

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ ПЕРВЫЙ МОСКОВСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ
И.М. СЕЧЕНОВА МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ (СЕЧЕНОВСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ)

На правах рукописи



Кривова Анастасия Викторовна

**Метаболическое профилирование у пациентов с артериальной гипертензией
и хронической сердечной недостаточностью**

3.1.20. Кардиология

Диссертация

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор, академик РАН

Беленков Юрий Никитич

Москва – 2023

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	5
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	14
1.1. Введение	14
1.1.1. Эпидемиология хронической сердечной недостаточности	14
1.1.2. Патогенез хронической сердечной недостаточности	14
1.2. Особенности метаболизма при хронической сердечной недостаточности	19
1.2.1. Общие пути метаболизма	19
1.2.2. Особенности метаболизма жирных кислот при хронической сердечной недостаточности	23
1.2.3. Особенности метаболизма глюкозы при хронической сердечной недостаточности	26
1.2.4. Особенности метаболизма аминокислот при хронической сердечной недостаточности	28
1.2.5. Заключение	40
1.3. Метаболомное профилирование	41
1.3.1. Подходы к метаболомному анализу	42
1.3.2. Аналитические платформы для проведения метаболомного анализа	42
1.4. Метаболомное профилирование плазмы крови при хронической сердечной недостаточности	43
1.5. Заключение	47
Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	48
2.1. Общий протокол клинического исследования, дизайн исследования	48
2.2. Характеристика участников исследования	57
2.3. Лабораторно-инструментальные методы обследования	66

2.4. Инструментальная характеристика пациентов основной группы и группы сравнения.....	69
2.5. Исследование метаболомного профиля.....	77
2.5.1. Забор крови и пробоподготовка для последующего определения метаболитов.....	77
2.5.2. Целевое метаболомное профилирование.....	77
2.6. Методы статистической обработки.....	78
Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННОГО ИССЛЕДОВАНИЯ.....	80
3.1. Оценка целевого метаболомного профиля.....	80
3.2. Взаимосвязь маркеров нарушенного окисления жирных кислот - ацилкарнитинов с клиническими и лабораторно-инструментальными данными в группе пациентов с хронической сердечной недостаточностью.....	99
3.3. Взаимосвязь измененного профиля аминокислот с клиническими и лабораторно-инструментальными данными в группе пациентов с хронической сердечной недостаточностью.....	101
3.4. Взаимосвязь маркеров воспаления – метаболитов катаболизма триптофана с клиническими и лабораторно-инструментальными данными в группе пациентов с хронической сердечной недостаточностью.....	102
3.5. Взаимосвязь маркеров эндотелиальной дисфункции – метаболитов обмена азота с клиническими и лабораторно-инструментальными данными в группе пациентов с хронической сердечной недостаточностью.....	104
3.6. Взаимосвязь нейромедиаторов ацетилхолина и гамма-аминомасляной кислоты и производных птерина с клиническими и лабораторно-инструментальными данными в группе пациентов с хронической сердечной недостаточностью.....	108
3.7. Заключение по главе результаты.....	109

Глава 4. ОБСУЖДЕНИЕ	110
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	120
ВЫВОДЫ	123
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	125
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ	126
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	133

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Артериальная гипертензия (АГ) является самым распространенным сердечно-сосудистым заболеванием (ССЗ), а также способствует возникновению тяжелых сердечно-сосудистых осложнений - острого нарушения мозгового кровообращения (ОНМК), инфаркта миокарда (ИМ), сердечной недостаточности. Распространенность АГ среди населения Российской Федерации (РФ) составляет 43,3% на 2017 год [1]. По данным исследования ЭПОХА, распространенность АГ в РФ неуклонно растет (за 19 лет с 1998 по 2017 гг. увеличилась на 7,8%) [1]. Эпидемиологические исследования демонстрируют, что только около 70% людей, страдающих АГ, осведомлены о наличии у них данного заболевания, при этом лечением охвачены менее половины мужчин и около 60% женщин, а целевые уровни цифр артериального давления (АД) достигнуты у 1/6 мужчин и 1/3 женщин, страдающих АГ [2]. В связи с высокой распространенностью и недостаточностью контроля АД, АГ в популяции РФ остается наиболее частой причиной развития хронической сердечной недостаточности (ХСН) [3]. По данным исследования ЭПОХА-ХСН распространённость сердечной недостаточности (СН) за последние 20 лет увеличилась более чем в 2 раза и диагностируется в европейской части РФ в 7-10% случаев [1, 4]. Кроме того, нельзя не отметить и изменение соотношения фенотипов СН в виде увеличения числа пациентов с СН с сохраненной фракцией выброса (СНсФВ), на долю которых приходится более половины случаев СН в популяции [4]. В свою очередь, это потребовало переосмысления главенствующей роли систолической дисфункции в структуре патогенеза СН и способствовало дальнейшему поиску других патогенетических механизмов развития СН. Возникающие, вследствие длительного течения АГ, изменения структуры и функции миокарда в виде гипертрофии миокарда, фиброза и диастолической дисфункции, а также смещение нейрогуморального равновесия, являются важной

