

УДК 612.12

НОРМАЛЬНЫЙ УРОВЕНЬ СЕПСИС-АССОЦИИРОВАННЫХ ФЕНИЛКАРБОНОВЫХ КИСЛОТ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА

© 2015 Н.В. Белобородова^{1*}, В.В. Мороз¹, А.А. Осипов^{1,2},
А.Ю. Бедова¹, А.Ю. Оленин¹, М.Л. Гецина¹,
О.В. Карпова², Е.Г. Оленина³

¹ Институт общей реаниматологии им. В.А. Неговского,
107031 Москва, ул. Петровка, 25, стр. 2; факс: +7(495)694-2708,
электронная почта: nvbeloborodova@yandex.ru

² Федеральный научно-клинический центр детской гематологии,
онкологии и иммунологии им. Д. Рогачева Минздрава РФ,
117997 Москва, ул. Саморы Машела, 1; факс: +7(495)664-7090

³ Всероссийский научно-исследовательский институт
метрологической службы, 119361 Москва, ул. Озерная, 36;
факс: +7(495)437-5666, электронная почта: olenina@vniims.ru

Поступила в редакцию 10.11.14

После доработки 08.12.14

Известно, что в крови больных с сепсисом накапливаются большие количества фенилкарбонных кислот (ФКК) за счет усиленной биотрансформации фенилаланина и тирозина с участием микробиоты. Традиционно у людей без наследственных моногенетических заболеваний путь биохимического превращения ароматических аминокислот в ФКК считают функционально незначимым. В данной работе показано, что ФКК, характерные для больных с сепсисом, присутствуют и в крови здоровых людей. Методом газовой хроматографии с пламенно-ионизационным детектированием установлено, что общий уровень ФКК в сыворотке крови составляет в среднем 6 мкМ и является стабильным биохимическим показателем, отражая нормальный метаболизм ароматических аминокислот. Относительные концентрации ФКК в метаболическом профиле здоровых людей распределяются следующим образом: фенилуксусная \approx *p*-гидроксифенилмолочная > *p*-гидроксифенилуксусная > фенилмолочная \approx фенилпропионовая > бензойная. По мнению авторов поддержание стабильных уровней ФКК в сыворотке крови обеспечивается в результате интеграции эндогенных метаболических путей человека и микробиоты.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: метаболизм тирозина, сепсис, фенилкарбонные кислоты, фенилмолочная кислота, *p*-гидроксифенилмолочная кислота, фенилпропионовая кислота, бензойная кислота, микробиота.

Ранее в крови больных в критических состояниях была идентифицирована группа низкомолекулярных фенилкарбонных кислот (ФКК), качественно-количественный состав которых (далее – профиль) был значительно изменен по сравнению с кровью здорового человека [1]. Эти химические соединения, а именно бензойная (БК), *p*-гидроксибензойная (*p*-ГБ), фенилпропионовая (ФПК), *p*-гидроксифенил-

пропионовая (*p*-ГФПК), фенилуксусная (ФУК), *p*-гидроксифенилуксусная (*p*-ГФУК), фенилмолочная (ФМК), *p*-гидроксифенилмолочная (*p*-ГФМК) кислоты, являются метаболитами фенилаланина и тирозина – ключевых аминокислот, участвующих в механизмах адаптации и регуляции [2–5]. При отсутствии наследственных моногенетических заболеваний (фенилкетонурии и тирозинемии) профиль ФКК относитель-

Принятые сокращения: ФКК – фенилкарбонные кислоты; БК – бензойная кислота; ФПК – фенилпропионовая кислота; *p*-ГФПК – гидроксифенилпропионовая кислота; ФУК – фенилуксусная кислота; *p*-ГФУК – гидроксифенилуксусная кислота; ФМК – фенилмолочная кислота; *p*-ГФМК – гидроксифенилмолочная кислота; ГХ-ПВД – газовая хроматография с пламенно-ионизационным детектированием; ГХ-МС – газовая хроматография с масс-спектрометрией; 3,4-ФГБК – 3,4-дигидроксибензойная кислота; ТМС-производное – триметилсилильное производное; ИР – интерквартильный размах; ПР – процентильный размах; r_s – коэффициент корреляции Спирмена.

