

К.Ж. СЫРБАЕВА, А. МУРТАЗИНА, А. ЕРАЛЫКЫЗЫ, А. ГРИГОРЬЕВА, Б. ЖУМАДИЛОВА
Модуль Аллергологии и клинической иммунологии, КазНМУ им. С.Д. Асфендиярова

СОВРЕМЕННЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ И ПЕРСПЕКТИВЫ НОВОГО ДИАГНОСТИЧЕСКОГО ПОДХОДА – ИССЛЕДОВАНИЯ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО ПРОФИЛЯ ПРИ ПИЩЕВОЙ АЛЛЕРГИИ

Изучение метаболического профиля или метаболомика - является новым научным направлением, изучающим совокупности количества всех низкомолекулярных метаболитов клетки, ткани, органа или организма в целом. Одной из целей метаболомики является изучение ответных реакций организма на патофизиологические воздействия путем оценки уровней низкомолекулярных метаболитов в биологических жидкостях и тканях. Современные методы исследования позволяют оценить совокупный метаболитизм организма, изменяющийся при аллергических заболеваниях. Данный обзор посвящен анализу имеющихся данных о возможностях и перспективах нового диагностического подхода - исследованию метаболизма при хронических заболеваниях кишечника, аллергических заболеваний в целом и пищевой аллергии.

Ключевые слова: метаболический профиль, метаболиты, аллергические заболевания, пищевая аллергия, биомаркер, воспалительные заболевания кишечника.

Введение.

Аллергические заболевания (АЗ) являются одними из самых распространенных и важных заболеваний, влекущими за собой развитие грозных анафилактических реакций [1]. Поскольку за последние 10-20 лет распространенность аллергической патологии, и в том числе, пищевой аллергии в мире увеличивается столь стремительно, ее необходимо рассматривать как одну из главных проблем здравоохранения и общества в целом [2]. Причинами АЗ являются наличие наследственной предрасположенности, ухудшение общей и локальной экологической обстановки, хронические стрессы, информационные перегрузки, «химизация» и генетическая детерминированность продуктов питания, рост применения лекарственных препаратов, а особенно антибактериальных, частые вирусные инфекции и паразитарные инвазии, заболевания ЖКТ, а также многое другое [3].

Определение метаболического профиля – это анализ спектра концентраций низкомолекулярных соединений, присутствующих в биологических жидкостях. Метаболиты – это вещества небелковой природы, представляющие собой конечные продукты клеточной активности. Следовательно, изменение концентрации того или иного метаболита обнаруживает спектр биохимических эффектов, вызванных болезнями или терапевтическими вмешательствами. Доступность таких новых технологий, как ЯМР-спектроскопия и масс-спектрометрия (в виде прямого масс-спектрометрического анализа или в сочетании с газовой хроматографией, высокоэффективной жидкостной хроматографией, капиллярным электрофорезом) позволило выполнить скрининг метаболитов, количественно изменяющихся при многих заболеваниях [6].

Цель. Целью данного обзора является оценка возможности использования спектра метаболитов как диагностических маркеров при пищевой аллергии на основе современных литературных данных.

Актуальность проблемы. По приблизительным оценкам, только пищевой аллергией в мире страдают 220–520 млн человек [4]. По данным Европейской Ассоциации Аллергологов и Клинических Иммунологов распространенность пищевой аллергии составляет 17% и обращаемость по поводу ПА – 6% [2]. Частота ПА в структуре аллергических заболеваний в зависимости от региона составляет от 5 до 30% [5]. У детей с аллергическими дерматитами пищевая аллергия является причиной в 47% случаев, при аллергических заболеваниях дыхательных путей – в 20% случаев. Значительная распространенность пищевой аллергии, многообразие клинических проявлений, наличие определенных диагностических проблем раннего выявления и различные подходы к лечению и профилактике объясняет пристальное внимание исследователей к этой проблеме [2,3,4,5].

