

УДК 543.51:616

СФЕРЫ ПРИМЕНЕНИЯ БИОАНАЛИТИЧЕСКОЙ ХРОМАТО-МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ

© 2021 г. Е. И. Савельева*

Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека ФМБА России ст. Капитолово, гп. Кузьмоловский, Всеволожский район, Ленинградская область, 188663 Россия

**e-mail: esavelieva59@mail.ru*

Поступила в редакцию 01.03.2021 г.

После доработки 25.03.2021 г.

Принята к публикации 27.03.2021 г.

Области применения современной биоаналитической хромато-масс-спектрометрии столь обширны, что любая попытка их систематизировать оказывается субъективной. Правильнее было бы сказать, что нет такой области биологии и медицины, где хромато-масс-спектрометрия не нашла бы применения. В настоящей статье уделено внимание либо относительно новым, либо недостаточно освещенным в обзорах последних лет сферам применения этого метода. Современные биоаналитические методики стали многоцелевыми в отношении аналитов и унифицированными в отношении матриц. Для биоаналитики особенно важна возможность обнаружения микроконцентраций аналитов на фоне огромного количества макрокомпонентов биоматрицы с помощью хромато-масс-спектрометрии. При целевом хромато-масс-спектрометрическом определении стойких органических загрязнителей основной проблемой является расширение перечня аналитов, в том числе и за счет изомеров. При установлении экспозиции к нестойким токсикантам наряду с гидролитическими метаболитами целевыми биомаркерами становятся фрагментированные аддукты ксенобиотиков с биомолекулами. Общую картину экспозиции человека к сумме воздействующих на него ксенобиотиков отражает экспозом, а физиологическое состояние организма – метаболический статус. Хромато-масс-спектрометрия является одним из ключевых методов в метаболомике. Средствами метаболомики уже сегодня решаются задачи клинической диагностики и антидопингового контроля. Процедуры подготовки биопроб к инструментальному анализу упрощаются и развиваются в направлении возрастающей универсальности. Протеомные технологии с использованием различных вариантов масс-спектрометрии нашли применение при разработке новых методов диагностики коронавирусных инфекций.

Ключевые слова: биоаналитика, хромато-масс-спектрометрия, биомаркер, экспозом, метаболический статус, коронавирусная инфекция.

DOI: 10.31857/S0044450221080132

Бурное развитие биоаналитики, по данным наукометрического исследования [1], является следствием доминирования биомедицины в науке в целом. Процедуры анализа относятся к биоаналитическим в том случае, если анализируемые объекты имеют биогенное происхождение. Аналиты могут иметь биогенную, либо абиогенную природу – в любом случае разнообразие их молекулярных форм обусловлено многообразием процессов биотрансформации. Приложения хромато-масс-спектрометрического (ХМС) анализа, которые рассмотрены ниже, относятся к прижизненному отбору биопроб. Биоматрицы представляют собой многокомпонентные смеси органических соединений. По этой причине для обнаружения, идентификации и количественного определения аналитов в биопробах широко используются высокоэффективные ХМС-методы. Посмертный

анализ биообразцов имеет специфические особенности, обсуждение которых остается за рамками настоящего обзора.

Важным этапом повышения эффективности жидкостной ХМС стало появление колонок с сорбентами, имеющими малое зернение (менее 3 мкм), что сделало возможным сокращение продолжительности анализа при одновременном повышении чувствительности за счет уменьшения ширины пика. Основными характеристиками масс-детектора являются точность измерения масс, разрешающая способность, скорость сканирования и чувствительность. Высокие показатели для первых двух характеристик обеспечивают селективность анализа и возможность установления брутто-формулы при идентификации,

две другие характеристики особенно важны для многоцелевого анализа или скрининга.

В наибольшей степени методически обеспечено определение в биопробах веществ, подпадающих под действие конвенций и законов, ограничивающих или запрещающих их применение. К числу таких веществ относятся стойкие органические загрязнители (СОЗ), компоненты химического оружия, допинговые препараты, наркотические и сильнодействующие вещества. Быстро развивающимся направлением является определение биомаркеров, характеризующих эндогенные процессы или внешние воздействия, в том числе и воздействие химического фактора на отдельного человека или группу лиц.

Поступление токсичных соединений в организм человека из внешней среды не всегда возможно установить. Более достоверные оценки химической нагрузки могут быть получены средствами биомониторинга [2]. Основная задача биомониторинга – оценить химическую нагрузку на человека как на индивидуальном, так и на популяционном уровне.

СТОЙКИЕ ОРГАНИЧЕСКИЕ ЗАГРЯЗНИТЕЛИ

При проведении биомониторинга аналитами преимущественно являются токсичные металлы либо СОЗ, т.е. приоритет отдается персистентным токсикантам, способным к депонированию в биологических тканях [3]. Биомониторинг СОЗ проводится посредством регламентированных аналитических процедур, основанных на применении как газовой, так и жидкостной ХМС [4]. Проблемой является регулярное расширение перечня целевых аналитов для биомониторинга СОЗ, причем часто это изомерные группы соединений, из которых пока только некоторые охарактеризованы параметрами токсичности. Проблемы идентификации и количественного определения соединений группы “новых” СОЗ рассмотрены в монографии [5]. Липофильные СОЗ обычно определяют в крови (плазме, сыворотке, реже в эритроцитах), в грудном молоке [6], значительно реже – в биоптическом материале [7]. Согласованное исследование объектов внешней среды и биопроб на присутствие СОЗ [8] востребовано в наибольшей степени, поскольку позволяет оценить вклад разных источников экспозиции в общую химическую нагрузку на человека и установить характер этой нагрузки. Комплексные подходы к оценке химической опасности требуют разработки унифицированных методик, применимых к анализу проб различного происхождения и матричного состава (вода, почва, пищевые продукты, биопробы). В ряду СОЗ наиболее часто определяют полихлорированные бифенилы, хлорорганические пестициды, бромированные ан-

типирены, преимущественно представленные полибромдифениловыми эфирами. Недавно эта группа была пополнена перфторалкилированными соединениями, в частности перфторалкилсульфонатами и перфтороктановой кислотой. В работе [9] реализован многоцелевой анализ биопроб на содержание СОЗ – представлена новая аналитическая стратегия для одновременного определения 78 галогенорганических СОЗ в сыворотке крови человека, а именно: 40 антипиренов, включая 7 новых бромированных и хлорированных антипиренов; 19 перфторалканов; 11 хлорорганических пестицидов и 8 полихлорированных бифенилов. При подготовке к анализу из сыворотки крови извлекали две фракции аналитов: (I) неполярную гидрофобную и (II) более полярную и гидрофильную. Фракцию I извлекали из сыворотки крови трехступенчатой экстракцией смесью гексана и диэтилового эфира (9 : 1, по объему) с последующей очисткой экстракта на флорисиле. Фракцию II извлекали из остатка сыворотки после извлечения неполярной фракции I с помощью модифицированной процедуры QuEChERS. Для всех аналитов удалось достичь биологически обусловленных пределов обнаружения и получить удовлетворительные метрологические характеристики, необходимые для проведения количественного анализа. В работе [10] представлены результаты индивидуального определения методом жидкостной ХМС с тандемным масс-спектрометрическим детектированием (ВЭЖХ–МС/МС) некоторых соединений, входящих в список Хельсинской комиссии по защите морской среды ХЕЛКОМ, а также предложена процедура одновременного определения группы перфторорганических кислот, производных эстрадиола, гексабромциклододекана и триклозана. Грудное молоко, кровь или пуповинную кровь обычно используют для определения полихлорированных бифенилов, диоксинов, хлорорганических пестицидов, бромсодержащих ингибиторов горения, перфторированных и оловоорганических соединений [11, 12]. Пробы мочи анализируют на содержание бисфенола А, ортофосфатов, гидроксированных метаболитов полиароматических углеводородов, фталатов [13, 14]. Погрешность результатов анализа зависит от биологического материала: максимальная при анализе мочи, промежуточная при анализе крови, наименьшая при анализе грудного молока. Кроме того, вариабельность результатов ниже при определении липофильных соединений, выше при определении полярных и гидролитических метаболитов. Газовая ХМС (ГХ–МС) преобладает при определении СОЗ в крови и грудном молоке, ВЭЖХ–МСⁿ в моче. Такое распределение [15] обусловлено тем, что с мочой выводятся гидрофильные соединения, а гидрофобные по-

степенно выделяются в кровь из тех органов и тканей, в которых они депонируются.

НЕСТОЙКИЕ ВЫСОКОТОКСИЧНЫЕ ОРГАНИЧЕСКИЕ СОЕДИНЕНИЯ

В отличие от СО₂, нестойкие органические соединения претерпевают в организме быстрые метаболические превращения и экскретируются с мочой в форме гидролитических метаболитов либо образуют аддукты с биомолекулами. Для определения таких соединений применяют два самостоятельных подхода: определение свободных метаболитов и биомолекулярных аддуктов [16]. Наиболее яркими представителями нестойких органических супертоксикантов являются отравляющие вещества (ОВ), аналитическая ХМС которых после завершения программы уничтожения химического оружия сохраняет актуальность в рамках верификационной деятельности. До недавнего времени считали, что определение интактных ОВ в биосредах вообще невозможно ввиду их стремительной биотрансформации, в том числе и посмертной. В то же время задача определения интактных ОВ актуальна не только в целях верификации, но и для токсикокинетических исследований. Для успешного определения интактных ОВ в биосредах необходимо не только обеспечить высокую чувствительность и селективность анализа, но и остановить биоконверсию ОВ в уже отобранной пробе. В 2020 г. был представлен способ определения интактных фосфорорганических ОВ (ФОВ) G-типа в цельной крови [17]. Дериватизацию ФОВ 2-[(диметиламино)метил]фенолом проводят в сухих пятнах крови. После высушивания полученные производные экстрагируют и определяют методом ВЭЖХ–МС/МС. Градуировочная характеристика линейна в диапазоне концентраций 3–300 нг/мл. Авторы сообщают о средней степени извлечения аналитов 34% во всем линейном диапазоне. Предел обнаружения составляет 0.7 нг/мл. В виде производного зарин стабилен в сухих пятнах крови при комнатной температуре в течение 19 дней. Таким образом, капля цельной крови может быть отобрана в условиях полевого госпиталя, перенесена на бумажный носитель, высушена и обработана 2-[(диметиламино)метил]фенолом. Законсервированные таким образом биопробы могут быть направлены в стационарные лаборатории без особых требований к условиям транспортировки, например в почтовых конвертах. Ранее была предложена технология определения аддуктов ФОВ с альбумином в сухих пятнах плазмы крови [18]. Подход, основанный на применении сухих пятен крови (dried blood spot) интересен, в первую очередь, возможностью легкой стабилизации исследуемого образца, позволяющей избежать деградации в процессе хранения и транспортировки. Ключевым

критерием при этом является полнота десорбции аналита с бумажного носителя.

