

ПРИМЕНЕНИЕ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ В МЕДИЦИНСКОЙ НАУКЕ*

Перхат Солтанмурадов,
*заведующий лабораторией экологической физиологии
Международного научно-клинического центра физиологии
Министерства здравоохранения и медицинской промышленности Туркменистана*

Аннотация

В составе Международного научно-клинического центра физиологии, открытом и сданном в эксплуатацию усилиями Героя – Аркадага и Героя Аркадаглы Сердара, действует всего 7 научных лабораторий, которые полностью оснащены ведущими мировыми технологиями и лабораторным оборудованием. Одним из таких лабораторных устройств является жидкостный хроматограф компании Agilent марки Infinity 1290 с квадрупольным масс-детектором и масс-спектрометр компании Agilent марки 7850 ICP-MS. С помощью этих приборов планируется определять количество необходимых для жизни стероидных гормонов и гормонов щитовидной железы в составе плазмы крови и мочи, витаминов и микроэлементов в составе волос и ногтей человека.

Масс-спектрометрия – это сложный аналитический метод, используемый для определения молекулярного состава веществ, обеспечивающих качественное и количественное определение молекул и атомов веществ по значениям их отношения массы к заряду (m/z).

Ключевые слова: масс-спектрометрия, жидкостная хроматография, квадруполь, масс-анализатор.

Структуры масс-спектрометра. Состоит из ионного источника, магнитного полюса (куадруполь), массового анализатора, детектора, регистрирующего сигналы ионных потоков для преобразования образцов в заряженные частицы.

Сначала образцы переплетаются в заряженную частицу с помощью ионного источника и отправляются в квадруполь. На заряженную частицу, движущуюся в магнитном полюсе, влияет сила Лоренса и изменяет его траекторию. По различиям траектории ионизированных атомов в магнитном поле делается вывод о массово-зарядном соотношении ионов (m/z).

Функция масс-спектрометра. Первое условие для получения масс-спектра – преобразование нейтральных молекул и атомов органического или неорганического вещества в заряженные частицы, то есть в ионы. Это явление называется явлением ионизации. Это явление проводится индивидуально для органических и неорганических веществ. Вторым условием является преобразование ионов в газовую фазу в вакуумной части масс-спектрометра. Позволяет свободно перемещать ионы внутри высоковакуумного масс-спектрометра. Отсутствие вакуума приводит к распространению ионов и рекомбинации, то есть к образованию частиц без заряда.

При ионизации большинства малых молекул образуется только $1+$ или $1-$ заряд. Чем больше молекула, тем выше вероятность образования многоядерных ионов (например, $2+$ или $3+$) при ионизации. Поэтому этот эффект сильнее проявляется в очень больших молекулах, таких как белки, нуклеиновые кислоты и полимеры. При некоторых видах ионизации (например, электронный удар) делится на несколько характерных частей одной молекулы, что создает дополнительные возможности для определения и изучения строения неизвестных веществ.

* Солтанмурадов П.Р. e-mail: perhat.soltanmyradov@gmail.com

До ионизации по фазам нахождения веществ методы ионизации органических веществ подразделяются на следующие группы:

1. Газовая фаза – масс-спектрометры, применяемые в этой фазе, в основном имеют форму, подключенную к газовой хроматографии. Его ионные источники:

- Электронная ионизация (электронная ионизация (EI))
- Химическая ионизация (CI)
- Ионизация захватом электрона (EC)
- Ионизация в электрическом поле (FI)

2. Жидкая фаза – Масс-спектрометры, используемые в данной фазе, бывают в основном в виде соединения к жидкой хроматографии. Его ионные источники:

- Теромспрей
- Ионизация при атмосферном давлении (AP)
 - а) Электроспрей (APESI)
 - б) Химическая ионизация при атмосферном давлении (APCI)
 - в) Фото ионизация при атмосферном давлении (APPI)

3. Твердая фаза – к этой группе относятся образцы, которые не являются летучими, или вещества, которые чувствительны к разрушению под воздействием температуры. Для ионизации веществ, не относящихся к данной группе, используются следующие ионные источники:

- Прямая лазерная десорбция – масс-спектрометрия (LDMS)
- Масс-спектрометрия вторичных ионов (SIMS)
- Десорбция в электрическом поле (FD)
- Плазменная десорбция (PD)

В неорганической химии для определения состава элементов используются сложные методы ионизации, так как объединяющая энергия атомов-минерализаторов выше и для разрыва этих связей и образования ионов необходимо применять более сложные методы. Ионные источники, используемые в этом методе:

- Ионизация в индуктивно-связанной плазме (ICP)
- Ионизация в процессе лазерной абляции.

Многие органические вещества не могут быть переданы в газовую фазу без разложения. Это означает, что они не могут быть ионизированы электронным воздействием. Однако без тщательного изучения живых тканей (белков, ДНК, РНК и др.), витаминов, гормонов, вирусов и других биологически активных веществ, полимеров, составляющих основную составляющую жизни, невозможно понять и оценить физиологию живых организмов. Для устранения этой проблемы в настоящее время разработаны специальные методы ионизации этого вида органических веществ в масс-спектрометрии. То есть в масс-спектрометрии для органических веществ данного вида используются следующие источники ионов:

- Ионизация при лазерной абляции
- Ионизация при атмосферном давлении (ESI)
- Химическая ионизация при атмосферном давлении (химическая ионизация при атмосферном давлении (APCI))
- Фотоионизация при атмосферном давлении (APPI)

Масс-анализатор

Ионы, полученные из верхних ионных источников, попадают в масс-анализатор с помощью электрического поля. Там ионы выбираются по массе, точнее по массово-зарядному соотношению (m/z), то есть обнаруживаются в ненужных ионах. Масс анализатор также имеет следующие виды:

- Непрерывные масс-анализаторы
- Импульсные масс-анализаторы

Непрерывный и импульсный масс-разница между анализаторами непрерывно и в определенное время отличается прохождением ионных потоков между интервалами. На масс-спектрометре, таком как Agilent 6475 LC/TQ последнего выпуска компании Agilent, последовательно установлены 2 масс-анализатора. Один из них определяет молекулярный ион - ион прекурсора, а другой - ион продукт, образующийся в коллизионной клетке.

Детектор

Таким образом, последним элементом описываемого масс-спектрометра является детектор, фиксирующий импульс заряженных частиц. На первом масс-спектрометре в качестве детекторов использовались фотопластинки. В настоящее время используются электронные репликаторы второго уровня. То есть один ион прикасается к первому диноду и извлекает из него электронные лучи. Эти лучи, в свою очередь, воздействуют на второй динод и излучают больше электронных лучей. В результате получается масс-спектр.

Хромато-масс-спектрометрия

Масс-спектрометрия используется для определения органических и неорганических веществ. Органические образцы часто представляют собой сложные смеси отдельных веществ. Например, витамины в организме человека. Проблема аналитики заключается в качественном и количественном определении витаминов. Для этого необходима комбинация хроматографии с масс-спектрометром. Когда хроматографическое устройство сочетается с детектором масс-спектрометра, то оно называется Хромато-масс-спектрометрия или Хромасс.

Из-за невозможности преобразования многих органических соединений в газовую фазу и нарушения структуры при высоких температурах их нельзя разделить в газовой хроматографии. Для разделения веществ данного вида применяется жидкостная хроматография. При этой хроматографии органические вещества разделяют на специальные колонки без применения высоких температур и преобразования в газовую фазу. Комбинация масс-спектрометра с жидкостной хроматографией (LC/MS), являющейся источником ионов, таких как электроспрей (ESI) или химическая ионизация атмосферного давления (APCI), называется масс-детекторной жидкостной хроматографией (LC/MS) (Kochanek, 2007).

Основной характеристикой масс-спектрометр детектора является:

Чувствительность, динамический диапазон и скорость сканирования.