Преимуществом идентификации биомаркеров методом определения спектра метаболитов, является тот факт что это скрининговый и не нацеленный метод, что исключает необходимость предварительных знаний об искомым метаболитах [6]. Более того, известно, что патофизиологические изменения, происходящие в кишечнике и других органах, вовлеченных в развитие нарушений иммунного статуса, являются факторами риска и триггерными факторами в развитии аллергических заболеваний. Так, считается, что манифестация пищевой аллергии в 50% случаях начинается с патологии ЖКТ [5]. В результате любого воздействия на организм происходят множественные изменения концентраций различных метаболитов с целью поддержания гомеостаза. Внутриклеточные метаболиты находятся в динамическом равновесии с метаболитами биологических жидкостей, омывающих клетки. Таким образом, любой клеточный ответ будет отражен в изменяющемся составе биологических жидкостей организма, таких как кровь, моча, семенная, фолликулярная или церебральная жидкости [7]. Анализируя полученные метаболические профили можно получить своеобразный «отпечаток» (fingerprint), отражающий физиологическое состояние организма и получить ответ на вопросы, касающиеся патогенеза, дифференциальной диагностики, профилактики и эффективности лечения пищевой аллергии.

Метаболический профиль при различных хронических заболеваниях ЖКТ.

Изучение метаболических показателей уже доказала свою высокую эффективность при обнаружении наследственных и врожденных нарушений метаболизма, вызванных эндогенными и экзогенными факторами, при диагностике многих заболеваний, при трансплантациях, при изучении токсичности лекарственных препаратов (токсикогеномика), реакции организма на лекарственные препараты (фармакогеномика), при определении особенностей реакций организма на пищевые продукты (нутриномика) [8]. Обзор исследований, направленных на изучение метаболома при заболеваниях кишечника, весьма важен, так как патофизиологические процессы при заболеваниях ЖКТ тесно связаны с развитием аллергических реакций, особенно с пищевой аллергии.

В последнее время, проведено немало исследований метаболического профиля при патологических состояниях ЖКТ. Кишечник представляет собой своеобразный биореактор с практически неограниченным метаболическим

потенциалом, определяемым возможностями микробиома. Организм человека при этом «сотрудничает» с микробиотой благодаря так называемому явлению метаболической интеграции [9]. При этом человек получает от микроорганизмов целый ряд ключевых метаболитов, не только поддерживающих его энергетический баланс (короткоцепочечные жирные кислоты и др.), но и активно участвующих в регуляции экспрессии его генов, нейротрансмиссии и иммуномодуляции [10].

По мнению ряда исследователей, уровень ряда низкомолекулярных метаболитов в крови, например, некоторых карбоновых кислот, во многом определяется именно метаболической активностью микробиоты кишечника [11,12]. В связи с этим особый интерес представляют метаболомические исследования при таких заболеваниях органов пищеварения, как воспалительные заболевания кишечника, синдром раздраженного кишечника (СРК), целиакия, кишечные инфекции (*Clostridium difficile*, *Salmonella* spp., *Campylobacter jejuni*) и гастроинтестинальная аллергия, где роль нарушений микробиоценоза кишечника весьма велика [13].

Дифференциально-диагностические возможности метаболомических исследований были продемонстрированы в исследовании Schicho R. и соавт. [14], показавшем, что количественное метаболомическое профилирование сыворотки, плазмы и мочи позволяет достоверно разделить группы пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника (ВЗК) и здоровых лиц. При этом у пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника уровень метанола, маннозы, изолейцина, муравьиной и 3-метил-2-оксвалериановой кислот в крови был значимо повышен, а уровень мочевины и лимонной кислоты понижен. Изменение уровня некоторых метаболитов у больных ВЗК (повышение уровня креатина в плазме, снижение уровня гиппуровой кислоты в моче), по мнению авторов, могло быть связано с нарушениями микробиоценоза кишечника. Интенсивно ведутся исследования и в области метаболомической диагностики колоректального рака. Так, Nishiumi S. и соавт. [15] представили новую модель ранней диагностики колоректального рака, основанную на определении метаболомического профиля сыворотки крови методом хромато-масс-спектрометрии. Показатели чувствительности, специфичности и точности модели, основанной на определении нескольких сывороточных биомаркеров, в том числе альфа-оксимасляной (2-оксибутановой) кислоты, аспарагиновой кислоты, кинуренина и цистамина, составили 85,0%, 85,0% и 85,0% соответственно и были сопоставимыми или даже более высокими, чем показатели чувствительности, специфичности и точности стандартных онкомаркеров – раково-эмбрионального (карциноэмбрионального) антигена