составляющей патогенеза СНсФВ. Фенотип СН с умеренно сниженной фракцией выброса (СНусФВ), так называемая «серая зона», достаточно гетерогенен, однако пациенты с фракцией выброса (ФВ) не менее 45% по течению наиболее близки к СНсФВ, чем к СН со сниженной фракцией выброса (СНнФВ) и также требуют углубленного изучения [5]. Выделение данных фенотипов повлияло и на критерии диагностики, которые помимо наличия симптомов и признаков СН, структурных и/или функциональных изменений миокарда, стали включать определение биомаркеров семейств натрийуретических пептидов. В настоящий момент в клинические рекомендации в качестве биомаркера сердечной недостаточности включены - мозговой натрийуретический пептид (BNP) и N-терминальный промозговой натрийуретический пептид (NT-proBNP), последний показывает свою высокую чувствительность при СНнФВ, однако в случае сердечной недостаточности с сохраненной фракцией выброса (СНсФВ) нормальный уровень BNP или NT-proBNP не исключает наличие заболевания [6,7]. Следовательно, несмотря на наличие различных диагностических методик, верификация диагноза ХСН бывает затруднена, особенно у пациентов СНсФВ и СНусФВ. Трудности диагностики СНсФВ, а также отсутствие специфических методов лечения, наиболее вероятно связаны с неполным пониманием патофизиологических механизмов, вызывающих СНсФВ. Логичным представляется, что лежащие в основе развития СН гипертрофия миокарда, фиброз, диастолическая дисфункция, низкоуровневое системное воспаление, эндотелиальная дисфункция сопровождаются нарушением путей метаболизма жирных кислот, глюкозы, аминокислот. Поэтому совокупность продуктов обмена веществ в биологической жидкости (метаболомный профиль), которая отражает изменения, происходящие в клетке, функционирующей в атипичных условиях, можно рассмотреть в качестве возможного специфического маркера ХСН. Исследования показывают, что метаболомный профиль плазмы изменяется при различных заболеваниях. Таким образом изучение изменения метаболомного профиля может представлять собой перспективное направление для дальнейшего использования в качестве

биомаркеров ХСН и определения новых точек приложения в терапии этой категории пациентов.

Степень разработанности темы исследования

В настоящее время активно исследуются изменения метаболизма при ССЗ, и большой интерес представляет изучение метаболомного профиля при ХСН, которая является закономерным исходом всех ССЗ. В международных базах данных представлены исследования по оценке метаболомного профиля у пациентов с ХСН [8,9,10]. Однако интерпретация данных представляется затруднительной в виду разнородности по фенотипам, этиологическому принципу и сопутствующей патологии исследуемых пациентов с ХСН по этиологическому фактору [8,9,10,11,12,13,14]. Имеются единичные работы по оценке метаболомного профиля у пациентов ИБС или кардиомиопатиями (КМП) [11,12,13,14]. С другой стороны, работ по метаболомному профилированию СН, осложнившей течение АГ нет, а данных по пациентам с СНсФВ и СНусФВ недостаточно.

Цель исследования

Проанализировать метаболомный профиль плазмы крови у пациентов с хронической сердечной недостаточностью, осложнившей течение артериальной гипертензии.

Задачи исследования

- 1) Провести сравнительный анализ метаболомного профиля здоровых добровольцев, пациентов с артериальной гипертензией и пациентов с хронической сердечной недостаточностью, осложнившей течение артериальной гипертензии с помощью целевого метаболомного анализа;

- 2) Изучить связь уровней циркулирующих метаболитов с особенностями клинического течения заболевания у пациентов с хронической сердечной недостаточностью, осложнившей течение артериальной гипертензии;
- 3) Определить связь параметров ремоделирования миокарда с уровнем циркулирующих метаболитов у пациентов с хронической сердечной недостаточностью, осложнившей течение артериальной гипертензии;
- 4) Выявить биомаркеры, специфичные для пациентов с хронической сердечной недостаточностью с сохраненной и умеренно сниженной фракцией выброса, осложнившей течение артериальной гипертензии, на основании метаболомного анализа.

Научная новизна

В данной научно-исследовательской работе впервые проводилось изучение метаболомного профиля пациентов с ХСН, осложнившей течение АГ с сохраненной и умеренно сниженной ФВ. Впервые проведен сравнительный анализ метаболомных профилей пациентов с АГ и пациентов с ХСН, осложнившей течение АГ с сохраненной и умеренно сниженной ФВ. В исследовании выявлено статистически значимое изменение метаболизма жирных кислот, аминокислот, метаболитов азотистого обмена, метаболитов кинуренинового и серотонинового путей катаболизма триптофана. В соответствии с полученными данными можно рассмотреть панель из полученных метаболитов в качестве биомаркеров СНсФВ и СНусФВ. Аналоги выполненной работы в современной литературе не встречаются.

Теоретическая и практическая значимость работы

Теоретическая значимость исследования заключается в более глубоком понимании патофизиологических механизмов ХСН. В проведенном исследовании получены результаты метаболомного профиля пациентов с ХСН, осложнившей

течение АГ. Выделен ряд циркулирующих метаболитов, изменение уровня которых ассоциировано с наличием СНсФВ и СНусФВ, осложнившей течение АГ, которые могут быть в сокоупности рассмотрены в качестве потенциальных биомаркеров и целей для персонализированного подхода в лекарственной терапии.

Методология и методы исследования

Представленное диссертационное исследование основано на достижениях отечественной и зарубежной медицинской науки, а именно достижениях в сфере изучения как сердечно-сосудистых заболеваний в своем многообразии, так и непосредственно имеющей отношение к теме диссертации. Для оценки степени изученности темы и актуальности проблемы поиска маркеров ранней диагностики ХСН был выполнен критический обзор не только фундаментальных исследований, но и работ, направленных на изучение эпидемиологической ситуации в России и за рубежом. Прделанные на данном этапе научный поиск и аналитическая работа позволили сформулировать основную научную проблему, оценить современное состояние исследуемой проблемы, обозначить контуры будущего исследования, детально разработать его дизайн с учетом требований законодательных и нормативных актов РФ в сфере защиты прав пациента.

Для достижения цели исследования и решения поставленных задач в качестве методологической основы диссертационного исследования выступили наблюдение с последующей фиксацией фактического материала, его количественное и качественное описание, систематизация полученных данных. Статистическая обработка полученных данных проводилась при помощи программы Statistica 10.0 (StatSoft Inc., США) и StatTech v. 3.0.5 (разработчик - ООО "Статтех", Россия). Комплексное использование данных методов позволило обеспечить репрезентативность выборки и надежность результатов исследования. После проведения статистической обработки клинико-лабораторных данных полученные результаты были подвергнуты процессам обобщения и объяснения.