* Адресат для корреспонденции.

но нормы имеет наибольшие отклонения у больных с сепсисом [1, 6]. Поэтому данную группу метаболитов можно назвать «сепсис-ассоциированными ФКК» [6–8].

ФКК широко распространены в природе и обладают биорегуляторной активностью [7]. Существует мнение, что ФКК участвуют в аллелопатии – свойстве организмов выделять химические соединения, которые тормозят или подавляют размножение других организмов. БК, ФУК и ФПК в наибольшей степени способны подавлять рост *Escherichia coli*, при этом энтеропатогенный штамм более чувствителен к ним. ФУК и ФПК сильнее подавляют рост *Staphylococcus aureus*, чем их гидроксильированные производные [9, 10]. Результаты других микробиологических исследований, в т.ч. данные о противогрибковой активности ФМК и *p*-ГФМК, обобщены нами ранее [7]. Известны и более тонкие эффекты этой группы метаболитов. Так, ФКК влияют на интенсивность клеточного дыхания и модулируют продукцию активных форм кислорода (АФК) в митохондриях, влияют на образование оксида азота (NO), снижают продукцию АФК в нейтрофилах [7, 11–13]. Вместе с тем механизмы действия ФКК на живые клетки остаются малоизученными.

В классической биохимии человека принято рассматривать ФКК как метаболиты альтернативного и функционально незначимого для человека пути трансформации фенилаланина и тирозина. Аргументом в пользу этого являются данные о том, что ФКК проявляют свои биорегуляторные свойства в концентрациях, существенно превышающих их нормальный уровень в сыворотке [7]. Однако при этом не учитывается, что в организме здорового человека существует так называемый «забытый орган» – кишечная микробиота, которая может создавать в кишечнике биологически активные концентрации ФКК [5, 7, 14, 15]. Вопрос о преимущественном источнике (эндогенном или микробном) ФКК в сыворотке крови человека представляет интерес не только в фундаментальном, но и в прикладном аспекте. Так, в наших предыдущих работах показана перспективность анализа метаболического профиля сепсис-ассоциированных ФКК у реаниматологических больных для объективной оценки тяжести их состояния, а также для мониторинга эффективности проводимого лечения [1, 16].

Цель данной работы – установление уровня сепсис-ассоциированных ФКК в сыворотке крови здоровых людей. Это необходимо для дальнейшего изучения механизмов участия ФКК в патогенезе заболеваний и критических состояний, а также для разработки диагностических критериев.

Основной экспериментальный метод – газовая хроматография с пламенно-ионизационным детектированием (ГХ-ПИД). Традиционным методом количественного определения фенольных соединений в биологических жидкостях является газовая хроматография в сочетании с масс-спектрометрией (ГХ-МС) [1, 14, 17]. Важными преимуществами данного метода является его селективность и чувствительность, а основным недостатком – высокая стоимость оборудования. Для повышения доступности метаболомного анализа нами выполнена работа по замене масс-спектрального детектора на пламенно-ионизационный, а также показано, что модифицированный метод ГХ-ПИД при работе на доступном отечественном газовом хроматографе пригоден для количественного измерения уровня анализируемых сепсис-ассоциированных ФКК и не уступает по чувствительности ГХ-МС [18].

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Группа доноров крови. Исследованы образцы сыворотки венозной крови 72 здоровых доноров старше 18 лет. Набор образцов сыворотки осуществлялся в отделении трансфузиологии, заготовки и процессинга гемопоэтических стволовых клеток в соответствии с принятыми нормами. Отбор образца крови производили в закрытые чистые пластиковые пробирки без консервантов, активаторов коагуляции и других реагентов. Цельную кровь центрифугировали в течение 15 мин при 800 g. Отобранные образцы сыворотки замораживали и хранили при -20° . Повторного размораживания–замораживания не допускалось.