(РЭА [КЭА]) (35,0%, 96,7% и 65,8% соответственно) и СА19-9 (16,7%, 100,0% и 58,3% соответственно). Оценка метаболомического профиля сыворотки крови позволит, вероятно, не только выявлять колоректальный рак на ранних стадиях, но и дифференцировать его стадии.

Также, выявлено, что в сыворотке крови пациентов с язвенным колитом выявлено значимое повышение уровня фенилуксусной, парагидроксифенилуксусной, индолуксусной, янтарной и фумаровой кислот, а также снижение уровня фенилпропионовой кислоты. У пациентов с целиакией отмечалось достоверное повышение индолуксусной, индолпропионовой, янтарной и фумаровой кислот. Повышенный уровень янтарной кислоты подтверждал гипотезу о ее возможном повреждающем действии на слизистую оболочку кишечника, особенно при язвенном колите. Пероральное применение метаболитика (масляной кислоты в комбинации с инулином) на фоне базисной терапии месалазином у больных язвенным колитом и на фоне безглютеновой диеты у пациентов с целиакией улучшало клиническую симптоматику, метаболомический профиль сыворотки крови и показатели микробиоценоза, достоверно устраняя анаэробный дисбаланс, повышая долю бутират-продуцирующих бактерий и нормализуя патологически повышенный уровень янтарной кислоты [7].

Метаболический профиль при аллергических заболеваниях.

Метаболический профиль был изучен зарубежными учеными для таких аллергических заболеваний как атопический дерматит (ранняя диагностика), бронхиальная астма (дифференциальный диагноз и стадии заболевания) и пищевая аллергия.

При исследовании метаболизма при астме, обнаружено, что при экспериментальной индукции астмы у мышей изменялся метаболический профиль бронхоальвеолярной легочной жидкости. В частности, у мышей с индуцированной астмой регистрировались изменения в энергетическом обмене с повышением лактатов, малатов и креатинина и снижением углеводов маннозы, галактозы, арабинозы; в метаболизме липидов и стероидов со снижением фосфатидилхолинов, диглициридов, триглицеридов, холестерина, холевой кислоты. Причем, лечение дексаметазоном эффективно восстановило многие ключевые метаболиты, кроме метаболитов энергетического обмена [17].

Показано, что изменения некоторых метаболитов могут применяться для коррекции иммунного статуса, в том числе и при аллергии. Например, триптофан – незаменимая аминокислота, играющая важную роль в биосинтезе белка и являющаяся также биохимическим прекурсором таких соединений, как серотонин и никотиновая кислота. Так, получены доказательства того, что повышенный катаболизм триптофана является ключевым метаболическим процессом, поддерживающим феномен индуцированных иммунных ответов, а управление метаболизмом триптофана в перспективе может дать новый терапевтический инструмент для коррекции гипоиммунных, гипериммунных и аутоиммунных состояний [19]. Также показано, что изменение в экспрессии и активности фермента индоламин 2,3- диоксигеназы, метаболизирующего триптофан, приводит к снижению содержания триптофана в сыворотке и развитию клинических симптомов астмы [20].