Анализ, синтез, классификация полученных статистических данных позволили достичь поставленной цели и приблизиться к решению научной проблемы.

Личный вклад

Личный вклад автора прослеживается на всех этапах исследования и заключается в самостоятельном определении целей и задач исследования; поиске источников информации; обзоре и анализе отечественной и зарубежной литературы; выборе объекта и предмета исследования; наборе, клиническом и дополнительном обследовании всех 107 участников исследования; составлении компьютерной базы данных обследованных пациентов с ХСН, осложнившей течение АГ, пациентов с АГ и здоровых добровольцев; статистической обработке, обобщение и анализе полученных результатов; формулировке практических рекомендаций и выводов научно-квалификационной работы; обсуждение результатов исследования в научных публикациях и докладах и их внедрении в практику.

Внедрение результатов в практику

Результаты диссертационного исследования внедрены в лечебно-диагностический процесс кардиологического отделения №1 Университетской клинической больницы №1 и в образовательный процесс кафедры госпитальной терапии №1 Института клинической медицины имени Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

Положения, выносимые на защиту

1. Для метаболомного профиля пациентов с хронической сердечной недостаточностью, осложнившей течение артериальной гипертензии характерно

снижение концентраций в плазме крови трех аминокислот: треонина, аргинина, гистидина и нейромедиатора ацетилхолина; повышение концентраций пяти метаболитов путей катаболизма триптофана: кинуренина, 3-гидроксикинуренина, 3-гидроксиантраиловой и антраиловой кислоты, 5-гидроксииндолуксусной кислоты и соотношения кинуренин/триптофан), трех метаболитов азотистого обмена: асимметричного диметиларгинина, симметричного диметиларгинина, триметиламинооксида и снижение соотношения аргинин/асимметричный диметиларгинин и индекса общей биодоступности аргинина, повышение двух производных птеринов – биоптерина и неоптерина и нейромедиатора гамма-аминомасляной кислоты, повышение концентрации трех длинноцепочечных ацилкарнитинов (C16:1, C18OH, C18:2), что свидетельствует о нарушении в обмене жирных кислот и аминокислот.

2. Более тяжелое клиническое течение и структурно-функциональные изменения миокарда у пациентов с хронической сердечной недостаточности, осложнившей течение артериальной гипертензии ассоциированы с нарушением метаболизма жирных кислот, метаболитов обмена триптофана и метаболитов азотистого обмена.

3. Определены метаболомные биомаркеры сердечной недостаточности с сохраненной и с умеренно сниженной фракцией выброса, которые представлены длинноцепочечными ацилкарнитинами C16:1, C18OH и C18:2, метаболитом триптофанового катаболизма – антраиловой кислотой, условно-заменимой аминокислотой аргинин, а также соотношением аргинин/асимметричный диметиларгинин и индексом общей биодоступности аргинина. Суммарная панель из данных метаболитов может быть рассмотрена в качестве биомаркера сердечной недостаточности с фракцией выброса не менее 45%, осложнившей течение артериальной гипертензии.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Диссертационная работа соответствует паспорту научной специальности 3.1.20. Кардиология по поставленной цели, задачам и полученным результатам. Результаты проведенного исследования соответствуют области исследования специальности, конкретно – пункту 13 паспорта кардиологии.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность результатов диссертационного исследования подтверждается достаточным количеством наблюдений, современными методами исследования метаболомного профиля, которые соответствуют сформулированной цели и поставленным задачам. Выводы и практические рекомендации, сформулированные в диссертации, основаны на фактических данных. Статистический анализ и интерпретация полученных результатов проведены с использованием современных методов обработки информации и статистического анализа.

Основные результаты исследования доложены и обсуждены на следующих конференциях, съездах, конгрессах: Онлайн-Конгресс с международным участием «Сердечная недостаточность 2020» (г. Москва, 2020 г.), Международный образовательный форум «Российские дни сердца» (г. Санкт-Петербург 2021 г.), Национальный конгресс с международным участием «Сердечная недостаточность 2021» (г. Москва, 2021 г.), Heart Failure Congress (Online Congress, 2021 г.), Российский национальный конгресс кардиологов 2022 (г. Казань, 2022 г.).

Апробация работы состоялась 29 августа 2023 года на заседании кафедры госпитальной терапии №1 Института клинической медицины имени Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), протокол заседания кафедры №1 от 29 августа 2023г.

Публикации по теме диссертации

По теме диссертации автором опубликовано 8 печатных работ, в том числе 3 научные статьи отражающие основные результаты диссертации в журналах, индексируемых в международных базах Web of Science и Scopus, 5 публикации в сборниках материалов международных и всероссийских научных конференций (из них 1 зарубежных конференций).

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 153 страницах машинописного текста, состоит из введения, четырех глав, выводов, практических рекомендаций и списка использованной литературы, включающего 184 источника, среди которых 18 отечественных и 166 зарубежных. Для наглядности диссертация иллюстрирована 15 таблицами и 22 рисунками.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Введение

1.1.1. Эпидемиология хронической сердечной недостаточности

Распространённость ССЗ в мире в настоящий момент, несмотря на современные методы диагностики и лечения, продолжает расти. Конечным этапом всех ССЗ является СН, которая, согласно результатам исследования ЭПОХА, в Российской Федерации встречается приблизительно у 7-10% взрослого населения [1,4]. Следовательно, она и по сей день остается значимой проблемой современности, требующей дальнейшего изучения патогенеза и возможных точек приложения терапии.