В крупных аналитических центрах разрабатываются и проходят апробацию в международных профессиональных тестах процедуры обнаружения и идентификации гидролитических метаболитов и биомолекулярных аддуктов высокотоксичных соединений. При этом ковалентные аддукты ксенобиотиков с белками и ДНК рассматриваются в качестве ретроспективных маркеров экспозиции. Время их жизни сопоставимо со сроком существования в организме биомолекул, образующих аддукты, но ограничено процессами “старения”, в ходе которых происходит трансформация присоединенного остатка ксенобиотика или его метаболита. Следствием старения становится потеря структурных признаков исходных веществ, затрудняющая их однозначную идентификацию, и утрата способности к реактивированию. Основные белки крови альбумин и гемоглобин, содержание которых в организме человека колеблется на уровне 40 и 150 мг/мл соответственно, принимают на себя воздействие той части нестойких токсикантов, которая не подверглась гидролизу сразу после поступления в организм. Учитывая то, что среднее время жизни молекулы гемоглобина в организме человека составляет 120 дней, а альбумина – 20 дней, использование аддуктов с ними в качестве маркеров отравления ФОВ весьма перспективно. При этом альбумин является основным белком плазмы крови, которая, в отличие от цельной крови, хорошо переносит заморозку/разморозку, удобна для транспортировки и подготовки к анализу. С другой стороны, содержание в крови ДНК сравнительно мало (0.05 мг/мл), причем выделяется она преимущественно в лейкоцитах, а ее выделение является достаточно трудоемким процессом, поэтому основной тенденцией в развитии методов обнаружения и идентификации биомаркеров нестойких токсикантов считают совершенствование технологий исследования аддукта альбумина и гемоглобина крови [19] и, как обосновано ниже, мочевого ДНК-аддукта.

Добавленное к области других омиксных технологий понятие “аддуктомика” применимо не только к установлению факта воздействия токсиканта на организм, но и к оценке последствий этого воздействия. Понятие “аддуктом” по аналогии с метаболомом, транскриптомом и т.д. применяется в биоаналитике с начала XXI в. В качестве примера можно привести работу [20], авторы которой методом ВЭЖХ–МС/МС проводили биомониторинг аддуктов алкилирующих агентов с ДНК в тканях легких. Термин “аддуктомика” применен в недавно опубликованной работе [21], посвященной определению биомолекулярных аддуктов ОВ. Перечень биомаркеров экспозиции расширяется за счет идентификации новых кова-

лентных аддуктов ксенобиотиков с белками и ДНК [22].

Аддуктомные технологии используют не только для установления факта экспозиции, но и для молекулярного биомониторинга ее последствий [23]. Как жители мегаполисов, так и работники предприятий химического профиля подвергаются сочетанному воздействию разных токсикантов. Токсикологические интерференции, как и возможный кумулятивный эффект при таком воздействии, необходимо учитывать [24], поэтому эффективным подходом при проведении биомониторинга представляется определение большого набора аналитов в рамках одной методики. При этом даже такие методики не позволяют оценить воздействие на организм тех токсикантов, которые не были учтены заранее и остались за рамками контролируемого перечня.

Учесть в полной мере химическую нагрузку на организм человека из разных источников (вода, пищевые продукты, воздух, промышленные выбросы, пассивное непреднамеренное потребление лекарственных средств, автомобильный транспорт и т.д.) в рамках целевого анализа невозможно. В итоге невозможно обоснованно предсказать риски здоровью, развивающиеся вследствие неизвестной химической нагрузки. В ответ на такой вызов область задач ХМС-анализа биопроб расширилась от определения индивидуального органического соединения до исследования экспозома и метаболического статуса организма.

ЭКСПОЗОМ

Под экспозомом понимают сумму ксенобиотиков и их биомаркеров в организме. Лексически “экспозом” – производное от экспозиции. Экспозом характеризует общую химическую нагрузку на организм, которая может быть частично оценена непосредственным обнаружением известных ксенобиотиков или их метаболитов в организме или регистрацией метаболического ответа на нагрузку, характер которой в этом случае будет выявлен по косвенным признакам. Во втором случае отделить воздействие собственно химического фактора от биологического и даже психологического стресса не всегда возможно [25].

В работе [26] предпринята попытка описать экспозом в количественных категориях. Общее количество соединений, составляющих экспозом, оценивается на уровне 400 000, в то время как метаболом человека насчитывает более 1 млн соединений. Экспозом можно охарактеризовать как часть метаболома, охватывающую соединения, поступающие из внешней среды, и их метаболиты. В последние годы во избежание разночтений появился термин “химический экспозом” [27].

При исследовании состава экспозома, сформированного органическими загрязнителями природной и техногенной среды, необходимые чувствительность и селективность достигаются за счет применения ХМС высокого разрешения [28]. Современная биоаналитика предоставляет возможность не только установить состав ксенобиотиков и продуктов их трансформации в организме человека, но и охарактеризовать ответ организма на сочетанное воздействие ксенобиотиков, оценить состояние жизненно важных систем [29]. На основе применения комплексного диагностического аппарата можно дать обоснованные рекомендации по детоксикации организма и раннему предупреждению развития патологий, которые могут быть “запущены” сочетанным воздействием внешних факторов. Такие укоренившиеся в современной медицине и биологии понятия, как геном, микробиом, метаболом, транскриптом, протеом, иммуном, экспозом, аддуктом и прочие “омы”, развиваются преимущественно с использованием различных вариантов ХМС-анализа.

Из множества соединений, поступающих в организм человека из окружающей среды, в последние годы особое внимание уделяется тем, которые оказывают повреждающее воздействие на ДНК [30]. Повреждение ДНК лежит в основе многих заболеваний: онкологических, нейродегенеративных, сердечно-сосудистых [31]. Лишь незначительная часть токсикантов воздействует на ДНК напрямую, чаще сначала происходит метаболическая активация с образованием электрофила или индукция активного радикала с высоким окислительным потенциалом. Далее при воздействии этих активных форм может происходить нарушение структуры нуклеиновых оснований, их химическая модификация, поломка цепочек ДНК и нарушение их сопряжений [32]. Если естественная система репарации не справляется с повреждениями, накоплением мутаций в генах, контролирующих клеточный рост, пролиферацию, программируемую дифференциацию и гибель клеток, то, согласно современным представлениям, создается риск развития онкологических заболеваний [33]. Известно, что нуклеотиды образованы соединением нуклеозида и фосфата, а нуклеозиды, в свою очередь, состоят из моносахарида и азотистого основания, которые и являются основной мишенью воздействия алкилирующих агентов. Обычно повреждение азотистых оснований заключается в окислении, деаминировании, алкилировании и кросс-сопряжениях, возникающих в их наиболее уязвимых сайтах, что иллюстрирует рис. 1, составленный по материалам статьи [34]. Как видно, наиболее уязвимыми сайтами являются O2 и O4 тимины, N7, O6, C8 и N2 гуанины, N1, N3 и N7 аденины, O2 и N4 цитозины.

Полагают, что негативные последствия наступают при поломке даже очень незначительного количества нуклеотидов. Такие изменения можно зафиксировать только сверхчувствительными методами. Важной задачей является повышение чувствительности ВЭЖХ–МС/МС-анализа в отношении именно нуклеозидов, способность к ионизации которых относительно невысока.

В отличие от других биомолекул, ДНК содержится практически во всех биологических средах организма. Почечная экскреция аддуктов ксенобиотиков с ДНК происходит в депурированном виде, по этой причине ДНК экспозом легче оценивать при анализе мочи [35]. В работе [36] представлен метод исследования мочевого ДНК-аддуктома как наиболее чувствительной части экспозома путем ВЭЖХ–МС/МС-анализа мочи. В последние годы применение масс-спектрометров высокого разрешения (времяпролетных и орбитальных ловушек) позволило получить новые данные о повреждениях ДНК, вызываемых различными химическими соединениями [37]. Например, биомаркерами для оценки повреждающего воздействия на ДНК ацетальдегида [38], акролеина [39], кротонового альдегида [40] являются ковалентные аддукты с дезоксигуанозином в положении N2, для сернистого иприта – с гуанином в положении N7 [41]. Определение таких аддуктов в биообразцах можно проводить посредством количественного многоцелевого ХМС-анализа и в перспективе, вероятно, этот подход дополнит комплекс средств биомониторинга генотоксичных соединений.