Методика газохроматографического определения. Замороженный образец сыворотки размораживали непосредственно перед анализом при комнатной температуре. В стеклянную пробирку объемом 10 мл помещали 800 мкл воды для инъекций, 200 мкл сыворотки крови и 10 мкл метанола («Fluka», США), содержавшего 400 мг 3,4-дигидроксibenзойной кислоты («Acros Organics», США) (3,4-ДГБК, внутренний стандарт), 0,3–0,5 г твердого хлорида натрия до образования насыщенного раствора, концентрированную серную кислоту до pH 2. После денатурации белка проводили экстракцию органических соединений (3 × 1 мл) диэтиловым эфиром («Химмед», Россия). Полученный эфирный экстракт упаривали досуха при 40° , сухой остаток выдерживали под крышкой с 20 мкл N,O-бис(триметилсилил)трифторацетамида («Fluka», США) при 80° в течение 15 мин для получения триме-

тилсилильных (ТМС) производных, затем полученную массу доводили до комнатной температуры и разбавляли 80 мкл *n*-гексана («Экос-1», Россия).

Анализ ФКК в образцах сыворотки проводили на газовом хроматографе Кристалл 5000.2 («Хроматэк», Россия), оснащенного пламенно-ионизационным детектором. Хроматографическое разделение проводили на кварцевой капиллярной колонке CP SIL 5CB длиной 30 м, диаметром 0,32 мм с толщиной слоя неподвижной фазы 0,25 мкм. Газ-носитель – гелий, скорость потока через колонку – 1,2 мл/мин, объем анализируемой пробы – 2 мкл, деление потока – 1 : 25. Температурный режим анализа: температура испарителя 270°, начальная температура термостата колонки 80°, время выдержки 4 мин, далее нагрев до 240° со скоростью 7 град/мин и далее – до 270° со скоростью 15 град/мин, термостатирование при 270° до конца анализа. Общее время анализа – 30 мин. Количество определяемого соединения оценивали сравнением площади его пика с площадью пика внутреннего стандарта. Времена удерживания и пределы обнаружения ТМС-производных приведены в табл. 1.

Статистический анализ. Обработку результатов проводили с применением программы SPSS Statistics 22. Соответствие распределения нормальному оценивали с применением одновыборочного критерия Колмогорова–Смирнова. Описательная статистика в тексте представлена в виде медианы и интерквартильного размаха (ИР 25–75%), а в табл. 2 – более подробно с указанием максимального и минимального значения величин и процентильного размаха (ПР 5–95%). Для сравнения величин с нормальным распределением использовали *t*-тест для двух независимых выборок, для величин с отличным от нормального – критерий Манна–Уитни. При определении корреляционной связи рассчитывали коэффициент корреляции Спирмена (r_s). Критерий Краскела–Уоллиса использовали при сравнении нескольких независимых выборок. Значение $p < 0,05$ принималось статистически значимым [19, 20].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Уровни шести определяемых ФКК у 72 доноров представлены в табл. 2. Согласно одновыборочному критерию Колмогорова–Смирнова уровни ФМК и *p*-ГФМК ($p = 0,20$) имели нормальное распределение. Из продуктов метаболизма фенилаланина в сыворотке крови больше всего содержалось ФУК – 1,41 (ИР 0,95–2,15) мкМ, а из продуктов метаболизма тирозина – *p*-ГФМК –

1,47 (1,09–1,78) мкМ. Самый низкий уровень в сыворотке крови был отмечен у БК – 0,27 (0,17–0,42) мкМ. ФПК была единственной из всех ФКК, минимальное значение которой в двух случаях (2,8%) было меньше предела обнаружения метода (<0,03 мкМ). Общий уровень шести ФКК не превышал 12 мкМ в 90% случаев, нижняя граница для данного показателя установлена на уровне 3 мкМ. Полученные нами результаты несколько отличаются от значений, приведенных в базе данных метаболизма человека (HMDB, <http://www.hmdb.ca>), взятых из разрозненных исследований. Анализ первоисточников показал, что авторы в ходе пробоподготовки образцов используют разные методики, часто прибегают к ферментативному расщеплению конъюгатов, поэтому результаты часто отражают суммарное содержание как свободных, так и конъюгированных ФКК.