1.1.2. Патогенез хронической сердечной недостаточности

СН представляет собой клинический синдром, при котором происходит нарушение структуры и/или функции сердца, что в свою очередь ведет к недостаточному кровоснабжению органов и тканей [6]. В последние годы представления о СН несколько изменились. Согласно клиническим рекомендациям Американской ассоциации сердца 2022г., в которых была представлена новая классификация ХСН, отражающая стадии развития и прогрессирования заболевания, ХСН в ее классическом понимании относится к С и D стадиям, тогда как наличие АГ и ремоделирования миокарда – к стадии А (факторы риска СН) и В (пре-стадия СН) [15]. Несмотря на то, что критерии СНсФВ довольно четко определены, они могут отсутствовать на ранних стадиях ХСН [16]. В настоящий момент наиболее изученной остается фенотип СНнФВ, однако около половины случаев от госпитализированных в кардиологический стационар по поводу ХСН, представлены СНсФВ, и её распространённость по отношению к другим формам СН продолжает увеличиваться [17]. Данный фенотип СН особенно распространен

у пациентов более старшей возрастной группы, в которой отмечается преобладание женщин и лиц с ожирением, и как правило в основе такой ХСН лежит нарушение диастолической функции левого желудочка (ЛЖ) [6]. В РФ одной из ведущих причин развития СНсФВ остается АГ, несмотря на существенные успехи в ее диагностике и лечении [6]. В результате перегрузки давлением, возникающей при АГ, происходит увеличение постнагрузки, при этом включаются механизмы долгосрочной адаптации (гипертрофия миокарда), однако данный компенсаторный механизм является очень энергоемким. Прогрессирование гипертрофии ведет к гибели кардиомиоцитов (КМЦ), развитию фиброза миокарда. В результате нарушается транспорт ионов кальция (Ca^{2+}), повышается потребность в кислороде, увеличивается жесткость камер сердца, что способствует нарушению энергозависимого активного расслабления левого желудочка (ЛЖ) и снижению растяжимости миофибрилл КМЦ, то есть развивается диастолическая дисфункция (ДД) [18]. ДД ЛЖ, рост конечного диастолического давления и давления в малом круге кровообращения, в свою очередь, способствуют более выраженной активации нейрогуморальных систем организма, приводящей к повышению периферического сопротивления и прогрессированию компенсаторного ремоделирования сердца и артерий. Увеличение периферического сосудистого сопротивления и неблагоприятного сердечно-сосудистого ремоделирования ухудшает сердечную недостаточность. Учитывая то, что при АГ также происходит активация нейрогуморальных систем и изменение архитектоники миокарда, формируется так называемый порочный круг патогенеза ХСН.

Активация классической циркулирующей ренин-ангиотензин-альдостероновой системы (РААС) способствует повышению АД за счет активности ангиотензина II (АнII) и альдостерона, что ведет к вазоконстрикции, нарушению электролитного баланса, увеличению объема циркулирующей крови и повышению центрального венозного давления [19]. При активации тканевой РААС происходит воздействие АнII на клетки, что способствует ремоделированию сердца и сосудов (гипертрофия, фиброз, эндотелиальная дисфункция). Система внутриклеточных РААС посредством влияния АнII на рецепторы ангиотензина II

1-го типа в митохондриях способна изменять уровень аэробного окисления и продукцию аденозинтрифосфата (АТФ) как через регуляцию кальциевого обмена, так и с помощью прямого двунаправленного воздействия на ферментативные комплексы дыхательной цепи.

Вклад гиперактивации симпато-адреналовой системы (САС) в патогенез ССЗ осуществляется через выделение катехоламинов и их взаимодействие с адренорецепторами миокарда, которые вызывают активацию рецепторов, являющихся представителями семейства мембранно-связанных гетеротримерных G-белков. Внутриклеточная сигнализация указанного рецептора осуществляется при участии фермента аденилатциклазы, активация которого приводит к превращению АТЦ в циклический аденозинмонофосфат (цАМФ). При увеличении плазменной концентрации цАМФ повышается активность цАМФ-зависимой протеинкиназы, способной изменять конформацию белков, регулирующих проницаемость мембран для ионов кальция [20]. Активация описанного каскада приводит к увеличению продолжительности потенциала действия кардиомиоцита за счет фазы «плато» из-за возрастающего медленного кальциевого тока [20]. Совокупность описанных процессов приводит к повышению сократимости миокарда и возрастанию потребности в кислороде. Хроническая стимуляция β -адренорецепторов обеспечивается киназами рецепторов, связанных с G-белками и вместе с повышением уровня цАМФ приводит к развитию патологического варианта гипертрофии.

Помимо вышеперечисленно известно и о вкладе в развитие СН системы натрийуретических пептидов, которая по своему действию антагонична активности РААС и САС [21]. Натрийуретические пептиды (НУП), синтезирующиеся в кардиомиоцитах состоят из аминокислотных остатков. При хроническом растяжении миокарда предсердий и желудочков избыточным объемом или давлением крови происходит расщепление предшественника мозгового натрийуретического пептида (proBNP) на активный BNP и N-терминальный фрагмент мозгового натрийуретического пептида (NT-proBNP) и их выход в кровоток. Эффекты НУП реализуются посредством взаимодействия с

