

УДК 615.015+615.32

В. Г. МАНУСАДЖЯН

ПРИМЕНЕНИЕ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ В МЕДИКО-
БИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

Разработан и рекомендован универсальный метод изучения строения молекул биологически активных веществ. С его помощью можно идентифицировать или установить строение неизвестных метаболитов аминокислот, пептидов, стероидов, углеводов, биогенных аминов, нуклеотидов, жирных кислот и др. липидов. Метод позволяет изучить фармакодинамику лекарственных веществ. С его помощью можно проявлять хроматограммы, идентифицируя неизвестное вещество.

Современная масс-спектрометрия является одной из универсальных физических методик изучения строения вещества на молекулярном уровне. С помощью масс-спектрометрии были изучены основные биохимические компоненты организма: аминокислоты, короткие пептиды, нуклеотиды и их производные, углеводы, стероиды, жиры и жирные кислоты, витамины, медиаторы, такие, как адреналин, серотонин, гистамин и др., а также были проанализированы природно-активные вещества типа антибиотиков, хлорпромазина, лекарственных препаратов и т. д. С помощью этого же метода было выяснено строение неизвестных аминокислот и некоторых других веществ.

Несмотря на такое разнообразие применения масс-спектрометрии в химии, биохимии и биологии, приложение сведений, накопленных в этих областях, все еще не нашло достаточно широкого применения в медико-биологической проблематике. Это объясняется скорее всего техническими трудностями применения, трудоемкостью метода и относительной непригодностью прибора для проведения анализов особенно в клинических условиях. Большие трудности могут встретиться и в интерпретации полученных результатов. Все это требует дополнительного исследования и совершенствования техники анализа.

Несмотря на то, что масс-спектрометрия за последние годы получила чрезвычайно разнообразное применение, ее приложение ограничивалось в основном только химическими анализами. Масс-спектрометр, как аналитический прибор, в медико-биологических исследованиях еще не нашел должного применения. Чрезвычайно интересной является возможность применения масс-спектрометрии к живым организмам в области газового анализа.

Диагностика заболеваний легких могла бы получить чувствительный и простой прибор в виде радиочастотного масс-спектрометра, который имеет сравнительно малые размеры и позволяет вести непрерывную запись газового обмена. При должном развитии можно проводить

анализ и других легколетучих компонентов живой ткани. Возможно также сочетание масс-спектрометра с другими аналитическими средствами, например, газовой хроматографией, которая позволяет проводить предварительный анализ сложных многокомпонентных смесей. Таким путем, например, может быть проанализирована смесь из разнообразных аминокислот, взятая в небольшом количестве.

Чтобы показать преимущество масс-спектрометрии перед другими методами анализа газовых или молекулярных соединений, приведем характеристики выходных сигналов приемных устройств. Мощность выходного сигнала, как правило, является тем фактором, который ограничивает чувствительность того или иного метода. Этот показатель весьма важен в медико-биологических исследованиях, для которых количество образца может быть настолько мало, что может явиться ограничивающим фактором.

Порядок величин мощности

терромагнитный	$10^{-4} - 10^{-5}$ Вт;
оптико-акустический	$10^{-8} - 10^{-9}$ Вт;
фотоколориметрический	$10^{-9} - 10^{-10}$ Вт;
масс-спектрометрический	$10^{-10} - 10^{-17}$ Вт.

Из приведенных данных видно, что при развитии прикладной масс-спектрометрии можно добиться большой точности. Это может привести к переходу исследований на совершенно новый уровень—проведение анализов на уровне клеток. Такая перспектива позволяет надеяться на значительные сокращения сроков выявления того или иного заболевания, связанного в основном с нарушениями внутриклеточных обменных процессов.