В свете оценки общих повреждений ДНК, наступающих вследствие суммы факторов, в том числе и неизвестных, возникла задача нецелевой ДНК-аддуктомики. Первая попытка в этой области была предпринята в 2006 г. [42] с использованием трехкврупольного ВЭЖХ–МС/МС в режиме электрораспылительной ионизации при мониторинге выделенных реакций (SRM) с регистрацией переходов $[M + H]^+ \rightarrow [M + H - 116]^+$, где m/z 116 соответствует отщеплению 2-деоксирибозы. Позднее в режиме регистрации нейтральных потерь при использовании аналогичной инструментальной техники авторы работы [43] объединили целевое и нецелевое определение аддуктов ДНК в одном анализе. Выделение фрагментированных аддуктов с мочой отражает процесс репарации, если допустить, что репарация происходит за счет вырезки отдельных участков ДНК. В результате этого процесса с мочой выделяются модифицированные алкилирование или окислением (рис. 1) аддукты дезоксирибонуклеозидов и азотистых оснований, образующие так называемый “ДНК-аддуктом” мочи. В работе [43] он представлен в виде пяти трехмерных карт для каждого образца мочи. По оси абсцисс откладывают времена удерживания, по оси

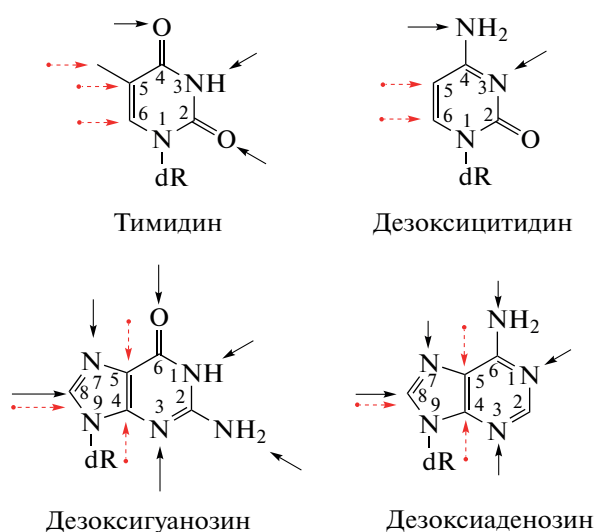


Рис. 1. Наиболее уязвимые сайты нуклеиновых оснований для окисления (•••••) и/или алкилирования (→) с образованием аддуктов (dR – дезоксирибоза).

ординат – массовые числа m/z , по оси z – нормализованные площади пиков. Ниже показано, что авторы использовали стандартный режим ВЭЖХ–МС/МС-анализа, а новизна подхода заключалась в объеме и структурировании его результатов. При подготовке к анализу образцы мочи наносили на картриджи C18, промывали водой и элюировали метанолом. Элюат упаривали и повторно растворяли в 100 мкл деионизованной воды, после чего анализировали методом ВЭЖХ–МС/МС в градиентном обращенно-фазовом режиме с использованием гибридного масс-спектрометра тройной квадруполь-линейная ионная ловушка. Ионизацию электрораспылением осуществляли в положительной полярности при следующих характеристиках во всем диапазоне сканирования массовых чисел: потенциал декластеризации 40 В, входной потенциал 10 В, энергия коллизии 30 эВ.

Процедура была настроена с использованием 6-модельных 2'-деоксирибонуклеозидов и 10 азотистых оснований. Пределы обнаружения аналитов находились в пределах от 0.2 до 7 нг/ввод. После обработки и фильтрации выделено до 5000 полезных пиков. Не останавливаясь подробно на методах обработки данных, отметим, что после межлабораторных интеркалибровок и дальнейшей настройки метода он может быть пригоден для описания (картирования) мочевого аддуктома человека и является первой, хотя и находящейся в стадии разработки, попыткой описания ДНК-экспозома человека.

Исследования, направленные на определение больших групп аналитов и даже “омов” – экспозома, метаболома, липидома и др., воспринимаются как нестандартные, но все-таки химико-

аналитические процедуры. Пока трудно понять, могут ли рассматриваться в этом ряду масс-спектрометрические методы непосредственного наблюдения биологического процесса, статуса или проблемы (отклонения от нормы). Так, авторами работы [44] предложен способ прямого масс-спектрометрического анализа биологических тканей. С помощью пьезоэлектрического диспенсера поверхность биообразца обрабатывается нанокляпями растворителя, которые выбивают из биопробы и одновременно ионизируют наночастицы, транспортируемые в масс-детектор. С помощью такого подхода получен обобщенный профиль мозговой ткани мыши. Авторы утверждают, что при этом удастся достоверно различить профили здоровой и опухолевой ткани. Подобные подходы представлены в литературе под общим названием “высокопроизводительный скрининг” [45], основная цель которого – быстрый анализ сложных объектов. Делаются попытки реализовать такие технологии при исследовании биотрансформации ксенобиотиков, при обнаружении грубых метаболических сдвигов в рамках целевой метаболомики, при оценке распределения ксенобиотиков в организме. Здесь применимы изотопные метки, а сам анализ должен быть быстрым и в идеале многолучным (планшетным).

МЕТАБОЛИЧЕСКИЙ СТАТУС

Терминология, предписывающая называть продукты трансформации веществ в окружающей среде маркерами, а в биологических объектах биомаркерами [46], подразумевает, что в качестве биомаркеров выступают аналитически регистрируемые формы нахождения определенного вещества в биопробе. Термин “биомаркер” как индикатор физиологических и патологических биологических процессов или фармакологических ответов на терапевтическое вмешательство [47] был предложен в 2001 г. Национальным институтом здоровья США. В качестве биомаркера в этой трактовке может выступать любая характеристика, которую можно объективно измерить и которая может служить индикатором того или иного процесса. Таким образом, мы можем говорить о биомаркерах метаболических расстройств, окислительного стресса, хронической усталости и других процессов. Если так, то биомаркер может быть химическим соединением, но это понятие в некоторых случаях можно рассматривать шире. В обзоре [48], посвященном клиническим приложениям масс-спектрометрии, в качестве биомаркеров предложено рассматривать группы соединений, а также метаболит (для низкомолекулярных) или протеом (для белков) в целом.

Под метаболическим статусом организма подразумевают многомерную картину качественного

и количественного состава биогенных компонентов. В большинстве случаев определяют грубые отклонения метаболического статуса от нормы в целях диагностики заболеваний. Наиболее известным и разработанным воплощением этого направления является диагностика врожденных метаболических расстройств методом tandemной масс-спектрометрии. Это жизненно важное приложение ХМС-анализа доказало свою безусловную полезность и непрерывно совершенствуется. В работе [49] предложена и апробирована при анализе более 1000 образцов технология быстрого определения расширенного перечня метаболических болезней при анализе сухого пятна крови. Огромное количество работ посвящено ранней диагностике онкологических заболеваний методами ХМС на платформе метаболомики. Пока результаты этих исследований слишком противоречивы, чтобы рекомендовать какую-либо ХМС-технологии в качестве надежного диагностического метода.

В последние годы в ряде исследований обоснованы химико-аналитические критерии, соответствующие функциональному состоянию, характеризующемуся как утомление, перетренированность, хроническая усталость. При контекстном поиске по ключевым словам “mass-spectrometry”, “exercise”, “fatigue” и “metabolomics” литературные источники за последние 5 лет (2017–2021 гг.), доступные в системе Science direct, можно разделить на четыре основные группы (табл. 1). Всего обнаружено 93 публикации.

Из табл. 1 следует, что биомаркеры, безусловно ассоциированные с физической нагрузкой, пока не установлены, так как преобладают (42 из 93) исследования общего плана, нацеленные на поиск этих биомаркеров. По-видимому, к числу таких биомаркеров будут отнесены не абсолютные концентрации биогенных веществ в моче или крови, а соотношения концентраций или более сложные многомерные показатели. Методы ХМС предоставляют огромный объем информации. На данный момент ключевой проблемой представляется разработка алгоритмов сопоставления этой информации с широким набором физиологических показателей с учетом их различной значимости. Основной стратегией метаболомики в спорте является исследование метаболических сигнатур плазмы крови [50, 51]. Считается, что метаболическое профилирование позволяет получить опосредованную информацию о метаболическом фенотипе и непосредственную – о концентрациях тех низкомолекулярных метаболитов, которые вовлечены в развитие физиологического эффекта [52].

В ряде работ [53, 54] для сбора первичной информации о низкомолекулярных метаболитах, ответственных за состояние переутомления, ис-

пользовали ЯМР-спектроскопию. Преимуществом капиллярного электрофореза при метаболическом профилировании является возможность определения высокомолекулярных маркеров [55], однако ввиду высокой стоимости и недостаточного распространения приборных комплексов, совмещающих капиллярный электрофорез со спектральными методами, он применяется относительно редко и преимущественно в целевой метаболомике. Таким образом, различные варианты ХМС-анализа заведомо преобладают в омиксных технологиях. В работе [56] концентрации целевых метаболитов определяли методом ГХ–МС, а в качестве диагностических критериев использовали соотношения концентраций метаболитов. Объединенная группа из семи университетов США [57] с использованием ВЭЖХ–МС/МС провела масштабное исследование, целью которого являлось установление связи между функциональным состоянием высокотренированных спортсменов и метаболическими профилями их крови. Работа выполнена в технике нецелевой метаболомике. Статистическую обработку данных проводили с использованием метода инвариантных множеств семейств линейных и нелинейных дискретных систем. Всего идентифицировано 743 метаболита. Концентрации веществ из группы гамма-глутаминовой кислоты оказались значимо выше в группах спортсменов как с высокой мощностью, так и с высокой выносливостью. Это, по мнению авторов, является следствием активной работы глутатионового цикла. Высокая выносливость ассоциировалась с повышенной выработкой половых гормонов тестостерона и прогестерона, при этом у спортсменов с высокой выносливостью были достоверно снижены уровни содержания диацилглицеридов и эйкозаноидов в крови. Высокая мощность также ассоциировалась с высокими уровнями содержания в крови фосфолипидов и ксантина. В 2019 г. итальянские авторы опубликовали обзор [58], в котором суммировали результаты метаболомных исследований биожидкостей спортсменов, которые испытывали экстремальные нагрузки. В качестве общего вывода отмечено, что высокая мощность и высокая выносливость ассоциированы с такими биохимическими процессами, как биосинтез стероидов, метаболизм жирных кислот, окислительный стресс и энергетический обмен. В метаболомике спорта, как и в метаболомике в целом, чувствительность анализа не является приоритетом, поскольку биогенные аналиты (метаболиты) присутствуют в пробах в высоких концентрациях. Наиболее высокие требования в целевой метаболомике предъявляются к достоверности количественных определений, а в нецелевой метаболомике — к достоверности идентификации метаболитов и производительности анализа. В табл. 2 суммированы результаты некоторых ХМС-исследований

Таблица 1. Направления исследований метаболомике физических нагрузок, выполненных с использованием масс-спектрометрии в 2017–2021 гг.