рецепторами, которые обеспечивают действие пептида через сигнальный путь «оксид азота - растворимая гуанилатциклаза - циклический гуанозинмонофосфат» [22]. При повышении уровня растворимой гуанилатциклазы в гладкомышечных клетках сосудов, реализуется связывание с ним оксида азота (NO), которое приводит к его превращению в циклический гуанозинмонофосфат (цГМФ). цГМФ, являясь вторичным мессенджером, опосредуют различные тканевые защитные физиологические эффекты, такие как снижение внутриклеточной концентрации Ca^{2+} и расслабление гладких мышц сосудов, подавление их пролиферации и развитие NO-зависимой вазодилатации, противовоспалительное действие, контроль миграции лейкоцитов и функции тромбоцитов, а также участвуют в перераспределении жидкости из внутрисосудистого во внесосудистый сектор путем воздействия через цГМФ-зависимыми протеинкиназы, цГМФ-регулируемые ионные каналы и фосфодиэстеразы на проницаемость капиллярной стенки [22,23,24]. Все это в свою очередь приводит к уменьшению преднагрузки сердца. Кроме этого, цГМФ через протеинкиназу G положительно воздействует на КМЦ, способствуя снижению чувствительности миофибрилл к Ca^{2+} , снижению входящего тока Ca^{2+} , уменьшению степени жесткости миокарда, замедлению прогрессирования гипертрофии и фиброза. Однако под влиянием длительно повышенных в плазме концентраций НУП в дальнейшем может развиваться десенситизация цГМФ-зависимых рецепторов, что способствует снижению биологических эффектов НУП и прогрессированию ремоделирования миокарда. Несомненно, процессы ремоделирования и нейрогуморальная концепция занимают центральное место в современном понимании патофизиологии СН, однако нельзя не отметить вклад системного субклинического воспаления. Возникающие дисбаланс регулирующих систем и дисфункция эндотелия при АГ и СН способствуют поддержанию в организме хронического низкоинтенсивного провоспалительного статуса, опосредованного провоспалительными цитокинами (интерлейкин-1,2,6,8, фактор некроза опухоли- α , интерферон- γ), которые продуцируются эндотелиоцитами и КМЦ [25]. Поддержание хронического системного воспаления сопровождается уменьшением внутриклеточного кальция,

активацией реактивных форм кислорода, нарушением синтеза NO, повышением жесткости миокарда и его гипертрофией и приводит к структурным изменениям миокарда и сосудов (не только к эндотелиальной дисфункции, гипертрофии кардиомиоцитов и фиброзу, но также к отложению конечных продуктов гликирования в миокарде), к увеличению жесткости кардиомиоцитов и как следствие, к прогрессирующему развитию диастолической дисфункции [25]. Все вышеперечисленные концепции развития СН, несомненно, способствуют пониманию процессов, происходящих при развитии и прогрессировании СН, однако не в полной мере отражают потенциально обратимые изменения, возникающие на ранних стадиях.

Современные диагностические критерии СНсФВ и СНусФВ, основанные на вышеизложенных концепциях, в настоящее время включает в себя только лабораторное определение уровней НУП и определение структурных изменений миокарда (гипертрофии ЛЖ, дилатации левого предсердия, наличие диастолической дисфункции). Однако уровень НУП практически у каждого 5 пациента с СНсФВ остается в пределах референсных значений, что затрудняет диагностику заболевания. Все это подводит нас к необходимости поиска новых и по возможности более ранних биомаркеров СН. Учитывая то, что миокард сердца один из наиболее энергоемких органов, он очень чувствителен к влиянию метаболических изменений. Поэтому метаболическая дезадаптация и нарушения системного метаболизма в рамках таких состояний, как сахарный диабет (СД), ожирение, дислипидемия, имеют важное значение в развитии ССЗ с последующим появлением СН. Поэтому изменение метаболомного профиля при ХСН представляет особый интерес, но остается малоизученным в мире.

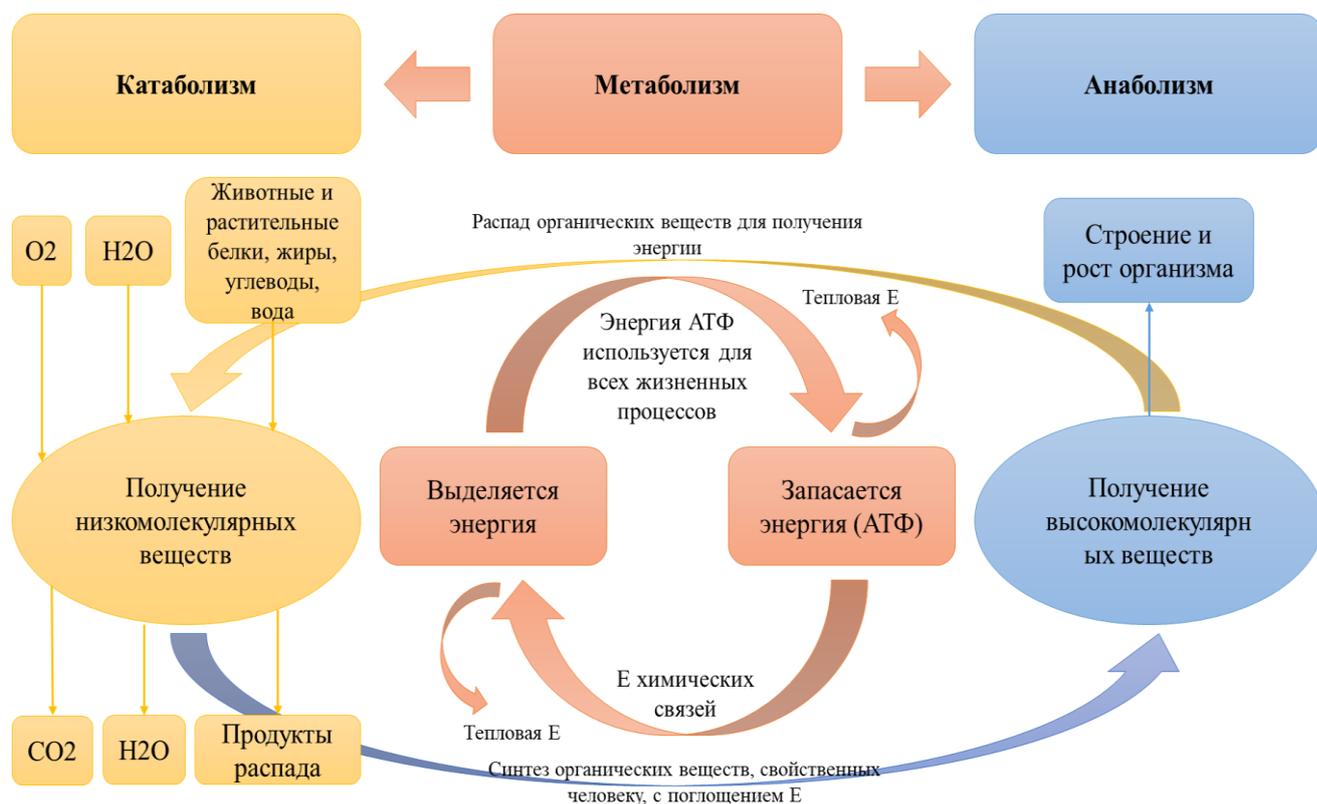
1.2. Особенности метаболизма при хронической сердечной недостаточности