Масс-спектрометрия (MS) используется в медицине в нескольких важных областях. Эта технология используется для определения молекулярной массы и структуры веществ, тем самым приобретая важное значение в различных видах лечения заболеваний и диагностики. Основными направлениями его использования являются:

1. Диагностика биомаркеров: При выявлении отдельных биомаркеров, возникающих на ранних стадиях заболевания, применяется масс-спектрометрия. Например, используется для профилактики рака или сердечно-сосудистых заболеваний.

2. Анализ лекарственных препаратов: МС широко используется для проверки концентрации и метаболизма лекарств в организме. Таким образом, мы получаем информацию о том, как активируются лекарства, метаболические продукты и случаи отравления.

3. Проверка естественных метаболитов: Используется при анализе метаболических процессов, происходящих в организме. При MS выявляются вещества, содержащиеся в крови или моче, и оказывается содействие в диагностике метаболических заболеваний (Кирковский, 2012).

4. Протеотика и пептидомика: Масс-спектрометрия играет важную роль в определении содержания белков и пептидов. Этот метод широко используется при анализе модификации белков и их связи с болезнями.

5. Диагностика острых заболеваний: Анализ МС бактерий или вирусов, ДНК/РНК способствует их выявлению и быстрой диагностике.

6. Фармакинетика и фармадинамика: (фармакокинетика) и их воздействия (фармакодинамика). Дает точные сведения о растворении, поглощении, кровообращении и выделении лекарственного средства в организме.

7. Диагностика различных генетических заболеваний: Масс-спектрометрия помогает выявить генные мутации и генетически изменённые белки. Например, используется для выявления заболеваний, оставшихся с ранних времен.

8. Диагностика гормональных нарушений: играет важную роль в исследовании MS, эндокринологии, то есть заболеваний, связанных с гормонами. Это позволяет определить количество гормонов и влияние их недостатков на здоровье.

9. Молекулярная патология: В молекулярной патологии, в частности, при онкологических заболеваниях, применяется масс-спектрометрия. Он используется для определения состава больных клеток и их отличия от здоровых.

10. Анализы плазмы: Для диагностики острых метаболических состояний в плазме крови используется MS. То есть способствует раннему выявлению различных заболеваний, связанных с кровью, аллергии, аутоиммунных заболеваний.

11. Лекарственные проверки: Для разработки новых лекарств в фармацевтической промышленности используется масс-спектрометрия. Состав, чистота, активные вещества и возможности лекарств анализируются МС.

12. Персонализированная медицина: У каждого человека разный метаболизм и генетическая структура. Масс-спектрометрия способствует подготовке лекарств и методов лечения в персонализированной медицине, то есть на основе индивидуальных биологических особенностей человека.

13. Диагностика токсичных веществ: Масс-спектрометрия используется для определения содержания токсичных веществ в организме по направлению токсикологии. Это особенно важно в медицине, в выявлении случаев отравления или передозировки.

14. Трансплантация органа: При получении информации о приеме или отказе организма после трансплантации применяется масс-спектрометрия. Прослеживается состояние трансплантированного органа путем выявления возникающих в организме иммунных ответов и острых реакций.

15. Диагностика глазных и неврологических заболеваний: В диагностике болезни Альцгеймера и других неврологических заболеваний используется масс-спектрометрия. Анализ изменений, влияющих на белки или другие вещества головного мозга, позволяет выявить ранние симптомы заболевания.

16. Исследование состояния молодых направлений: Возрастные изменения в организме анализируются с помощью масс-спектрометрии и определяются потери или увеличение различных метаболитов и веществ. Это помогает в изучении изменений в возрастных системах (Михайлова, Бобылева и др., 2008).

17. Генетические исследования: В геномике генетические данные, передаваемые по наследству и наследственности, изучаются более точно посредством масс-спектрометрии. Это используется в генетических исследованиях и изучении различных генетических нарушений.

18. Диагностика вирусов: Масс-спектрометрия сыграла важную роль в уточнении диагностики современных вирусных заболеваний, особенно в период пандемии. Таким

методом частицы вируса быстро и точно диагностируются и пациенты получают правильный диагноз.

19. Наномедицина: С развитием нанотехнологии в направлении наномедицины применяется масс-спектрометрия. Проверяется движение наноматериалов в организме, их применение в лечении больных, а также безопасность.