Омега-3 жирные кислоты, докозагексаеновая кислоты (DHA) и эйкозопентаеновая кислоты (EPA), содержащиеся в рыбьем жире, считаются противовоспалительными питательными веществами, обладающими защитной функцией при воспалительных заболеваниях, включая астму и аллергию. Механизмы этих эффектов остаются в основном неизвестными, но представляют большой интерес для потенциальному терапевтическому применению. Исследования указывают на их защитное действие и предполагают наличие причинной связи между снижением потребления рыбьего жира у лиц, страдающих астмой или другими аллергическими заболеваниями. Несколько сообщений показали, что при аллергических заболеваниях биосинтез предшественников омега 3 жирных кислот нарушается, особенно при тяжелых формах бронхиальной астмы, что свидетельствует о том, что хроническое воспаление в легких может возникнуть в результате разрешением дефекта [18].

Метаболический профиль при пищевой аллергии.

Анализ метаболического профиля пациентов с пищевой аллергией на арахис позволил выявить высокий уровень лактатов, креатинина и глутамината, которые предложены в качестве биомаркера аллергического статуса. Например, глутамин является необходимым нутриентом для энтероцитов слизистой желудка и кишечника и играет роль в поддержании целостности и функции слизистой ЖКТ. С другой стороны, глутамин является главным субстратом для функционирования лимфоцитов и макрофагов. Таким образом, авторы предполагают, что глутамин при пищевой аллергии повышается для компенсации повышенной проницаемости слизистой кишечника, а также при повышенной потребности глутамината при интенсивном иммунном ответе [16]. Другие исследования метаболитов при пищевой аллергии на арахис, выявили повышение мочевой кислоты и гистамина [23].

Исследования метаболома при пищевой аллергии на коровье молоко у младенцев показали, что прием лактозы для улучшения микробиоты кишечника, улучшал состояние детей и коррелировал с повышением средних концентраций коротких цепей жирных кислот, особенно уксусной и масляной кислот [21].

При помощи анализа спектра метаболитов также возможно обнаружение показателей нарушения детоксикационной функции печени, нарушение циркуляции желчных кислот, нарушение синтеза витаминов и медиаторов воспаления, накопление токсических веществ – индола, скатола, сероводорода и др. Данные изменения способствуют снижению процесса усвоения питательных веществ в кишечнике, что ведет к образованию тканевых антигенов, повышению проницаемости клеточного барьера в стенке кишечника для белковых макромолекул и развитию пищевой аллергии. Таким образом, изменения метаболизма того или иного вещества потенциально может служить диагностическим маркером или ранним диагностическим признаком пищевой аллергии [22].

Заключение.