1.2.1. Общие пути метаболизма

Изучение ключевых изменений в метаболизме при различных заболеваниях сердечно-сосудистой системы, способствует лучшему пониманию патофизиологических механизмов, происходящих на всех этапах развития данных патологий. Метаболизм (или обмен веществ) представляет собой совокупность, протекающих в организме, химических реакций. Метаболический путь – это совокупность взаимосвязано протекающих химических реакций последовательного превращения одного вещества в другое. Компонентами метаболического пути являются не только субстрат и продукт, но и весь набор побочных метаболитов и необходимых для реакций ферментов и кофакторов. Метаболитом называют промежуточные или конечные продукты обмена веществ или любое низкомолекулярное соединение менее 1,5 кДа.

Существует два типа метаболических путей, которые в норме протекают скоординировано и находятся в равновесии (рисунок 1). Катаболизм (энергетический обмен или диссимиляция) представляет собой совокупность химических реакций, таких как расщепления жиров, белков, углеводов, нуклеиновых кислот до простых веществ с образованием ключевых химических соединений (пируват, ацетил-кофермента А (ацетил-КоА) и т.д.), подвергающихся окислению в цикле Кребса и приводящих к образованию молекул аденозинтрифосфорной кислоты или АТФ, которая является универсальным источником энергии. С другой стороны, в процессе анаболизма (пластический обмен или ассимиляция), используя энергию связей АТФ, происходит синтез сложных веществ (белков, углеводов и жиров).

Оптимальное функционирование кардиомиоцитов (КМЦ) неразрывно связано с проходящими в них процессами метаболизма. Учитывая высокие метаболические потребности КМЦ, оно способно потреблять жирные кислоты (ЖК), глюкозу, кетоновые тела и аминокислоты для пополнения запасов АТФ [26].



АТФ - аденозинтрифосфорная кислота, Е-энергия, CO₂- углекислый газ, O₂-кислород, H₂O – вода.

Рисунок 1 – Общая схема метаболизма

Однако при нормальных физиологических условиях основным поставщиками энергии для миокарда являются жирные кислоты (70-90%) и глюкоза (10-30%). Следует также отметить наличие метаболической гибкости, при которой сердце способно переключаться с одного субстрата на другой в зависимости от энергетических потребностей организма, доступности субстрата [27]. В раннюю стадию развития ХСН изменение равновесия клеточного метаболизма в виде перенасыщения микронутриентами, приводит к дисбалансу между доступностью и использованием субстрата и последующему накоплению метаболических промежуточных продуктов, ведет к метаболическому перепрограммированию клеток [28]. При СН происходит перераспределение использования ЖК, гликолиза и нарушение основных патогенетических путей в виде нарушения синтеза аминокислот. Наблюдаемое нарушение энергообеспечения КМЦ может возникать в результате изменения всех трех

компонентов энергетического обмена сердца: используемого субстрата (нарушение захвата и утилизации энергетических субстратов), структуры и функции митохондрий (нарушение окислительного фосфорилирования и транспорта АТФ к миофибриллам) и метаболизма высокоэнергетических фосфатов (использование АТФ АТФ-азами). Вместе эти нарушения приводят к прогрессирующему истощению запаса АТФ в миокарде, что ведет к снижению активности ионных насосов (Ca^{2+} -АТФаза саркоплазматического ретикулума, Na^{+} -, K^{+} -АТФ-аза сарколеммы) и вызывает перегрузку цитозоля КМЦ ионами Ca^{2+} .