Тематика исследований	Доля от общего количества публикаций, %
Изменения в метаболических профилях мочи или крови под влиянием физических нагрузок	42
Метаболический статус организма, соответствующий пику физической формы	18
Влияние нутритивной поддержки на переносимость физических нагрузок	12
Метаболомика усталости, перетренированности в отсутствие патологии/болезни	12
Изменения в метаболических профилях мочи и крови под влиянием физических нагрузок на фоне заболеваний (сердечно-сосудистые, метаболический синдром, диабет, неврологические, гериатрические)	9

в области метаболомике последствий экстремальных нагрузок. Как видно, закономерности, отмеченные в обзоре [58], в целом находят подтверждение.

Продолжая тему спорта, нельзя не отметить, что антидопинговый контроль базируется почти исключительно на ХМС-анализе и представляет собой хорошо отлаженную потоковую систему, совмещающую скрининговые и подтверждающие процедуры анализа. Оба направления непрерывно совершенствуются [71, 72]. Появляются сведения о долгоживущих метаболитах запрещенных субстанций, что позволяет расширить временное окно их обнаружения. Как стандартные, так и инновационные процедуры антидопингового ХМС-анализа остаются за рамками настоящего обзора, поскольку чрезвычайно широко представлены и обобщены в литературе [73 и др.]. Пока метаболомные подходы в допинговом контроле относятся к разряду перспективных разработок и не применяются в режиме потокового анализа. Исключение составляет стероидный профиль мочи [74].

Известно, что отрицательный результат целевых допинг-тестов далеко не всегда гарантирует отсутствие запрещенных веществ в организме спортсмена, что привело к появлению парадигмы биологического паспорта. Стероидный модуль биологического паспорта особенно важен, поскольку дизайнерские, т.е. не охватываемые списком ВАДА, анаболические стероиды отно-

Таблица 2. Результаты метаболомных хромато-масс-спектрометрических исследований биожидкостей людей, подвергавшихся нагрузкам разной степени тяжести

Биоматрица	Метод	Биомаркеры	Литература
Плазма крови	ГХ–МС	К возрасту и степени тренированности чувствительны: аланин, лактат β-диметилглюкопиранозид, пироглутаминовая кислота, цистеин, глутаминовая кислота, глутамин, свободные жирные кислоты, валин	[59]
Плазма крови	ВЭЖХ–МС	При умеренных нагрузках в плазме крови повышается содержание октаноил, деканоил, додеканоил-карнитинов	[60]
Плазма крови	ВЭЖХ–МС	У марафонцев повышено содержание глицерина, ниацинамида, глюко-6-фосфатов, пантотената, сукцината в сравнении с обычными людьми	[61]
Плазма крови	ВЭЖХ–МС	После нагрузки, сопряженной с гипоксией, повышен уровень лизофосфатидилхолинов, лизофосфатидилдиглицероламина, лизофосфатидоглицерола, метаболитов, ассоциированных с гемолизом	[62]
Слюна	ВЭЖХ–МС	После экстремальной нагрузки повышены креатинин, глюкоза, метаболиты антиоксидантного действия	[63]
Плазма крови	ГХ–МС, ВЭЖХ–МС	С нагрузкой ассоциированы 13- и 9-гидроксиоктадекановые кислоты	[64]
Плазма крови	ГХ–МС	После экстремальной нагрузки повышалось содержание в плазме трикарбоновых кислот и мононенасыщенных жирных кислот	[65]
Моча	ВЭЖХ–МС	С гипоксией ассоциированы 1-метиладенозин, 5-метилюридин, 3-индолуксусная кислота, 1-глутаминовая кислота	[66]
Моча	ЯМР, ВЭЖХ–МС	С нагрузкой ассоциированы триметиламиноксид, фенилаланин, лактат, аланин, триметиламин, малонат, таурин, глицин	[67]
Моча	ВЭЖХ–МС	С нагрузкой ассоциированы пурины, триптофан, карнитин, кортизол, продукты окисления аминокислот и метаболиты микрофлоры кишечника	[68]
Плазма крови	ВЭЖХ–МС	После 4-дневного марафона уровни свободных жирных кислот, трикарбоновых кислот, метаболитов разветвленных аминокислот в плазме повысились. Уровни моноацилглицеридов, липидов понизились	[69]
Плазма крови	ВЭЖХ–МС/МС	При нагрузке повысились уровни карнитина, 3-метилмиристиновой и себаценовой кислот в плазме	[70]

сятся к наиболее распространенным допинговым субстанциям [75].

В основе стероидного модуля биопаспорта спортсмена лежит определение биомаркеров мочи, вовлеченных в метаболизм эндогенных стероидов. Определение концентраций этих мочевых биомаркеров представляет собой сложную задачу, поскольку стероиды выводятся с мочой главным образом в конъюгированном виде (глюкурониды или сульфаты) [76]. Таким образом, перед проведением ГХ–МС/МС-анализа, рекомендуемого ВАДА в качестве стандартного метода определения эндогенных анаболических стероидов, требуется проведение специфичной пробоподго-

товки [77], включающей энзиматический гидролиз мочи, экстракцию и дериватизацию определенных эндогенных стероидов. По мере накопления опыта в области контроля стероидного профиля мочи спортсменов было отмечено [78], что важнейшей проблемой является трактовка результатов определения концентраций и маркерных соотношений эндогенных стероидов в моче ввиду их существенной зависимости от генетического полиморфизма.

При констатации в пробе мочи атипичного результата (концентрации или соотношения концентраций, которые выходят за рамки референтных значений), используют метод изотопной

масс-спектрометрии, наиболее часто нацеленный на обнаружение “псевдоэндогенных” стероидных гормонов [79].

Дальнейшее развитие стероидного модуля заключается в разработке персонализированного подхода к интерпретации критериальных показателей стероидного профиля и арбитражных анализов методом изотопной ГХ–МС [80, 81]. Предложен метод контроля стероидов в слюне, обеспечивающий возможность взятия пробы непосредственно перед и после (а иногда и во время) соревнования или тренировки [82]. Несмотря на то, что в антидопинговый контроль вкладывают огромные средства, открываемость запрещенных препаратов остается достаточно низкой, что обуславливает актуальность развития метабомики в спорте. По всей вероятности, в будущем роль биологического паспорта спортсмена в общей схеме антидопингового контроля будет возрастать.

Антидопинговый контроль пересекается с химико-токсикологическим анализом не только общностью ХМС-методов и определяемых веществ (как известно, стимуляторы и наркотики запрещены в спорте), но также и высокой мерой ответственности за результаты анализа, нередко оспариваемые в суде. В то же время методология химико-токсикологического анализа, одного из древнейших направлений аналитической химии, существенно отличается от методологии антидопингового контроля. Критерии и система аккредитации в антидопинговом контроле едины для всех лабораторий. Химико-токсикологический анализ также жестко регламентирован, но регулирующие системы имеют существенные национальные особенности. Подробно не вдаваясь в эту далекую от аналитической науки тему, отметим лишь некоторые современные тенденции в химико-токсикологическом анализе.

ХИМИКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ

Классический химико-токсикологический анализ преимущественно нацелен на определение относительно малых молекул. Метод ГХ–МС с моноквадрупольным масс-детектированием на протяжении уже почти полувека удерживает позиции золотого стандарта при скрининговых исследованиях, поскольку опирается на обширные и постоянно пополняемые базы данных масс-спектров и индексов удерживания. Значение оперативно пополняемой доступной на сайте <http://sudmed-ms.info> некоммерческой библиотеки масс-спектров трудно переоценить. Это самый эффективный и доступный инструмент для обнаружения в биопробах новых психоактивных соединений. Чрезвычайно эффективен ГХ–МС-скрининг для обнаружения малых молекул умеренно токсичных соединений, например, при

установлении случаев передозировки или немедицинского применения лекарств, а также дизайнерских наркотиков [83].

Для обнаружения и идентификации биомаркеров более токсичных соединений, особенно в тех случаях, когда экспертиза проводится через длительное время после отравления, и основная доза токсиканта выведена из организма, чувствительности моноквадрупольного масс-детектора уже недостаточно. Тандемное масс-спектрометрическое детектирование ввиду высокой селективности позволяет обнаруживать токсичные соединения и их метаболиты в биологических матрицах с высокой чувствительностью [84]. Как правило, низкомолекулярные метаболиты являются более полярными, чем вещества, из которых они образовались. С увеличением полярности метаболитов возрастает их растворимость в водных средах и соответственно скорость выделения из организма через почки с мочой [85]. Это повышает шансы обнаружения мочевых метаболитов в ранние сроки после отравления, а в отдаленные сроки – понижает. В отличие от плазмы крови, моча не требует специальной обработки сразу после отбора, состав органических соединений в моче в меньшей степени подвержен искажениям в процессе отбора, хранения и транспортировки. Как правило, концентрации биогенных аналитов в моче не меняются значительно при прохождении нескольких циклов заморозки–оттаивания. Моча по сравнению с кровью менее насыщена органическими соединениями, которые не только подвержены окислению, но и могут выступать в качестве промоторов окисления [86]. Таким образом, моча как биоматрица имеет много преимуществ при определении малых молекул: неинвазивный отбор, большой объем, минимальное мешающее влияние протеинов и липидов, высокие концентрации большинства ксенобиотиков за счет их концентрирования в почках [87]. Недостатком мочи как биоматрицы является высокое содержание мочевины, мешающее как прямому ГХ–МС-анализу, так и полноте дериватизации. Устранение мешающего влияния мочевины путем минерального или энзиматического гидролиза можно рекомендовать для целевого анализа. В обзорном анализе минеральный гидролиз может привести к искажению компонентного состава мочи и частичной или полной потере некоторых аналитов за счет их разложения. Применение энзиматического гидролиза (обработка уреазой), как правило, приводит к повышению матричного эффекта в режиме регистрации полного ионного тока и, как следствие, к потере минорных аналитов за счет повышения пределов их обнаружения. Для целевого определения малых молекул в моче предложены алгоритмы оптимизации рН и выбора экстрагента [88, 89]. При подготовке к обзорному ГХ–МС- и ВЭЖХ–МСⁿ-анализам часто используют высаливание или вымораживание в

ацетонитрил. При этом удается не потерять даже такие полярные аналиты, как алкилметилфосфоновые кислоты [90].