20. Нутригеномика: Эта область изучает генетические реакции организма человека на определенные продукты. Масс-спектрометрия здесь помогает анализировать метаболизм питательных веществ в организме и давать индивидуальные рекомендации по питанию.

21. Услуги первичной медицинской помощи: Масс-спектрометрия используется при скорой помощи с помощью портативных устройств. Быстро анализируется биохимический состав крови или другого образца, предоставляется информация о состоянии пациента.

22. Исследования метаболических заболеваний: Масс-спектрометрия используется для диагностики различных метаболических заболеваний, включая сахарный диабет, фенилкетонурию и нарушения, связанные с липидным метаболизмом. Анализ содержания различных метаболитов помогает выявить метаболические дисбалансы в организме.

23. При быстром лечении ран: применяется в реанимации и других медицинских состояниях, при контроле процессов регенерации организма на клеточном уровне с помощью масс-спектрометрии. Эта технология помогает анализировать степень заживления ран.

24. Исследование острых болей: Масс-спектрометрия используется для выявления болевых факторов. Анализируется содержание в организме протеина и пептидов, связанных с болью, определяется источник и степень боли.

25. Быстрая диагностика острых инфекционных заболеваний: В качестве методов быстрой диагностики масс-спектрометрия применяется при выявлении инфекционных заболеваний (бактериальных, вирусных или паразитарных). Эта технология позволяет анализировать и определять ДНК или РНК инфекционных веществ.

26. Острые аллергические реакции и пищевая аллергия: Масс-спектрометрия, анализируя, насколько чувствительна иммунная система организма к аллергическим веществам, определяет содержащиеся в крови иммуноглобулины (IgE) и вещества, связанные с аллергенами, способствует выяснению причин аллергии.

27. Пренатальные исследования: Во время беременности с помощью масс-спектрометрии может быть обследовано здоровье матери и ребенка. Для раннего выявления генетических и метаболических нарушений, которые могут возникнуть во время беременности, используется масс-спектрометрия. Например, синдром Дауна может быть использован для выявления генетических заболеваний (White, 1988).

28. Диагностика иммунологических заболеваний: Масс-спектрометрия используется для определения активности иммунной системы или наличия аутоиммунных реакций. Например, аутоиммунные заболевания, такие как волчанка или ревматизм, диагностируются на ранних стадиях с помощью масс-спектрометрии.

29. Клиническая микробиология: Масс-спектрометрия применяется в клинической микробиологии для диагностики микроорганизмов, бактерий и вирусов. Используется для определения генетического состава микроорганизмов, вызывающих заболевания, и выбора соответствующих методов лечения против них.

30. Исследование ферментов организма: Масс-спектрометрия применяется при исследовании ферментов, то есть молекул, активирующихся в организме в качестве биокатализаторов. Этим методом рассматривается дефицит фермента в организме или повышение ферментной активности и выявляются различные заболевания.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Kochanek, K.* A Universal Computer Audiometer for Objective Hearing Testing and Screening¹ / K. Kochanek, L. Sliwa, J. Zajac, H. Skarzynski // IEEE International Workshop on Medical Measurement and Applications, Warsaw, Poland, May 4-5, 2007. – pp. 1–3.
2. *Кирковский В.В.* Физико-химические методы коррекции гомеостаза. /В.В. Кирковский. – М.: Издательский дом «Русский врач», 2012. – 216 с.
3. *Михайлова Д.О., Бобылева З.Д., Базарный В.В., Амон Е.П., Бейкин Я.Б., Беседина Л.Т., Мельникова О.В., Шилова В.П., Розанова С.М., Перевалова Е.Ю.* Диагностическое значение различных иммунологических методов лабораторной диагностики легионеллеза. // Журн. микробиол., эпидемиол. иммунобиол., 2008; № 2, с. 51-53.
4. *White D.C.* Validation of quantitative analysis for microbial biomass, community structure, and metabolic activity.// Adv. Limnol., 1988, №31, p. 1–18.