Известно, что при различных заболеваниях отношение тирозин/фенилаланин в сыворотке крови человека уменьшается преимущественно за счет увеличения уровня фенилаланина, что имеет важное диагностическое и прогностическое значение [21–23]. По аналогии с ранее существующим индексом тирозин/фенилаланин нами был произведен расчет индекса *p*-ГФМК/ФМК, который у обследованных нами здоровых людей составил 2,48 (ИР 1,72–3,39; ПР 1,43–4,44).

В табл. 2 приведены также данные об уровнях ФКК отдельно для мужчин и женщин. Сравнительный анализ позволил выявить гендерные различия, а именно: здоровые мужчины и женщины отличались по уровню ФМК ($p = 0,046$,

Таблица 1. Времена удерживания и пределы обнаружения ТМС-производных ФКК при определении методом газовой хроматографии

Соединение	Время удерживания, мин	Предел обнаружения, мкМ
БК	12,23	0,03
ФУК	13,27	0,03
ФПК	15,72	0,03
ФМК	19,16	0,03
<i>p</i> -ГФУК	19,93	0,03
<i>p</i> -ГФМК	24,35	0,06
3,4-ДГБК (внутренний стандарт)	23,09	–

Таблица 2. Сравнение уровней шести сепсис-ассоциированных ФКК в сыворотке крови здоровых мужчин ($n = 42$) и женщин ($n = 30$)

ФКК	Пол	Концентрация, мкМ					
		медиана	ИР (25–75%)	ПР (5–95%)	min	max	p
БК	оба	0,27	0,17–0,42	0,10–0,74	0,04	1,15	0,33
	м	0,23	0,16–0,44	0,1–0,76	0,10	0,93	
	ж	0,29	0,19–0,40	0,07–0,92	0,04	1,15	
ФУК	оба	1,41	0,95–2,15	0,48–4,91	0,37	14,61	0,23
	м	1,47	0,99–2,37	0,55–4,17	0,50	5,69	
	ж	1,19	0,87–1,67	0,38–11,24	0,37	14,61	
ФПК	оба	0,55	0,25–1,17	0,06–3,34	0,00	6,61	0,25
	м	0,66	0,30–1,24	0,93–2,54	0,07	2,67	
	ж	0,41	0,18–0,74	0,00–5,16	0,00	6,61	
ФМК	оба	0,63	0,46–0,82	0,27–1,04	0,21	1,32	0,046
	м	0,65	0,50–0,89	0,31–1,04	0,28	1,32	
	ж	0,59	0,33–0,74	0,22–1,07	0,21	1,14	
p -ГФУК	оба	0,98	0,68–1,48	0,50–2,27	0,26	3,00	0,28
	м	1,02	0,74–1,64	0,51–2,32	0,26	2,53	
	ж	0,90	0,63–1,08	0,45–2,54	0,39	3,00	
p -ГФМК	оба	1,47	1,09–1,78	0,87–2,53	0,70	3,47	0,012
	м	1,59	1,32–2,02	0,97–2,55	0,83	2,81	
	ж	1,27	1,01–1,56	0,72–2,63	0,70	3,47	
$\Sigma_{\text{ФКК}}$	оба	6,18	4,40–7,57	2,85–11,63	2,48	23,33	0,056
	м	6,78	4,93–7,99	3,57–9,22	3,13	9,58	
	ж	5,05	4,02–7,26	2,51–17,88	2,48	23,33	

t -тест) и p -ГФМК ($p = 0,012$, t -тест). У женщин чаще, чем у мужчин (10 и 2% случаев соответственно) встречались экстремально-высокие значения для отдельных соединений.