Если “приборная” часть процедуры ХМС-анализа в большинстве случаев формализована и осуществляется в соответствии с рекомендациями фирмы-производителя, то способы подготовки биопроб к ХМС-анализу являются предметом разработок и оптимизации. Совершенствуется техника твердофазной экстракции с применением многослойных колонок и дробного элюирования. В развитии методов микроэкстракции в биоаналитике генерализованная линия пока не прослеживается. Различные варианты жидкостной [91] и твердофазной [92] микроэкстракции рассмотрены и систематизированы даже не в обзорах, а в “обзорах обзоров”. Микроэкстракция с применением полимерных таблеток, гранул, порошков, магнитных частиц, дисперсионная микроэкстракция, однокапельная, в том числе в режиме затвердевания и всплывания микрокапли при понижении температуры, различные варианты мембранной и электромембранной микроэкстракции, микроэкстракция в полном капилляре – процедуры, достаточно равноценно представленные в литературе. С одной стороны, они не являются новыми, а с другой, пока не нашли широкого применения в рутинном потоковом анализе. Относительно новым и многообещающим подходом представляется применение растворителей с “переключаемой” гидрофобностью [93]. Путем добавления углекислого газа растворитель протонируется, превращается в гидрокарбонат и становится смешиваемым с водой, а после удаления углекислого газа нагреванием или пропуском инертного газа растворитель отделяется от воды. В основе процесса лежит кислотно-основная реакция. В качестве растворителей с переключаемой полярностью используют амидины, вторичные и третичные амины [94] и диамины [95].

Если процедура биомониторинга требует количественного анализа, а определяемые вещества заранее известны, то при определении биомаркеров отравляющих веществ, допинговых субстанций, психоактивных веществ основными задачами являются обнаружение и доказательная идентификация биомаркеров, однозначно указывающих на факт поступления в организм контролируемого вещества. Конечным этапом аналитического процесса является подтверждающий анализ с использованием образца сравнения. При этом начальный этап, заключающийся в обнаружении микроколичеств искомым биомаркеров в сложной смеси макрокомпонентов биоматрицы, является наиболее сложным. Оценка неопределенности такого анализа, несмотря на большое количество регулирующих документов, не может быть выполнена в рамках универсального подхода [96]. Новые наркотические средства поступают в незаконный оборот столь стремительно, что процеду-

ры обнаружения биомаркеров и установления их безусловной принадлежности к определенной группе запрещенных веществ требуют разработки новых подходов, позволяющих повышать эффективность работы лабораторий именно на этапе обнаружения аналитов, которые далее будут или не будут отнесены к целевым биомаркерам [97]. Как отмечено в работе [98], непрерывно расширяющийся перечень подконтрольных соединений обуславливает преобладание обзорного направления в химико-токсикологическом анализе. Авторы сформулировали 17 ограничений метода ВЭЖХ–МС/МС в обзорном анализе. По-видимому, в ближайшей перспективе эти ограничения не будут полностью преодолены. В частности, невысокая скорость сканирования, загрязненность масс-спектра компонентами подвижной фазы, недостаточная эффективность хроматографического разделения и другие сложности технического плана будут преодолены за счет конкуренции фирм, разрабатывающих и выпускающих ВЭЖХ–МС/МС-системы. В то же время наличие различных конструкционных решений для масс-спектрометрического процесса у различных фирм препятствует его унификации, что представляется одним из главных ограничений возможностей обзорного ВЭЖХ–МС/МС-анализа. Библиотеки справочных масс-спектров создаются как приложение к определенным маркам приборов. При значительном разнообразии приемов ГХ–МС-анализа существует классический подход к его выполнению в режиме сканирования по полному ионному току (ионизация электронами с энергией 70 эВ) и хроматографическому разделению с определением линейных индексов удерживания для слабополярной неподвижной фазы (5%-фенил)-метилполисилоксан в режиме программирования температуры. Базы идентификационных характеристик для ГХ–МС-анализа оперативно пополняются и успешно применяются независимо от типа используемого оборудования. Если в скрининговой процедуре соединение не выявлено, то оно либо вообще не может быть обнаружено в данных экспериментальных условиях, либо потеряно при подготовке к анализу, либо отсутствует в библиотеке, либо библиотечный масс-спектр существенно отличается от полученного экспериментально. Последнее обстоятельство существенно для ВЭЖХ–МС/МС-анализа из-за высокой вариабельности масс-спектров, полученных на разных приборах, и отсутствия межлабораторного соглашения о стандартных условиях анализа. Ввиду этих причин лаборатории пока еще предпочитают ориентироваться на “домашние” библиотеки.

МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЯ В БОРЬБЕ С КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ

Биоаналитическая масс-спектрометрия доказала свою способность оперативно отвечать на вызовы глобальных угроз, что подтверждается рядом оригинальных идей в области противодействия пандемии коронавируса. В основу разрабатываемых технологий были положены хорошо себя зарекомендовавшие способы разделения и структурной идентификации белков. Варианты протеомных технологий, различающиеся по способам осуществления и комбинирования высокопроизводительных методов разделения белков, их масс-спектрометрического описания и обработки массивов экспериментальных данных, рассмотрены в работе [99]. Больше всего усилий было направлено на разработку новых методов диагностики коронавирусных инфекций. В частности, в качестве альтернативы классическим тестам, основанным на полимеразной цепной реакции (ПЦР), предложен [100] тест с применением МАЛДИ-масс-спектрометрии. При разработке метода важно было не только стандартизовать условия получения масс-спектров, но и предложить приемлемый способ обработки данных. Оптимальным для обработки масс-спектров оказался метод опорных векторов с радиальным ядром. В итоге удалось добиться 90%-ной достоверности при анализе как положительных, так и отрицательных SARS-CoV-2 образцов.

Классический протеомный анализ при обнаружении и идентификации SARS-CoV-2 в жидкости, полученной после полоскания горла, применен в работе [101]. Предложенная процедура включает следующие стадии: осаждение белков ацетоном, дегликозилирование белков, пепсинолиз, обработку дитиотрейтолом и иодацетамидом, ВЭЖХ–МС/МС-анализ. Первоочередную задачу для дальнейших исследований авторы видят в сокращении продолжительности анализа. Пока на исследование одного образца требуется около трех часов.

Авторы обзора [102] отмечают, что метаболомные и липидомные исследования с применением ультра-ВЭЖХ–МС высокого разрешения являются мощным инструментом для дифференциальной диагностики инфекций и обнаружения неизвестных пока биомаркеров патогенов. Большие надежды связывают с гибридными технологиями, объединяющими ПЦР и масс-спектрометрию. Возможности масс-спектрометрической идентификации вирусных ДНК и РНК ограничены их низкой концентрацией в биоматериале. Эта проблема успешно преодолевается путем их “концентрирования” с применением ПЦР. Диагностические процедуры должны развиваться как в направлении быстрой и надежной идентификации известных вирусов, так и в направлении обнаружения генетических маркеров ранее неиз-

вестных патогенов. Для того чтобы диагностические комплексы были мобильными, необходима миниатюризация масс-спектрометров и обеспечение их стабильной работы в условиях, приближенных к полевым.

Аналитическая масс-спектрометрия имеет перспективы применения в исследованиях, направленных на поиск новых мишеней для действия вакцин против SARS-CoV-2. С помощью сочетанного применения масс-спектрометрии и биоинформатики авторам работы [103] удалось продемонстрировать эффективность предложенного ими алгоритма предсказания механизма реакции определенных Т-клеток на SARS-CoV-2 и формирования Т-клеточного иммунитета.

Возможность обнаруживать и идентифицировать белки, входящие в состав вируса, характеризовать их уникальность, а также предсказывать механизмы формирования клеточного иммунитета открывает перспективы для диагностики вирусных инфекций, блокирования и предупреждения их развития.