В целом, мировые исследования показывают на эффективность, значимость и перспективность исследований метаболического профиля при различных патологических состояниях организма, в том числе и при аллергических заболеваниях. Имеются отдельные исследования по изучению метаболического профиля при пищевой аллергии, однако, в виду многообразия форм, первопричин, и патофизиологических механизмов пищевой аллергии, метаболиты при данной патологии остаются недостаточно изученными. Наличие достаточного количества исследований достоверных маркерных изменений метаболического профиля при различных патологических состояниях ЖКТ, позволяет рассматривать эти изменения, как потенциальные ориентиры для диагностики и лечения пищевой аллергии, так как воспалительные заболевания ЖКТ являются пусковыми факторами и/или факторами риска развития пищевой аллергии. Также, анализ метаболома открывает возможность изучения патофизиологических механизмов при различных формах, стадиях пищевой аллергии, а также возможность определения неиммунологических маркеров аллергии для дифференциальной диагностики истинной и псевдоаллергии. Таким образом, исследования спектра метаболитов человека при пищевой аллергии позволит идентифицировать маркерные метаболиты, которые могут сыграть роль в ранней диагностике, профилактике, дифференциальной диагностике и лечении данной патологии.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1 Guidelines for the Diagnosis and Management of Food Allergy in the United States: Report of the NIAID-Sponsored Expert Panel. National Institute of Allergy and Infectious Diseases-Sponsored Expert Panel // The journal of allergology and clinical immunology. – 2010. - V.126. - Issue 6. - P. 1-58.
- 2 Food Allergy and Anaphylaxis Guidelines // European Academy of Allergy and Clinical Immunology (EAACI). - P.5-30.
- 3 Holt, P.G., Upham, J.W. & Sly, P.D. Contemporaneous maturation of immunologic and respiratory functions during early childhood: implications for development of asthma prevention strategies // J. Allergy Clin. Immunol. – 2005. – 116. - P.16-24.
- 4 Р.И. Сепиашвили, Т.А. Славянской Белая книга по аллергии (2011-2012) // World Allergology Organization. – М.: Медицина-Здоровье, 2012. - С. 12.
- 5 И.И. Балаболкин «Пищевая аллергия у детей: современные аспекты патогенеза и подходы к терапии и профилактике» // Иммунология, аллергология, инфектология. – 2013. - №3. - P. 36-46.
- 6 Rossana Serivo, Luca Casadei, Mariacristina Valerio “ Metabolomics Approach in Allergic and Rheumatic Diseases” (2014) // Curr Allergy Asthma Rep. – 2014. - №14. - P. 445.
- 7 С.И. Ситкин, Е.И. Ткаченко, Т.Я. Вахитов, Л.С. Орешко, Т.Н. Жигалова, Особенности метаболома сыворотки крови при язвенном колите и целиакии по данным газовой хроматографии –масс-спектрометрии // Гастроэнтерология. – 2013. - № 3-4. - P. 45-53.
- 8 В.В. Вельков Многомерная биология и многомерная медицина // Химия и жизнь. – 2007. - №3. - P.34-38.
- 9 Белобородова Н.В. Интеграция метаболизма человека и его микробиома при критических состояниях // Общая реаниматология. – 2012. - №4. - Т. 8. - С. 42-54.
- 10 Tremaroli V. & Backhed F., Functional interactions between the gut microbiota and host metabolism // Nature. – 2012. – 13. - 489(7415). - P. 242-249.
- 11 Beloborodova, Olenin, Fedotcheva., Effect of phenolic acids originating from microbes on mitochondria and neutrophils // Critical Care. – 2012. – №11. - 16(3). - P. 28-33.
- 12 Osipov G.A. & Verkhovtseva N.V. Study of human microecology by mass spectrometry of microbial markers // Benef Microbes. – 2011. - 2(1). - P. 63-78.

- 13 DuPont A.W. & DuPont H.L., The intestinal microbiota and chronic disorders of the gut // *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* – 2011. – 16. - 8(9). - P. 523-531.
- 14 Schicho R¹, Shaykhtudinov R, Ngo J, Nazyrova A, Schneider C, Panaccione R, Kaplan GG, Vogel HJ, Storr M. Quantitative metabolomic profiling of serum, plasma, and urine by (1)H NMR spectroscopy discriminates between patients with inflammatory bowel disease and healthy individuals // *J Proteome Res.* – 2012. - №1. - 11(6). - P. 344-57.
- 15 Nishiumi S¹, Kobayashi T, Ikeda A, Yoshie T, Kibi M, Izumi Y, Okuno T, Hayashi N, Kawano S, Takenawa T, Azuma T, Yoshida M. A novel serum metabolomics-based diagnostic approach for colorectal cancer // *PLoS One.* – 2012. - 7(7). - P.93-99.
- 16 Kim A.B.M., Robert-Jan A.N., Edward F., “Identification of metabolic fingerprints associated with peanut allergy”, Department of Dermatology/Allergology University Medical Center Utrecht, The Netherland // *Phd thesis.* - P. 55-68.
- 17 Wanxing Eugene Ho, *Yong-Jiang Xu, Fengguo Xu³, Chang Cheng, Hong Yong Peh, Steven R. Tannenbaum, W.S. Fred Wong, and Choon Nam Ong. Metabolomics Reveals Altered Metabolic Pathways in Experimental Asthma // *Am J Respir Cell Mol Biol.* – 2013. - 48(2). - P. 204-211.
- 18 Miyata J, Arita M. Role of omega-3 fatty acids and their metabolites in asthma and allergic diseases // *Allergol Int.* – 2015. - 64(1). - P. 27-34.
- 19 Lingqian Li, Lei Huang, Henrique P. Lemos, Mario Mautino, and Andrew L. Mellor Altered Tryptophan Metabolism as a Paradigm for Good and Bad Aspects of Immune Privilege in Chronic Inflammatory Diseases // *Front Immunol.* – 2012. - №3. - P. 109.
- 20 Colleen Adkins, Cara Schafer, Yong Wang, Jennifer Trevor, William Bailey, David Redden, (2015) Mark Dransfield, Jessy Deshane // *Immune Regulation and Tryptophan Metabolism in Asthma.* - V.135. - 12. - P.112-134.
- 21 Ruggiero Francavilla, Maria Calasso, Laura Calace, Sonya Siragusa, Maurice Ndagijimana (2012) , Effect of lactose on gut microbiota and metabolome of infants with cow’s milk allergy // *Pediatric Allergy and Immunology.* – 2008. - Volume 23. - Issue 5. - P. 420–427.
- 22 Циммерман Я.С. Гастроэнтерология. - 2013. - Часть 1. - С. 54-55.
- 23 Joshua Kong Biomarkers and mediators of peanut allergy and anaphylaxis // *Master’s thesis dissertation.* – 2013. - P. 22-35.