Помимо сказанного, масс-спектрометрия обладает и другой не менее важной возможностью. Речь идет о сокращении времени анализа до миллисекунд. Скоростная спектроскопия во многих случаях могла бы позволить получить информацию, которую невозможно получить на высокоинерционных датчиках. Например, возможность проведения непрерывного анализа выдыхаемых газов (подобно электрокардиограмме) позволяет судить о более тонких патологических изменениях, происходящих в ткани легких, а также во всем организме при легочном дыхании.

Для эффективного использования масс-спектрометра в медицине он должен позволять: а) проводить анализ до 10^{-8} г, т. е. ошибка в определении количества вещества в 1 мкг должна лежать ниже 1%; б) метод должен позволять проводить минимум один анализ в день; в) должен позволять получать надежные результаты, используя разовую пробу при работе с очень большим шумовым сигналом, поскольку любая экстракция будет представлять многокомпонентную смесь веществ. Этим условиям масс-спектрометрия отвечает в наибольшей степени. Более того, она внеконкурентна по своей чувствительности и информативности о строении молекул. Ее трудоемкость и сложность

аппаратуры лимитирует широкое применение в клинических биохимических лабораториях. Однако метод рентабелен при обслуживании больших клиник и проведении уникальных анализов, недоступных при решении другими способами.

Основные приемы масс-спектрометрического анализа в медицине сводятся к следующему. Экстракты, полученные из биопробы, могут анализироваться или непосредственно введением в ионный источник прибора, или разгоняться с помощью тонкослойной и бумажной хроматографии. В первом случае анализ проводится при постоянном повышении температуры, что приводит к фракционированию низко- и высококипящих компонентов. Анализ элюата с хроматограммы облегчает дешифровку масс-спектра, но при этом теряется значительное количество вещества. Можно проводить анализ вырезанной полоски бумаги с хроматограммы или с интересующего участка тонкослойной хроматографии. Выбор оптимальных условий снятия спектров проводится обычно предварительно с помощью эталонных химически чистых веществ. Лаборатория, как правило, должна располагать каталогом спектров различных классов соединений, что позволит определить строение неизвестного метаболита. Наиболее перспективен анализ с помощью ЭВМ, специально выпускаемого для масс-спектрометров с объемом памяти, достаточным для хранения необходимой информации и ее обработки при дешифровке спектров. Метод сочетается с газовой и газо-жидкостной хроматографией. Наиболее полная лаборатория содержит также ряд тонких методов, как инфракрасная, ультрафиолетовая и видимая спектроскопия, ядерный магнитный резонанс.

Принцип масс-спектрометров аналогичен ускорителям заряженных частиц, поэтому они представляют собой малые ускорители тяжелых частиц, в частности молекул.

Этот принцип заключается в различном движении заряженных частиц с определенной массой по различным траекториям в стационарных или переменных электрических и магнитных полях. Существует большое число масс-спектрометров с постоянным магнитным полем, с переменным радиочастотным полем (радиочастотные масс-спектрометры), с циклической траекторией (омегатронные масс-спектрометры), квадрупольные приборы и т. д. Наиболее широко в лабораториях используются магнитные спектрометры. Основной характеристикой является диапазон массовых чисел, т. е. способность прибора регистрировать с хорошим разрешением верхний предел масс. Приборы высокого разрешения позволяют анализировать вещества с массовыми числами до 2000 а. е. м. Для специальных исследований этот предел на порядок выше. Обычные приборы со средней разрешающей способностью 400—600 позволяют работать с веществами, молекулярный вес которых лежит в пределах 300—500 а. е. м.

Таким образом, масс-спектрометры—наиболее точные весы, которые «взвешивают» отдельные молекулы и дают характеристику основного параметра вещества—его массе. Они выпускаются часто сов-

местно с газожидкостной хроматографией, ЭВМ и другими приспособлениями (в общей сложности выпускается более ста видов масс-спектрометров).