Наиболее выраженная корреляционная зависимость выявлена для ФМК и p -ГФМК ($r_s = 0,5$, $p < 0,001$) (табл. 3). В целом у женщин количественные корреляционные характеристики выражены сильнее, чем у мужчин. Все выявленные корреляции носили прямой характер. Кроме того, концентрации гидроксированных ФКК, содержащих группу $-\text{OH}$ в *para*-положении ароматического кольца или в боковой цепи (p -ГФМК, p -ГФУК, ФМК), коррелировали с уровнем креатинина: $r_s = 0,4$ ($p = 0,004$), $r_s = 0,3$ ($p = 0,043$), $r_s = 0,4$ ($p = 0,013$) соответственно.

Уровень ФКК не зависел от резус-фактора и группы крови ($p > 0,05$).

Согласно современным представлениям о метаболических путях трансформации природных соединений в организме человека можно выделить несколько источников ФКК:

1) алиментарный путь поступления «чистых» ФКК растительного и микробного происхожде-

ния (например, БК из ягод, ФПК и ФУК из меда, ФМК и p -ГФМК из кисломолочных продуктов и др.);

2) метаболизм полифенолов растительного происхождения и ароматических аминокислот микробиотой кишечника (до БК, ФПК);

3) эндогенный метаболизм ароматических аминокислот.

Анализируя полученные результаты и данные литературы, можно считать, что в крови ФУК и ФПК имеют преимущественно микробное происхождение, БК – смешанное (это соединение может образовываться из ФПК в печени человека), а гидроксированные кислоты (ФМК, p -ГФМК и p -ГФУК) в норме поступают в кровь преимущественно как продукты эндогенного клеточного метаболизма ароматических аминокислот. Исследования методом ГХ-МС надосадочной жидкости, полученной из образцов фекалий здорового человека, показали, что среди фенольных соединений больше всего содержалось ФУК (479 мкМ), далее по убывающей ФПК (166 мкМ), БК (51 мкМ) и p -ГФУК (19 мкМ) [14]. Как следует из табл. 2, соотношение уров-

Таблица 3. Корреляционные связи между уровнями ФКК в сыворотке крови здоровых людей, в т.ч. отдельно мужчин и женщин

ФКК	Пол	ФПК		ФУК		ФПК		ФМК		p-ГФМК	
		r_s	p	r_s	p	r_s	p	r_s	p	r_s	p
ФУК	оба	0,0	0,745								
	м	-0,3	0,061	—	—	—	—	—	—	—	—
	ж	0,2	0,193								
ФПК	оба	0,2	0,167	0,4	0,002						
	м	0,2	0,252	0,2	0,226	—	—	—	—	—	—
	ж	0,2	0,320	0,4	0,016						
ФМК	оба	0,2	0,191	0,4	0,001	0,3	0,005				
	м	0,1	0,703	0,2	0,339	0,1	0,696	—	—	—	—
	ж	0,3	0,094	0,6	<0,001	0,5	0,036				
p-ГФМК	оба	0,0	0,980	0,2	0,048	0,1	0,319	0,5	<0,001		
	м	0,0	0,877	0,1	0,777	-0,1	0,675	0,4	0,011	—	—
	ж	0,2	0,355	0,3	0,271	0,3	0,141	0,5	0,006		
p-ГФУК	оба	0,4	0,001	0,3	0,005	0,3	0,009	0,4	<0,001	0,2	0,106
	м	0,4	0,013	0,1	0,766	0,4	0,019	0,4	0,014	0,0	0,882
	ж	0,4	0,036	0,6	<0,001	0,1	0,556	0,4	0,036	0,4	0,026

Примечание. Жирным шрифтом выделены наиболее значимые корреляции.