К.Ж. СЫРБАЕВА, А. МУРТАЗИНА, А. ЕРАЛЫКЫЗЫ, А. ГРИГОРЬЕВА, Б. ЖУМАДИЛОВА
Аллергология және клиникалық иммунология модулі, С.Ж. Асфендияров атындағы ҚазҰМУ

ТАҒАМДЫҚ АЛЛЕРГИЯ КЕЗІНДЕГІ МЕТАБОЛИКАЛЫҚ ПРОФИЛЬДІ ЗЕРТТЕУІНДЕГІ ЗАМАНАУИ МҮМКІНШІЛІКТЕРІ МЕН БОЛАШАҒЫ

Түйін: Метаболикалық бейінді зерттеу немесе метаболомиканы - тұтастай алғанда төмен молекулалық салмағы метаболиттердің жиынтығын зерттейтін жаңа ғылыми бағыт болып табылады. Метаболомиканың мақсаты биологиялық сұйықтықтар мен тіндердің төмен молекулалық салмағы метаболиттердің деңгейін бағалау жолымен патофизиологиялық әсеріне ағзаның реакциялық жауабы болып табылады. Қазіргі заманғы ғылыми-зерттеу әдістері бізге аллергиялық аурулар кездегі дененің жалпы метаболизмі бағалауға мүмкіндік береді. Бұл мақала жаңа диагностикалық тәсілді мүмкіндіктері мен келешегі туралы қолда бар деректерді талдауға арналған- созылмалы ішек аурулары метаболизм зерттеу, жалпы аллергиялық аурулар, және тағамдық аллергия метаболикалық өзгерістері.

Түйінді сөздер: метаболикалық профиль, метаболиттер, аллергиялық аурулар, биомаркер, созылмалы ішек аурулары

K.ZH. SYRBAYEVA, A. MURTAZINA, A. YERALYKYZY, A. GRIGORYEVA, B. ZHUMADILOV
Module of Allergology and Clinical Immunology, KazNMU named after Asfendiyarov

MODERN POSSIBILITIES AND PERSPECTIVES OF THE NEW DIAGNOSTIC APPROACH – INVESTIGATION OF METABOLITES PROFILE DURING FOOD ALLERGY

Resume: Study of the metabolic profile or metabolomics - is a new scientific direction, studying the total quantity of the low molecular weight metabolites, cell, tissue, organ or organism as a whole. The main purpose of metabolomics is the study of body responses to pathophysiological effects by assessing levels of low molecular weight metabolites in biological fluids and tissues. Modern research methods allow us to estimate the total metabolism of the body, varying in allergic diseases. This review is devoted to analysis of the available data on the possibilities and prospects of a new diagnostic approach - the study of metabolism in chronic bowel disease, allergic diseases in general, and food allergies.

Keywords: metabolic profile, metabolites, allergic diseases, biomarker, chronic bowel disease.