Основная информация, получаемая с помощью масс-спектрометра: прибор позволяет точно установить молекулярный вес анализируемого вещества и тем самым выяснять брутто-формулу молекулы. Кроме того, метод позволяет определять устойчивость молекул к электронному удару, к фотоионизации, моделировать мономолекулярные перегруппировочные процессы, которые могут иметь место при ферментативных процессах, определять сродство к электрону и потенциал ионизации, устанавливать сродство к протонному захвату и т. д. Метод очень широко применяется как идентификационный при работе с низкими концентрациями, недоступными для других методов. В этом отношении он позволяет однозначно выделить интересующее вещество среди других метаболитов. Многие возможности приложения масс-спектрометрии в медицине еще не исследованы.

В радиологической лаборатории ЦНИЛа масс-спектрометрически были изучены следующие классы веществ: аминокислоты и короткие пептиды, ряд стероидов, биогенных аминов, АТФ, глюкоза, витамин D₂, некоторые противоопухолевые лекарственные препараты и т. д. Разработаны также методы анализа непосредственно с хроматографической бумаги, с экстрактов тонкослойной хроматографии, с экстрактов гомогената печени крысы, системы ввода вещества в ионный источник прибора типа МИ-1305, методы проведения газового анализа с поверхности кожи, мягких тканей и др. Такое систематическое исследование проведено впервые с учетом приложения метода в медицине.

Основные закономерности распадов молекулярных ионов, образующихся в ионном источнике прибора, можно свести к следующему.

Спектры всех исследованных веществ очень характерны и позволяют идентифицировать препарат по его масс-спектру. Молекулярные пики имеют низкую интенсивность. Легко отщепляются от исходного иона молекулы углекислого газа, воды, первичного спирта или амина. Стероиды претерпевают глубокие изменения при столкновении с электроном с разрывом в перипетрофенантеновом кольце.

Характер спектров меняется при изменении температуры анализа, поэтому выбор оптимальных условий необходим при анализе.

В заключение хотелось бы отметить, что приложение масс-спектрометрии в медицине только начинается и, по-видимому, ближайшие годы будут годами очень интенсивного исследования процессов метаболизма и биохимической патологии с помощью этого уникального по своей чувствительности и информативности относительно молекулярного строения метода.

2-й Московский Орден
Ленина медицинский
институт им. Н. И. Пирогова

Поступила 20/XI 1972 г.

Հ. Գ. ՄԱՆՈՒՍԱԶՅԱՆ

ՄԱՍՍ-ՍՊԵԿՏՐՈՄԵՏՐԻ ՕԳՏԱԳՈՐԾՈՒՄԸ ԲԺՇԿԱ-ԲԻՈԼՈԳԻԱԿԱՆ
ՀԵՏԱԶՈՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐՈՒՄ

Ա մ փ ո փ ու մ

Մասս-սպեկտրոմետրիան հանդիսանում է բիոլոգիական ակտիվ նյութերի մոլեկուլների կառուցվածքի հետազոտության տնիվերապա մեթոդ։ Այս մեթոդն ավելի զգայուն է մնացած մյուս ֆիզիկական մեթոդներից։ Դա կարող է թույլ տալ աշխատելու նյութերի քանակի հետ մինչև 10—11 գ։ Դրա միջոցով կարելի է նույնացնել կամ սահմանել անհայտ մետոբոլիտ ամինաթթուների, ածխաջրերի ստերոիդների, բիոպեն ամինների, նուկլեոտիդների, ճարպաթթուների և այլ լիպիդների կառուցվածքը։ Մեթոդը թույլ է տալիս ուսումնասիրելու դեղային նյութերի ֆարմակոդինամիկան։ Դրա միջոցով կարելի է հաշտնաբերել խրոմատոգրամաներ, նույնացնելով անհայտ նյութերը։ Այն կարելի է կիրառել կայուն իզոտոպների և թեթև թուշոլ բաղադրատարրի ու տարբեր օրգանների զազերի ու հյուսվածքների հետ աշխատելիս։ Դրա միջոցով վերլուծված է թվարկված նյութերը։ Բժշկության մեջ կիրառվել է վերջին 2—3 տարվա ընթացքում։