ней ФУК, ФПК и БК в сыворотке крови здорового человека примерно такое же, как в кишечнике (ФУК > ФПК > БК), хотя абсолютные значения по крайней мере в 150 раз меньше.

Исследования, выполненные на чистых культурах бактерий, указывают, что *in vitro* ФМК и p-ГФМК в значительном количестве продуцируются монокультурами анаэробных и факультативно-анаэробных бактерий, входящих в состав микробиоты кишечника [5, 17]. В норме в естественной экосистеме кишечника соединения, содержащие гидроксильную группу в фрагменте молочной кислоты (ФМК и p-ГФМК), представляют собой питательный субстрат для строгих анаэробов. Поэтому они подвергаются дальнейшей биотрансформации до ФУК и ФПК. Это подтверждается данными Кнуст с соавт. [15], согласно которым уровень p-ГФМК в толстой кишке в десятки и сотни раз меньше уровня трех доминирующих ФКК (БК, ФУК, ФПК). Уровень фенольных соединений в дистальных отделах кишечника в 4,4 раза выше, чем в проксимальном (6,2 и 1,4 ммоль/кг соответственно), при этом в толстой кишке преобладали бактерии, продуцирующие ФУК, ФПК и фенол [24]. ФМК не обнаружена в супернатанте при инкубации *in vitro* исследуемого образца фекалий, т.е. при культивировании кишечных бактерий в составе естественного биоценоза [24].

В клиническом исследовании в крови здоровых людей не происходило повышения ФМК даже после искусственной нагрузки фенилаланином в интервале 0,5–4 ч, что подтверждает происходящий в норме активный процесс биodeградации боковых функциональных групп у производных фенилаланина [25]. Убедительные доказательства микробного происхождения ФУК, БК, ФПК в крови получены в ряде гнотобиологических экспериментов. Показано, что у безмикробных животных (т.е. в условиях полного отсутствия микробиоты) уровень производных фенилаланина (ФУК, БК, ФПК) в крови существенно ниже по сравнению с обычными животными [26, 27].

По всей видимости, *in vivo* конечными продуктами биотрансформации тирозина и фенилаланина кишечной микробиотой являются преимущественно ФКК, содержащие в своей структуре фрагменты уксусной или пропионовой кислот (ФУК и ФПК), и лишь небольшая доля ароматических аминокислот преобразуется в ФКК, содержащие фрагмент молочной кислоты (ФМК и p-ГФМК).