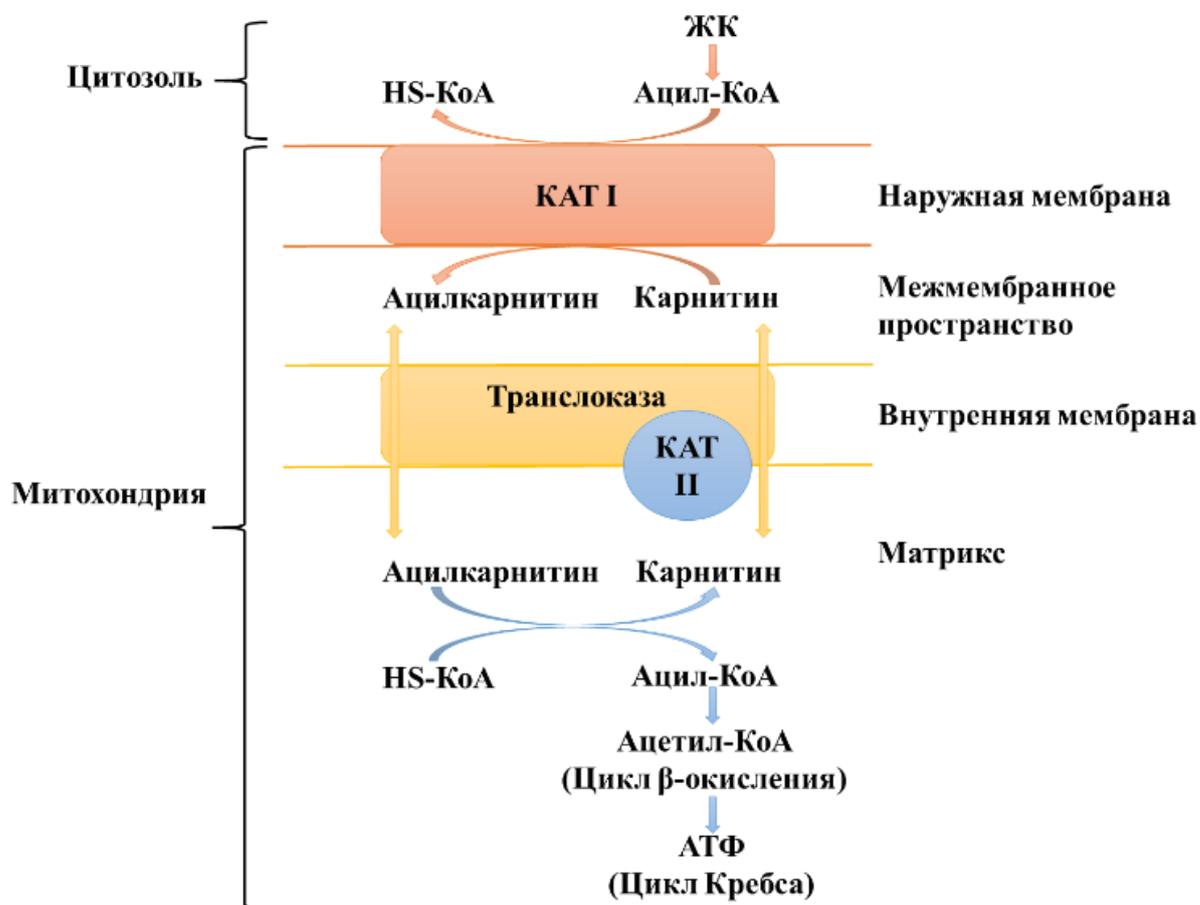
Для обеспечения реализации энергозависимых процессов в миокарде в процессе эволюции был сформирован механизм превращения энергии ковалентных внутримолекулярных связей глюкозы и жирных кислот в механическую энергию конформационных взаимодействий субъединиц актина и миозина, являющихся структурными компонентами миофибрилл. Первым этапом данного механизма является процесс утилизации низкомолекулярного субстрата с формированием одного из наиболее распространенных энергоносителей: ацетил-КоА. На промежуточном этапе происходит включение полученных ранее метаболитов в цикл Кребса. Результатом первых двух этапов является обеспечение дыхательной цепи митохондрий свободными электронами, необходимыми для фосфорилирования аденозиндифосфата (АДФ) и синтеза высокоэнергетической АТФ, которые благодаря креатинкиназной системе транспортируются и утилизируются миофибриллами. Фермент креатинфосфокиназа является ключевым участником процесса переноса энергии фосфатных связей АТФ из митохондрий в цитоплазму клетки. Первичный перенос энергии АТФ на креатин происходит под действием митохондриальной изоформы фермента и сопровождается синтезом креатинфосфа (Кф) и АДФ [29]. Затем Кф поступает из митохондрий в цитоплазму, окружающую миофибриллы, где под действием цитоплазматической изоформы КФК происходит ресинтез АТФ из АДФ и Кф, а свободный креатин подвергается обратному транспорту в митохондрии. При увеличении энергозатрат концентрация Кф в цитоплазме снижается, так как

последний расходуется для ресинтеза АТФ, при этом концентрация свободного АДФ увеличивается. Повышение внутриклеточной концентрации свободного АДФ приводит к подавлению активности большинства внутриклеточных ферментов. Описанный каскад взаимосвязанных событий, направленный на восстановление баланса энергопродукции и энергопотребления, приводит к нарушению сократительной активности миокарда [30]. Из вышеизложенного следует, что даже на фоне неизменного уровня АТФ снижение концентрации Кф и повышение цитоплазматической концентрации АДФ в кардиомиоците возникают метаболические расстройства. Нарушение процессов окислительного фосфорилирования в виде снижения активности цепи переноса электронов и АТФ-синтазы, ведет к недостаточному поступлению АТФ в КМЦ за счет снижения концентрации АТФ и ослаблению транспорта, что вызывает ухудшение сократительной активности КМЦ [31,32]. Следует отметить, что на ранних стадиях СН содержание АТФ в миокарде еще остается нормальным, тогда как концентрация общего креатина и креатинфосфата снижается вследствие угнетения деятельности белков-переносчиков молекулы креатина, а также митохондриальной и миофибриллярной КФК [33,34,35]. В результате происходит накопление свободного АДФ в миокарде, что вызывает уменьшение сократительного ресурса миокарда, проявлением которого на организменном уровне является одышка при физической нагрузке, приводящая к гипервентиляции. Учитывая то, что для оптимального образования АТФ в организме необходима эффективная работа митохондрий, доступность кислорода и основных энергетических субстратов, образующихся в результате окисления жирных кислот и гликолиза, далее будут рассмотрены основные метаболические пути образования АТФ [36].

