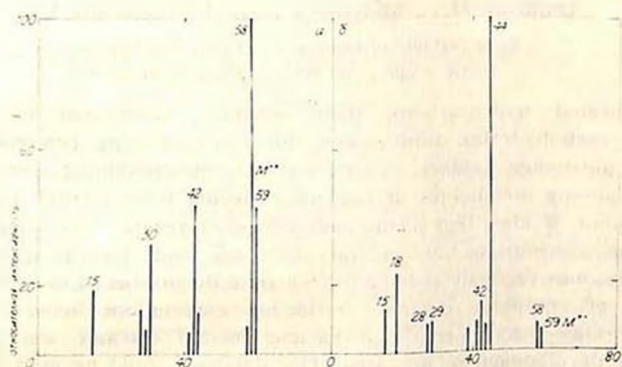


Рис.4 Масс-спектры типичных специфических соединений выдыхаемого воздуха больного шизофренией: триметиламина (а) и изопропиламина (б)

здоровья АМН СССР или в другом компетентном учреждении компьютерного банка хромато-масс-спектрометрических данных химических соединений, встречающихся в различных биологических материалах пациентов с психическими и другими заболеваниями. При хромато-масс-спектрометрическом исследовании биологического материала, полученного от больных, часто удается идентифицировать многие сотни специфических химических веществ. Расчеты показали, что с учетом лишь 500 специфических соединений можно диагностировать более 20 миллионов заболеваний [11], в то время как число известных болезней не превышает 10 тысяч, а количество симптомов — 100 тысяч. Использование хромато-масс-спектрометрического анализа биологических материалов при профилактических обследованиях людей может позволить обнаружить самые ранние изменения в организме, диагностировать психические заболевания и некоторые другие патологические изменения.

Созданный на основе результатов хромато-масс-спектрометрического анализа биологических материалов здоровых и больных людей банк данных различных специфических веществ может быть активно использован при поиске эффективных эндогенных психотропных и многих других лечебных препаратов. Такой банк данных был бы полезен при выявлении влияния загрязнений окружающей среды (токсикантов) на распространенность психических заболеваний. Кроме того, наличие банка таких данных позволит наиболее эффективно методом хромато-масс-спектрометрии диагностировать самые различные виды токсикомании, начиная с алкоголизма, и проводить судебно-психиатрические экспертизы.

Авторы выражают глубокую благодарность акад. АМН СССР О.В.Кербикову и член-корр. АН СССР И. А. Рапопорту за обсуждение работы и ценные советы.

DIAGNOSTIC POTENTIAL OF CHROMATO-MASS-SPECTROMETRY IN PSYCHIATRY

Dmitriev M.T., Malysheva A.G., Rastyannikov E.G.

*Sysin Institute of General and Communal Hygiene,
USSR Academy of Medical Sciences, Moscow*

Saturated hydrocarbons, their isomers, unsaturated naphtenic and aromatic carbohydrates, sulphur-and nitrogen-containing compounds, ethers, alcohols, aldehydes, ketones, oxygen-and chlorine-containing compounds were detected among metabolites of patients suffering from mental disorders. The total amount of identified compounds exceeded several thousands. Studies of molecular mechanisms of mental disorders and identification of brain metabolites may facilitate reliable instrumental diagnostics of these diseases. The creation of computer database reflecting correlations between results of chromato-mass-spectrometry and various mental diseases was proposed as a further development in this area. This database could be used to assess the effect of environmental pollution (toxikants) upon distribution of mental diseases.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Дмитриев М.Т., Растянников Е.Г., Малышева А.Г. *Вопр. мед. химии*, N6, с.122, 1982.
2. Ishizaka K. *Annual. Rev. Immunol.*, v.2, p.159, 1984.
3. Pauling L., Robinson A., Teranishy R., Cary P. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA. Biol. Sci.*, v.68, N10, p.2374, 1971.
4. Дмитриев М.Т., Растянников Е.Г., Малышева А.Г. *Лаб. дело*, N1, с.10, 1983.
5. Leibich H.M., Al-Babbilli O., Zlatkis A., Kim K. *Clin. Chem.*, v.21, p.1294, 1975.
6. Дмитриев М.Т., Растянников Е.Г., Малышева А.Г. *Лаб. дело*, N10, с.608, 1985.
7. Дмитриев М.Т., Растянников Е.Г., Малышева А.Г. *Пробл. туберкулеза*, N6, с.28, 1986.
8. Tonzetich I. *Arch. oral. Biol.*, v.16, p.587, 1971.
9. Дмитриев М.Т., Растянников Е.Г., Малышева А. Г. *Вопр. охраны материнства и детства*, т.31, N6, с.72, 1986.
10. Дмитриев М.Т., Растянников Е.Г., Малышева А.Г. *Стоматология*, N3, с.16, 1983.
11. Дмитриев М.Т., Малышева А.Г., Растянников Е.Г. *Медицинская техника*, N1, с.17, 1987.
12. Шелли Х. *Клинические исследования*, Петербург, вып.3, с.1248, 1910.
13. Dmitriev M.T., Rastyannikov E.G., Malysheva A.G., Volkov S.A. *Int. Labor.*, v.16, N5, p.40, 1986.
14. Дмитриев М.Т., Растянников Е.Г., Малышева А.Г. *Растительные ресурсы*, N1, с.79, 1986.
15. Дмитриев М.Т., Растянников Е.Г., Малышева А.Г. *Лаб. дело*, N4, с.223, 1986.
16. Витенберг А.Г., Иоффе Б. В. *Газовая экстракция в хроматографическом анализе*, Л., Химия, 1982.
17. Хахенберг Х., Шмидт А. *Газохроматографический анализ равновесной паровой фазы*, М., Мир, 1979.
18. Cornu A., Massot R. *Compilation of Mass Spectral Data*, London, Heyden and Son Ltd, Spectrum House, 1975.
19. Stenhagen E., Abrahamson S., McLafferty F.W. *Registry of Mass Spectral Data*, New York, Wiley-Interscience Publication, 1974.

Поступила 27.03.1989