Сепсис-ассоциированные ФКК постоянно присутствуют в сыворотке крови здоровых людей, что указывает на целесообразность дальнейших исследований их физиологической роли в организме человека.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Белобородова Н.В., Оленин А.Ю., Ходакова А.С., Черневская Е.А., Хабиб О.Н. (2012) Происхождение и клиническое значение низкомолекулярных фенольных метаболитов в сыворотке крови человека, *Анестезиол. реаниматол.*, **5**, 65–72.
2. Simon, R., Wetzel, W., Winsey, K., Levenson, S.M., and Demetriou, A.A. (1987) Supplemental dietary tyrosine in sepsis and acute hemorrhagic shock, *Arch. Surg.*, **122**, 78–81.
3. Williams, R.A., Mamotte, C.D., and Burnett, J.R. (2008) Phenylketonuria: an inborn error of phenylalanine metabolism, *Clin. Biochem. Rev.*, **29**, 31–41.
4. Kitagawa, T. (2012) Hepatorenal tyrosinemia, *Proc. Jpn. Acad. Ser. B Phys. Biol. Sci.*, **88**, 192–200.
5. Белобородова Н.В., Ходакова А.С., Байрамов И.Т., Оленин А.Ю. (2009) Микробный путь образования фенилкарбоновых кислот в организме человека, *Биохимия*, **74**, 1657–1663.
6. Khodakova, A., and Beloborodova, N. (2007) Microbial metabolites in the blood of patients with sepsis, *Crit. Care*, **11** (Suppl 4), 5.
7. Белобородова Н.В., Осипов А.А., Бедова А.Ю. (2013) Биологические свойства некоторых низкомолекулярных ароматических микробных метаболитов, ассоциированных с сепсисом, *Антибиот. химиотер.*, **7–8**, 36–49.
8. Белобородова Н.В. (2012) Интеграция метаболизма человека и его микробиома при критических состояниях, *Общ. реаниматол.*, **4**, 42–54.
9. Cueva, C., Moreno-Arribas, M.V., Martin-Alvarez, P.J., Bills, G., Vicente, M.F., Basilio, A., Rivas, C.L., Requena, T., Rodriguez, J.M., and Bartolome, B. (2010) Antimicrobial activity of phenolic acids against commensal, probiotic and pathogenic bacteria, *Res. Microbiol.*, **161**, 372–382.
10. Dieuleveux, V., Lemarinier, S., and Gueguen, M. (1998) Antimicrobial spectrum and target site of D-3-phenyllactic acid, *Int. J. Food Microbiol.*, **40**, 177–183.
11. Fedotcheva, N.I., Kazakov, R.E., Kondrashova, M.N., and Beloborodova, N.V. (2008) Toxic effects of microbial phenolic acids on the functions of mitochondria, *Toxicol. Lett.*, **180**, 182–188.
12. Beloborodova, N., Bairamov, I., Olenin, A., Shubina, V., Teplova, V., and Fedotcheva, N. (2012) Effect of phenolic acids of microbial origin on production of reactive oxygen species in mitochondria and neutrophils, *J. Biomed. Sci.*, **19**, 89.
13. Schmidt, S., Westhoff, T.H., Krauser, P., Zidek, W., and van der Giet, M. (2008) The uraemic toxin phenylacetic acid increases the formation of reactive oxygen species in vascular smooth muscle cells, *Nephrol. Dial. Transplant.*, **23**, 65–71.
14. Jenner, A.M., Rafter, J., and Halliwell, B. (2005) Human fecal water content of phenolics: the extent of colonic exposure to aromatic compounds, *Free Radic Biol. Med.*, **38**, 763–772.
15. Knust, U., Erben, G., Spiegelhalder, B., Bartsch, H., and Owen, R.W. (2006) Identification and quantitation of phenolic compounds in faecal matrix by capillary gas chromatography and nano-electrospray mass spectrometry, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **20**, 3119–3129.
16. Sarshor, Y.N., Beloborodova, N.V., Bedova, A.Y., Osipov, A.A., Chervenetskaya, E.A., and Getsina, M.L. (2013) New criteria of bacterial load in critically ill patients, *Shock*, **40**(Suppl 1), 31.
17. Beloborodova, N.V., Bairamov, I.T., Olenin, A.Y., Khabib, O.N., and Fedotcheva, N.I. (2013) Anaerobic microorganisms from human microbiota produce species-specific exometabolites important in health and disease, *Global J. Pathol. Microbiol.*, **1**, 43–53.
18. Мороз В.В., Белобородова Н.В., Бедова А.Ю., Ревельский А.И., Гецина М.Л., Осипов А.А., Саршор Ю.Н., Бучинская А.А., Оленин А.Ю. (2015) Разработка и адаптация к условиям клинической лаборатории методик газохроматографического определения фенилкарбоновых кислот в сыворотке крови, *Журн. аналит. хим.*, **1**, in press.
19. Наследов А. (2013) *IBM SPSS Statistics 20 и AMOS: профессиональный статистический анализ данных*, Питер, СПб.
20. Ланг Т.А., Сесик М. (2011) Как описывать статистику в медицине (пер. с англ. под ред. В.П. Леонова), Практическая медицина, Москва.
21. Vente, J.P., von Meyenfeldt, M.F., van Eijk, H.M., van Berlo, C.L., Gouma, D.J., van der Linden, C.J., and Soeters, P.B. (1989) Plasma-amino acid profiles in sepsis and stress, *Ann. Surg.*, **209**, 57–62.
22. Jeevanandam, M., Young, D.H., Ramias, L., and Schiller, W.R. (1990) Effect of major trauma on plasma free amino acid concentrations in geriatric patients, *Am. J. Clin. Nutr.*, **51**, 1040–1045.
23. Askanazi, J., Carpentier, Y.A., Michelsen, C.B., Elwyn, D.H., Furst, P., Kantrowitz, L.R., Gump, F.E., and Kinney, J.M. (1980) Muscle and plasma amino acids following injury: influence of intercurrent infection, *Ann. Surg.*, **192**, 78–85.
24. Smith, E.A., and Macfarlane, G.T. (1996) Enumeration of human colonic bacteria producing phenolic and indolic compounds: effects of pH, carbohydrate availability and retention time on dissimilatory aromatic amino acid metabolism, *J. Appl. Bacteriol.*, **81**, 288–302.
25. Jones, M.R., Kopple, J.D., and Swendseid, M.E. (1978) Phenylalanine metabolism in uremic and normal man, *Kidney Int.*, **14**, 169–179.
26. Griffiths, L.A., and Barrow, A. (1972) Metabolism of flavonoid compounds in germ-free rats, *Biochem. J.*, **130**, 1161–1162.
27. Wikoff, W.R., Anfora, A.T., Liu, J., Schultz, P.G., Lesley, S.A., Peters, E.C., and Siuzdak, G. (2009) Metabolomics analysis reveals large effects of gut microflora on mammalian blood metabolites, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **106**, 3698–3703.