* * *

Сочетание обзорного и целевого ГХ–МС-анализа на этапе обнаружения заранее неизвестных аналитов пока сохраняет позицию “золотого сечения”. Стандартизованные условия анализа с применением моноквадрупольных масс-детекторов обеспечивают возможность обращения к обширным и постоянно пополняемым базам данных масс-спектров и индексов удерживания. Метод ВЭЖХ–МСⁿ в режиме ионизации электрораспылением можно уже рассматривать в качестве классического подхода к определению как малых молекул, так и супрамолекулярных комплексов в биообъектах любой сложности. Возможности обзорного ВЭЖХ–МС- и ВЭЖХ–МС/МС-анализов пока ограничены многоцелевым скринингом, при проведении которого формирование перечня аналитов-кандидатов должно предшествовать анализу. Для определения органических соединений с низкой эффективностью ионизации электрораспылением (например, стероидов) ГХ–МС пока остается наиболее рациональным подходом. Медицина и биология ставят перед современным ХМС-анализом мультипараметрические задачи установления биологических эффектов, биологических состояний (статусов) и даже сбора ключевой информации для постановки диагнозов. При этом в основе таких решений по-прежнему остается измерение интенсивностей аналитических сигналов, обусловленных распределением массовых чисел ионов. Масс-спектрометрический процесс неуклонно совершенствуется, но для того, чтобы его результаты имели диагностическую ценность, необходимо разработать подходы к стандартизации результатов ХМС-анализа, в том

числе и обзорного, их интеграции в омиксные технологии и эффективной обработки и интерпретации больших объемов получаемой информации.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Мильман Б.Л., Журкович И.К. Аналитика и биоаналитика на картах науки // Аналитика. 2013. № 2. С. 34. (Milman B.L., Zhurkovich I.K. Analytics and bioanalytics on maps of science // Analytics. 2013. P. 34.)
2. Рембовский В.Р., Могиленкова Л.А., Радилов А.С., Савельева Е.И., Комбарова М.Ю. Перспективы биомониторинга для оценки здоровья при работах с опасными химическими веществами // Медицина экстремальных ситуаций. 2018. Т. 20. № 3. С. 398. (Rembovsky V.R., Mogilenkova L.A., Radilov A.S., Savelyeva E.I., Kombarova M.Yu. Prospects for biomonitoring for health assessment of employees working with hazardous chemicals // Meditsina ekstremal'nykh situatsiy (Medicine of Extreme Situations) 2018. V. 20. № 3. P. 398.)
3. EU – European Union. DEMOCOPHES – Human Biomonitoring on a European Scale. 2013. <https://ec.europa.eu/environment/life/project> (26.11.2020).
4. UNEP (2013): Guidance on the global monitoring plan for persistent organic pollutants. UNEP/POPS/COP.6/INF/31. www.pops.int (26.11.2020).
5. Амирова З.К., Сперанская О.А. Новые стойкие органические супертоксиканты и их влияние на здоровье человека. М.: Издательство “Москва”, 2016. С. 94.
6. Mørck T.A., Nielsen F., Nielsen J.K.S., Siersma V.D., Grandjean P., Knudsen L.E. PFAS concentrations in plasma samples from Danish school children and their mothers // Chemosphere. 2015. V. 129. P. 203.
7. Needham L.L., Calafat A.M., Barr D.B. Uses and issues of biomonitoring // Int. J. Hyg. Environ. Health. 2007. V. 210. P. 229.
8. Whitehead T.P., Crispo Smith S., Park J.-S., Petreas M.X., Rappaport S.M., Metayer C. Concentrations of persistent organic pollutants in California women's serum and residential dust // Environ. Res. 2015. V. 136, P. 57.
9. Svarcova A., Lankova D., Gramblicka T., Stupak M., Hajsova J., Pulkrabova J. Integration of five groups of POPs into one multi-analyte method for human blood serum analysis: An innovative approach within biomonitoring studies // Sci. Total Environ. 2019. V. 667. P. 701.
10. Русских Я., Некрасова Л., Чернова Е., Никуфоров В., Жаковская З. Определение органических загрязнений, включенных в список ХЕЛКОМ, с помощью хроматомасс-спектрометра LTQ Orbitrap // Аналитика. 2012. Т. 1. № 2. С.24. (Russkikh Y., Nekrasova L., Chernova E., Nikiforov V., Zhakovskaya Z. Determination of organic contaminants from the list of HELCOM using high performance liquid chromatography coupled to mass spectrometer LTQ orbitrap // Analytics. 2012. V. 1. № 2. P. 24.)
11. Manneje A., Coakley J., Mueller J.F., Harden F., Toms L.-M., Douwes J. Partitioning of persistent organic pollutants (POPs) between human serum and breast milk: A literature review // Chemosphere. 2012. V. 89. № 8. P. 911.
12. Hernik A., Struciński P., Buckley B.T., Góralczyk K., Czaja K., Korcz W., Ludwicki J.K. Relationship between paired cord blood and milk POPs levels as a tool for assessing perinatal exposure, A pilot study // Hum. Ecol. Risk Assess.: Int. J. 2016. V. 22. № 7. P. 1456.
13. Philips E.M., Santos S., Steegers E.A.P., Asimakopoulos A.G., Kannan K., Trasande L., Jaddoe V.W.V. Maternal bisphenol and phthalate urine concentrations and weight gain during pregnancy // Environ. Int. 2020. V. 135. P. e105342.
14. Wirnkor V.A., Ngozi V.E., Ajero C.M., Charity L.K., Ngozi O.S., Ebere E.C., Emeka A.C. Biomonitoring of concentrations of polycyclic aromatic hydrocarbons in blood and urine of children at playgrounds within Owerri, Imo State, Nigeria // Environ. Anal. Health Toxicol. 2019. V. 34. № 4. P. e2019011.
15. Henríquez-Hernández L.A., Ortiz-Andrelluchi A., Álvarez-Pérez J., Acosta-Dacal A., Zumbado M., Martínez-González M.A., Serra-Majem L. Human biomonitoring of persistent organic pollutants in elderly people from the Canary Islands (Spain): A temporal trend analysis from the PREDIMED and PREDIMED-Plus cohorts // Sci. Total Environ. 2021. V. 758. P. 143637.
16. Read R.W. Verification of exposure to chemical warfare agents / Chemical Warfare Toxicology: V. 2: Management of Poisoning / Eds. Worek F., Jenner J., Thiermann H. Royal Society of Chemistry, 2016. P. 179.
17. Lilach Yishai Aviram L.Y., Loewenthal D., Weissberg A., Dagan S. Determination of free G-type nerve agents in blood: in situ derivatization on a dried blood spot (DBS) paper followed by LC–MS/MS analysis // Forensic Toxicol. 2020. V. 38. № 2. P. 327.
18. Корягина Н.Л., Алюшина Т.И., Каракашев Г.В., Савельева Е.И., Хлебникова Н.С., Радилов А.С. Определение фосфонилированного тирозина как маркера экспозиции к фосфорорганическим отравляющим веществам в сухих образцах плазмы крови методом ВЭЖХ–МС/МС высокого разрешения // Масс-спектрометрия. Т. 15. № 3. С. 194. (Koryagina N.L., Aliushina T.I., Karakashev G.V., Savelyeva E.I., Khlebnikova N.S., Radilov A.S. Determination of phosphorylated tyrosine as a marker of exposure to nerve agents in dried blood plasma spots by HPLC–HRMS/MS // Mass-spectrometry. 2018. V. 15. № 3. P. 194)
19. Carlsson H., Tornqvist M. An adductomic approach to identify electrophiles in vivo // Basic Clin. Pharm. Toxicol. 2017. V. 121. P. 44.
20. Kanaly R.A., Hanaoka T., Sugimura H., Toda H., Matsui S., Matsuda T. Development of the adductome approach to detect DNA damage in humans // Antioxid. Redox Signal. 2006. V. 8. P. 993.
21. Golime R., Chandra B., Palit M., Dubey D. K. Adductomics: A promising tool for the verification of chemical warfare agents' exposures in biological samples // Arch. Toxicol. 2019. V. 93. № 6. P. 147.
22. Van der Schans M.J. Laboratory analysis of chemical warfare agents, adducts, and metabolites in biomedical samples / Handbook of Toxicology of Chemical Warfare Agents / Ed. Ramesh Gupta, Academic Press, 2020. P. 969.
23. Chang Y.-J., Cooke M.S., Chen Y.-R., Yang S.-F., Li P.-S., Hu C.-W., Chao M.-R. Is high resolution a strict requirement for mass spectrometry-based cellular DNA