**NORMAL LEVEL OF SEPSIS-ASSOCIATED
PHENYL CARBOXYLIC ACIDS IN HUMAN SERUM**

**N. V. Beloborodova^{1*}, V. V. Moroz¹, A. A. Osipov^{1,2},
A. Yu. Bedova¹, A. Yu. Olenin¹, M. L. Getsina¹,
O. V. Karpova², E. G. Olenina³**

¹ V. A. Negovsky Research Institute of General Reanimatology,
ul. Petrovka 25, str. 2, Moscow 107031, Russia; fax: +7(495)694-2708;
E-mail: nvbeloborodova@yandex.ru

² Dmitry Rogachev Federal Scientific Clinical Center of Pediatric
Hematology, Oncology, and Immunology, Ministry of Health
of Russian Federation, ul. Samory Mashela 1,
Moscow 117198, Russia; fax: +7(495)664-7090

³ All-Russian Research Institute of Metrological Service,
ul. Ozernaya 46, Moscow 119361, Russia; fax: +7(495)437-5666,
E-mail: olenina@vniims.ru

Received November 10, 2014

Revision received December 8, 2014

Previous studies showed that a large amount of phenylcarboxylic acids (PhCAs) is accumulated in the blood of septic patients due to enhanced endogenous and microbial phenylalanine and tyrosine biotransformation. Frequently, biochemical aromatic amino acid transformation into PhCAs is considered functionally insignificant for people without monogenetic hereditary diseases. The blood of healthy people contains the same PhCAs that are typical for septic patients, as shown in this paper. The overall serum PhCA level was 6 mM on average, which was measured by gas chromatography with flame ionization detection. This level is a stable biochemical parameter indicating the normal metabolism of aromatic amino acids. The PhCA concentrations in healthy people's metabolic profile are distributed as follows: *p*-phenylacetic ~ *p*-phenyllactic > *p*-hydroxyphenylacetic > phenyllactic ~ phenylpropionic > benzoic. We believe maintaining of stable PhCA level in serum is provided by integration of human endogenous metabolic pathways and microbiota.

Key words: tyrosine metabolism, sepsis, phenylcarboxylic acids, phenyllactic acid, *p*-hydroxyphenyllactic acid, phenylpropionic acid, benzoic acid, microbiota