- adductomics? // *Chemosphere*. 2021. V. 274. P. 129991.
24. *Nøst T.H., Sandanger T.M., Nieboer E., Odland J.Ø., Breivik K.* The impacts of emission trends of POPs on human concentration dynamics: Lessons learned from a longitudinal study in Norway (1979–2007) // *Int. J. Hyg. Environ. Health*. 2017. V. 220. P. 776.
25. *Vermeulen R., Schymanski E.L., Barabási A.-L., Miller G.W.* The exposome and health: Where chemistry meets biology // *Science*. 2020. V. 367(6476). P. 392.
26. *Jones D.P.* Sequencing the exposome: A call to action // *Toxicol. Reports*. 2016. V. 3. P. 29.
27. *Xue J., Lai Y., Liu C.-W., Ru H.* Towards mass spectrometry-based chemical exposome: Current approaches, challenges, and future directions // *Toxics*. 2019. V. 7. № 3. P. 41.
28. *Andra S.S., Austin C., Patel D., Dolios G., Awawda M., Arora M.* Trends in the application of high-resolution mass spectrometry for human biomonitoring: An analytical primer to studying the environmental chemical space of the human exposome // *Environ. Int.* 2017. V. 100. P. 32.
29. *Савельева Е.И., Корягина Н.Л., Орлова О.И.* Определение аддуктов отравляющих веществ с биомолекулами как биомаркеров экспозиции/эффекта // Медицина экстремальных ситуаций. 2018. Т. 20. № 3. С. 451. (*Savel'yeva E. I., Koryagina N.L., Orlova O.I.* Determination of toxic substances adducts with biomolecules as biomarkers of the exposure/effect // *Medicine of Extreme Situations*. 2018. V. 20. № 3. P. 451.)
30. *Reddy M.C., Vasquez K.M.* Repair of genome destabilizing lesions // *Radiat. Res*. 2005. V. 164. P. 345.
31. *Evans M.D., Dizdaroglu M., Cooke M.S.* Oxidative DNA damage and disease: Induction, repair and significance // *Mutat. Res*. 2004. V. 567. P. 1.
32. *Balbo S., Turesky R.J., Villalta P.W.* DNA adductomics // *Chem. Res. Toxicol.* 2014. V. 27. P. 356.
33. *O'Connor M.J.* Targeting the DNA damage response in cancer // *Mol. Cell*. 2015. V. 60. P. 547.
34. *Yin J., Zhang N., Wang H.* Liquid chromatography - mass spectrometry for analysis of DNA damages induced by environmental exposure // *Trends Anal. Chem.* 2019. V. 120. P. 115645.
35. *Орлова О.И., Каракашев Г.В., Шмурак В.И., Абзиянидзе В.В., Савельева Е.И.* Определение N7-[2-[(2-гидроксиэтил)-тио]-этил]-гуанина в моче крыс как маркера воздействия сернистого иприта // Вестник СПбГУ. Физика и химия. 2017. Т. 4(62). № 3. С. 313. (*Orlova O.I., Karakashev G.V., Shmurak V.I., Abzianidze V.V., Savelieva E.I.* Determination of N7-[2-[(2-hydroxyethyl)thio]-ethyl]guanine in rat's urine as biomarker of exposure of sulfur mustard // *Vestnik SPbSU. Physics and Chemistry*. 2017. V. 4(62). № 3. P. 313.)
36. *Cooke M.S., Hu C.-W., Chang Y.-J., Chao M.-R.* Urinary DNA adductomics – A novel approach for exposomics // *Environ. Int.* 2018. V. 121. P. 1033.
37. *Yu Y., Wang P., Cui Y., Wang Y.* Chemical analysis of DNA damage // *Anal. Chem.* 2018. V. 90. P. 556e576.
38. *Murakami H., Horiba R., Iwata T., Miki Y., Uno B., Sakai T., Kaneko K., Ishihama Y., Teshima N., Esaka Y.* Progress in a selective method for the determination of the acetaldehyde derived DNA adducts by using HILIC–ESIMS/MS // *Talanta*. 2018. V. 177. P. 12e17.
39. *Yin R., Liu S., Zhao C., Lu M., Tang M., Wang H.* An ammonium bicarbonate enhanced stable isotope dilution UHPLC-MS/MS method for sensitive and accurate quantification of acrolein-DNA adducts in human leukocytes // *Anal. Chem.* 2013. V. 85. P. 3190e3197.
40. *Zhang N., Song Y., Wu D., Xu T., Lu M., Zhang W., Wang H.* Detection of 1,N2-propano-20-deoxyguanosine adducts in genomic DNA by ultrahigh performance liquid chromatography-electrospray ionization-tandem mass spectrometry in combination with stable isotope dilution // *J. Chromatogr. A*. 2016. V. 1450. P. 38e44.
41. *Орлова О.И., Савельева Е.И., Каракашев Г.В.* Методы определения аддуктов сернистого иприта с ДНК // Журн. аналит. химии. 2017. Т. 72. № 3. С. 209. (*Orlova O.I., Savel'eva E.I., Karakashev G.V.* Methods of determination of sulfur yperite–DNA adducts // *J. Anal. Chem.* 2017. V. 72. P. 256.)
42. *Kanaly R.A., Hanaoka T., Sugimura H., Toda H., Matsui S., Matsuda T.* Development of the adductome approach to detect DNA damage in humans // *Antioxid. Redox Signal.* 2006. V. 8. P. 993.
43. *Chang Y.J., Cooke M.S., Hu C.W., Chao M.R.* Novel approach to integrated DNA adductomics for the assessment of in vitro and in vivo environmental exposures // *Arch. Toxicol.* 2018. V. 92. № 8. P. 2665.
44. *Sans M., Krieger A., Wygant B.R., Garza K.Y., Mullins C.B., Eberlin L.S.* Spatially controlled molecular analysis of biological samples using nanodroplet arrays and direct droplet aspiration // *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 2020. V. 31. № 2. P. 418.
45. *Kempa E.E., Hollywood K.A., Smith C.A., Barran P.E.* High throughput screening of complex biological samples with mass spectrometry – from bulk measurements to single cell analysis // *The Analyst*. 2019. V. 144. № 3. P. 872.
46. *Рыбальченко И.В., Байгильдиев Т.М., Родин И.А.* Хромато-масс-спектрометрические методы определения маркеров и биомаркеров отравляющих веществ // Журн. аналит. химии. 2021. Т. 76. № 1. С. 32.
47. *Biomarkers definitions working group.* Biomarkers and surrogate endpoints: Preferred definitions and conceptual framework // *Clin. Pharmacol. Ther.* 2001. V. 69. № 3. P. 89.
48. *Мильман Б., Журкович И.* Масс-спектрометрический анализ медицинских объектов и проблемы клинической диагностики // Журн. аналит. химии. 2015. Т. 70. № 10. С. 1026. (*Milman B.L., Zhurkovich I.K.* Mass spectrometric analysis of medical samples and aspects of clinical diagnostics // *J. Anal. Chem.* 2015. V. 70. P. 1179.)
49. *Ma S., Guo Q., Zhang Z., He Z., Yue A., Song Z., Sun R.* Expanded newborn screening for inborn errors of metabolism by tandem mass spectrometry in newborns from Xinxiang city in China // *J. Clin. Labor. Anal.* 2020. V. 34. № 5. e23159.
50. *Shi S., Yi L., Yun Y., Zhang X., Liang Y.* A combination of GC–MS and chemometrics reveals metabolic differences between serum and plasma // *Anal. Methods*. 2015. V. 7. № 5. P. 1751.
51. *Pohjanen E., Thysell E., Jonsson P., Eklund C., Silfver A., Carlsson I.-B., Antti H.* A multivariate screening strategy for investigating metabolic effects of strenuous

- physical exercise in human serum // *J. Proteome Res.* 2007. V. 6. № 6. P. 2113.
52. Kell D.B., Brown M., Davey H.M., Dunn W.B., Spasic I., Oliver S.G. Metabolic footprinting and systems biology: the medium is the message // *Nat. Rev. Microbiol.* 2005. V. 3. P. 557.
 53. Armstrong C.W., McGregor N.R., Sheedy J.R., Butfield I., Butt H.L., Gooley P.R. NMR metabolic profiling of serum identifies amino acid disturbances in chronic fatigue syndrome // *Clin. Chim. Acta.* 2012. V. 413. № 19–20. P. 1525.
 54. Armstrong C.W., McGregor N.R., Lewis D.P., Butt H.L., Gooley P.R. Metabolic profiling reveals anomalous energy metabolism and oxidative stress pathways in chronic fatigue syndrome patients // *Metabolomics.* 2015. V. 11. P. 1626.
 55. Casado B., Zanone C., Annovazzi L., Iadarola P., Whalen G., Baraniuk J.N. Urinary electrophoretic profiles from chronic fatigue syndrome and chronic fatigue syndrome/fibromyalgia patients: A pilot study for achieving their normalization // *J. Chromatogr. B.* 2005. V. 814. № 1. P. 43.
 56. Kamrath C., Hartmann M.F., Boettcher C., Zimmer K.-P., Wudy S.A. Diagnosis of 21-hydroxylase deficiency by urinary metabolite ratios using gas chromatography–mass spectrometry analysis: Reference values for neonates and infants // *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 2016. V. 156. P. 10.
 57. Al-Khelaiji F., Diboun I., Donati F., Botrè F., Alsayrafi M., Georgakopoulos C., Elrayess M.A. A pilot study comparing the metabolic profiles of elite-level athletes from different sporting disciplines // *Sports Medicine – Open.* 2018. V. 4. Article number 2.
 58. Bongiovanni T., Pintus R., Dessì A., Noto A., Sardo S., Finco G., Corsello G., Fanos V. Sportomics: metabolomics applied to sports. The new revolution? // *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* 2019. V. 23. P. 11011.
 59. Yan B., A. J., Wang G., Lu H., Huang X., Liu Y., Zha W., Hao H., Zhang Y., Liu L., Gu S., Huang Q., Zheng Y., Sun J. Metabolomic investigation into variation of endogenous metabolites in professional athletes subject to strength–endurance training // *J. Appl. Physiol.* 2009. V. 106. P. 531.
 60. Lehmann R., Zhao X., Weige C., Simon P., Fehrenbach E., Fritsche J., Machann J., Schick F., Wang J., Hoene M., Schleicher E.D., Häring H.U., Xu G., Niess A.M. Medium chain acylcarnitines dominate the metabolite pattern in humans under moderate intensity exercise and support lipid oxidation // *PLoS One.* 2010. V. 5. P. e11519.
 61. Lewis G.D., Farrell L., Wood M.J., Martinovic M., Arany Z., Rowe G.C., Souza A., Cheng S., McCabe E.L., Yang E., Shi X., Deo R., Roth F.P., Asnani A., Rhee E.P., Systrom D.M., Semigran M.J., Vasan R.S., Carr S.A., Wang T.J., Sabatine M.S., Clish C.B., Gerszten R.E. Metabolic signatures of exercise in human plasma // *Sci. Transl. Med.* 2010. V. 2. № 33. P. 33.
 62. Ciborowski M., Javier Rupérez F., Matínez-Alcázar M.P., Angulo S., Radziwon P., Olszanski R., Kloczko J., Barbas C. Metabolomic approach with LC–MS reveals significant effect of pressure on diver’s plasma // *J. Proteome Res.* 2010. V. 9. P. 4131.
 63. Zauber H., Mosler S., von Hessbe A., Schulze W.X. Dynamics of salivary proteins and metabolites during extreme endurance sports – A case study // *Proteomics.* 2012. V. 12. P. 2221.
 64. Niem D.C., Scherr J., Luo B., Meaney M.P., Dréau D., Sha W., Dew D.A., Henson D.A., Papp K.L. Influence of pistachios on performance and exercise-induced inflammation, oxidative stress, immune dysfunction, and metabolite shifts in cyclists: A randomized, crossover trial // *PLoS One.* 2014. V. 9. P. e113725.
 65. Peake J.M., Tan S.J., Markworth J.F., Broadbent J.A., Skinner T.L., Cameron-Smith D. Metabolic and hormonal responses to isoenergetic high-intensity interval exercise and continuous moderate-intensity exercise // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2014. V. 307. P. E539.
 66. Lou B.S., Wu P.S., Liu Y., Wang J.S. Effects of acute systematic hypoxia on human urinary metabolites using LC–MS-based metabolomics // *High Alt. Med. Biol.* 2014. V. 15. P. 192.
 67. Wang F., Han J., He Q., Geng Z., Deng Z., Qiao D. Applying (1)H NMR spectroscopy to detect changes in the urinary metabolite levels of chinese halfpipe snowboarders after different exercises // *J. Anal. Methods Chem.* 2015. P. 1.
 68. Daskalaki E., Blackburn G., Kalna G., Zhang T., Anthony N., Watson D.G. A study of the effects of exercise on the urinary metabolome using normalization to individual metabolic output // *Metabolites.* 2015. V. 5. P. 119.
 69. Karl J.P., Margolis L.M., Murphy N.E., Carrigan C.T., Castellani J.W., Madslie E.H., Teien H.K., Martini S., Mountain S.J., Pasiakos S.M. Military training elicits marked increases in plasma metabolomic signatures of energy metabolism, lipolysis, fatty acid oxidation, and etogenesis // *Physiol. Rep.* 2017. V. 5. P. e13407.
 70. Nieman D.C., Mittlester S.H. Potential impact of nutrition on immune system recovery from heavy exertion: A metabolomics perspective // *Nutrients.* 2017. V. 9. P. E513.
 71. Талибова А., Токарев М., Рыжов М. Олимпийский спорт: методы борьбы с допингом // *Аналитика.* 2014. Т. 2. С. 30. (Talibova A., Tokarev M., Ryzov M. Olympic sports: Methods of doping control // *Analytics.* 2014. V. 2. P. 30.)
 72. Обухова Е.Н., Буряк А.К. Хромато–масс–спектрометрическое определение изомеров в допинговом контроле // *Журн. аналит. химии.* 2019. Т. 74. № 9. С. 652. (Obukhova E.N., Buryak A.K. Determination of isomers in doping control by chromatography–mass spectrometry // *J. Anal. Chem.* 2019. V. 74. № 9. P. 847.)
 73. Schänzer W., Thevis M. Human sports drug testing by mass spectrometry // *Mass Spectrom. Rev.* 2017. V. 36. P. 16.
 74. Botrè F., Georgakopoulos C., Elrayess M.A. Metabolomics and doping analysis: Promises and pitfalls // *Bioanalysis.* 2020. V. 12. № 11. P. 719.
 75. Handelsman D.J. Performance Enhancing Hormone Doping in Sport [Updated 2020 Feb 29] / Eds. Feingold K.R., Anawalt B., Boyce A. Endotext [Internet]. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc., 2000. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK305894> (28.02.2021).
 76. Kuuranne T., Kurkela M., Thevis M., Schanzer W., Finel M., Kostianinen R. Glucuronidation of anabolic androgenic steroids by recombinant human UDP-glucuronosyltransferases // *Drug Metab. Dispos.* 2003. V. 31. P. 1117.

77. Measurement and Reporting of Endogenous Anabolic Androgenic Steroid (EAAS) Markers of the Urinary Steroid Profile. WADA Technical Document – TD2021EAAS. December 2020. <https://www.wada-ama.org/sites/default/files/resources> (26.02.2021).
78. Kuuranne T., Saugy M., Baume N. Confounding factors and genetic polymorphism in the evaluation of individual steroid profiling // *Br. J. Sports Med.* 2014. V. 48. P. 848.
79. de la Torre X., Jardines D., Curcio D., Colamonici C., Botrè F. Isotope ratio mass spectrometry in antidoping analysis: The use of endogenous reference compounds // *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 2019. V. 30. № 33(6). P. 579.
80. Sottas P.E., Saugy M., Saudan C. Endogenous steroid profiling in the athlete biological passport // *Endocrinol. Metab. Clin. North Am.* 2010. V. 39. P. 59 viii.
81. Schulze J.J., Lundmark J., Garle M., Skilving I., Ekström L., Rane A. Doping test results dependent on genotype of uridinediphospho-glucuronosyltransferase 2B17, the major enzyme for testosterone glucuronidation // *Clin. Endocrinol. Metab.* 2008. V. 93. P. 2500.
82. Anizan S., Huestis M.A. The potential role of oral fluid in antidoping testing // *Clin. Chem.* 2014. V. 60. № 2. P. 307.
83. Никитин Е.В., Григорьев А.М., Грибкова С.Е., Крупина Н.А., Калашиков В.А., Родин И.А. Хромато-масс-спектрометрические характеристики новых дизайнерских катинонов, а также их метаболитов, полученных с помощью *in vivo* и *in vitro* методов // *Масс-спектрометрия.* 2020. Т. 17. № 2. С. 112.
84. Уколов А.И., Сорокоумов П.Н., Уколова Е.С., Савельева Е.И., Радилов А.С. Определение дихлофоса, диметоата, хлорпирифоса, фозалона, диазинона и метилпаратиона в крови и моче методом газовой хроматографии с тандемным масс-селективным детектированием // *Аналитика и контроль.* 2014. Т. 18. №3. С. 280. (Ukolov A.I., Sorokoumov P.N., Ukolov E.S., Savel'eva E.I., Radilov A.S. GC-MS/MS quantification of chlorophos, dimethoate, chloropyrifos, fosalon, diazinon and methylparathion // *Analitika i Kontrol.* 2014. V. 18. № 3. P. 280.)
85. Vermeulen R., Schymanski E.L., Barabási A.-L., Miller G.W. The exposome and health: Where chemistry meets biology // *Science.* 2020. V. 367. № 6476. P. 392.
86. Куценко С.А. Основы токсикологии. Санкт-Петербург, 2002. Т. 4. С. 119. <http://www.medline.ru/public/monografy/toxicology> (01.03.2021).
87. Bouatra S., Aziat F., Mandal R., Guo A.C., Wilson M.R., Knox C., Bjorn Dahl T.C., Krishnamurthy R., Saleem F., Liu P., Dame Z.T., Poelzer J., Huynh J., Yallou F.S., Psychogios N., Dong E., Bogumil R., Roehring C., Wishart D.S. The human urine metabolome // *PLoS One.* 2013. V. 8. P. 0073076.
88. Sweetman L. Organic acids in man: the analytical chemistry, biochemistry and diagnosis of the organic acidurias // *Anal. Biochem.* 1982. V. 127. P. 458.
89. Jansen G., Muskiet F.A., Schierbeek H., Berger R., van der Slik W. Capillary gas chromatographic profiling of urinary, plasma and erythrocyte sugars and polyols as their trimethylsilyl derivatives, preceded by a simple and rapid prepurification method // *Clin. Chim. Acta.* 1986. V. 157. P. 277.
90. Корягина Н.Л., Савельева Е.И., Хлебникова Н.С., Уколов А.И., Уколова Е.С., Каракашев Г.В., Радилов А.С. Хроматомасс-спектрометрическое определение алкилметилфосфоновых кислот в моче // *Масс-спектрометрия.* 2015. Т. 12. № 4. С. 236.
91. Rutkowska M., Płotka-Wasyłka J., Sajid M., Andruch V. Liquid-phase microextraction: A review of reviews // *Microchem. J.* 2019. V. 149. P. 1.
92. Jalili V., Barkhordari A., Ghiasvand A. A comprehensive look at solid-phase microextraction technique: A review of reviews // *Microchem. J.* 2020. V. 152. P. 1.
93. Luiz Oenning, A., Birk, L., Eller, S., Franco de Oliveira, T., Merib, J., Carasek, E. A green and low-cost method employing switchable hydrophilicity solvent for the simultaneous determination of antidepressants in human urine by gas chromatography–mass spectrometry detection // *J. Chromatogr. B.* 2020. V. 1143. P. 122069.
94. Jessop P.G., Kozycz L., Rahami Z.G., Schoenmakers D., Boyd A.R., Wechsler D., Holland A.M. Tertiary amine solvents having switchable hydrophilicity // *Green Chem.* 2011. V. 13. P. 619.
95. Vanderveen J.R., Geng J., Zhang S., Jessop P.G. Diamines as switchable-hydrophilicity solvents with improved phase behavior // *RSC Adv.* 2018. V. 8. P. 27318.
96. Jackson G.P. Error terror in forensic science: When spectroscopy meets the courts // *Spectroscopy.* 2016. V. 31. № 11. P. 2.
97. Темердашев А.З., Григорьев А.М., Рыбальченко И.В. Эволюция новых наркотических средств и методы их определения // *Журн. аналит. химии.* 2014. Т. 69. № 9. С. 899. (Temerdashev A.Z., Grigor'ev A.M., Rybal'chenko I.V. Evolution of new narcotic substances and methods of their determination // *J. Anal. Chem.* 2014. V. 69. № 9. P. 817.)
98. Григорьев А. М., Реброва С. Г., Крупина Н. А. Скрининговые процедуры при анализе объектов биологического происхождения методом жидкостной хроматографии/масс-спектрометрии: возможные затруднения // *Наркология.* 2016. № 10. С. 88.
99. Rana R., Rathi V., Ganguly N.K. A comprehensive overview of proteomics approach for COVID-19: New perspectives in target therapy strategies // *J. Proteins Proteom.* 2020. V. 11. № 4. P. 223.
100. Nachtigall F.M., Pereira A., Trofymchuk O.S., Santos L.S. Author correction: Detection of SARS-CoV-2 in nasal swabs using MALDI-MS // *Nature Biotechnol.* 2020. V. 38. № 10. P. 1211.
101. Ihling C., Tänzler D., Hagemann S., Kehlen A., Hüttelmaier S., Arlt C., Sinz A. Mass Spectrometric identification of SARS-CoV-2 proteins from gargle solution samples of COVID-19 patients // *J. Proteome Res.* 2020. V. 19. № 11. P. 4389.
102. Mahmud I., Garrett T.J. Mass spectrometry techniques in emerging pathogens studies: COVID-19 perspectives // *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 2020. V. 31. № 10. P. 2013.
103. Poran A., Harjanto D., Malloy M., Arieta C.M., Rothenberg D.A., Lenkala D., Gaynor R.B. Sequence-based prediction of SARS-CoV-2 vaccine targets using a mass spectrometry-based bioinformatics predictor identifies immunogenic T cell epitopes // *Genome Med.* 2020. V. 12. № 1. Abstract P.S03-02.