1.2.2. Особенности метаболизма жирных кислот при хронической сердечной недостаточности

В физиологических условиях молекулы АТФ в сердце образуются главным образом в результате окисления жирных кислот (ОЖК) в митохондриях, следовательно, благодаря им поддерживаются базовые потребности сердца в энергии [36,37,38]. ОЖК происходит при достаточном присутствии кислорода и в результате одного цикла ОЖК цепь ЖК укорачивается на 2 углеродных атома с образованием одной молекулы активной уксусной кислоты - ацетил-КоА и выделением энергии как в ходе реакции β -окисления (5 АТФ), так и при "сгорании" ацетил-КоА в цикле Кребса (12 АТФ) [36]. На ранних стадиях развития СН происходит постепенное снижение использования ЖК КМЦ и сдвиг энергетического метаболизма в сторону окисления глюкозы, что было подтверждено в экспериментальных и клинических исследованиях [28,39,40]. Существует мнение о том, что это может быть связано с адаптацией миокарда в виде использования более энергоэффективных субстратов. Данные проявления метаболического нарушения наблюдаются еще до развития структурных и функциональных изменений миокарда, однако даже не смотря на попытки компенсаторного использования глюкозы в качестве источника энергии, в последствии приводит к развитию сократительной дисфункции. Снижение ОЖК в миокарде может быть связано как с подавлением экспрессии генов, кодирующих ферменты ОЖК, так и с дисфункцией митохондрий, снижением доступности кофакторов, повышенной зависимостью от альтернативных субстратов, вовлечением избытка ЖК в другие сигнальные пути и пути липотоксичности [41,42,43,44,45]. Одним из вариантов отражения нарушенного метаболизма жирных кислот при СН может служить изменение концентраций L-карнитина, а также и ацилкарнитинов, которые представляют собой эфиры карнитина и жирных кислот в организме [36]. L-карнитин, поступающий с пищей и синтезируемый в организме из аминокислот метионина и лизина (25% от дневной нормы), играет

ключевую роль в регуляции поступления свободных ЖК в митохондрии, где они подвергаются β -окислению (рисунок 2).



HS-КоА – коэнзим А, АТФ – аденозинтрифосфат, Ацетил-КоА – ацетилкофермент А, Ацил-КоА – ацил-коэнзим А, ЖК – жирные кислоты, КАТ I – карнитинацилтрансфераза I, КАТ II – карнитинацилтрансфераза II.

Рисунок 2 - Транспорт в митохондрии и окисление жирных кислот

Транспорт ацильных остатков ЖК происходит помощью карнитинацилтрансферазной системы (карнитинацилтрансфераза I и II, карнитин-ацилкарнитин транслоказа) [46]. Благодаря этой системе ацилкарнитины участвуют в регуляции энергетического обмена в митохондриях и выведении токсичных ацилкарнитинов из клеток в том случае, если поступление ацил-коэнзим А (ацил-КоА) превосходит его потребление в цикле ОЖК (например, при ожирении и сахарном диабете) или при развитии митохондриальной дисфункции, что

предупреждает накопление ацил-КоА в клетке и тормозит развитие липотоксического эффекта [47,48,49,50,51].

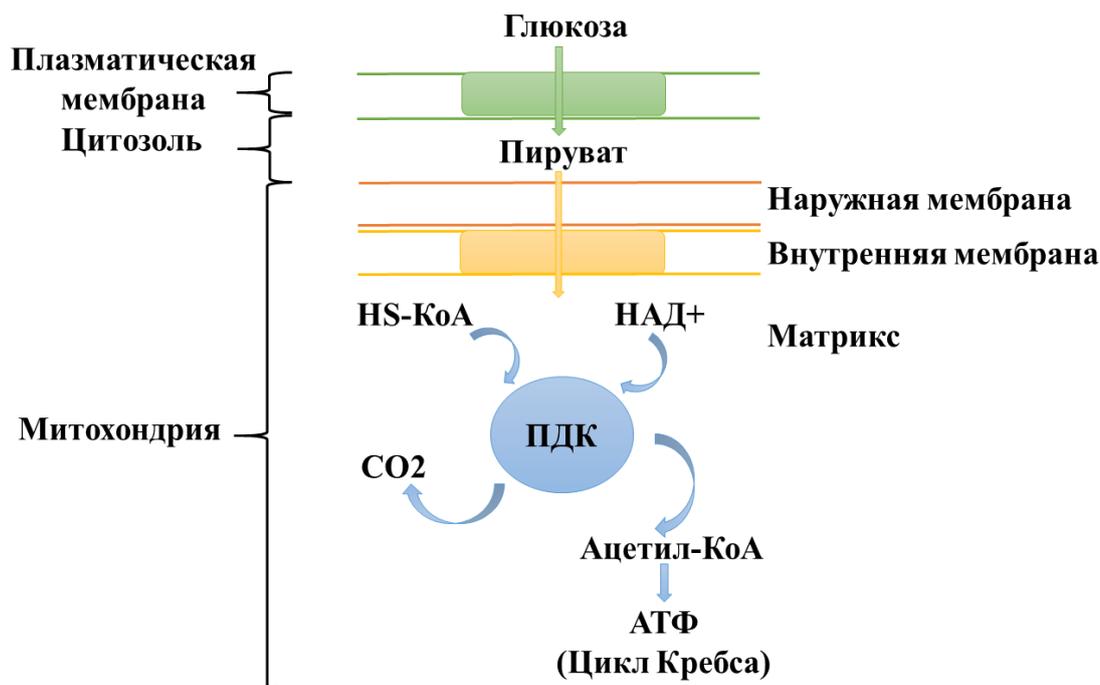
Экспериментальные исследования показали, что накопление большого количества ацилкарнитинов в клетках способствуют развитию кардиотоксичности, благодаря образованию активных форм кислорода посредством гиперполяризации митохондриальной мембраны [52,53,54]. Окислительный стресс может вызывать нарушение функции эндотелия, воспаление и пролиферацию гладкомышечных клеток интимы сосудов, что, в свою очередь, является движущей силой в развитии атеросклероза [55]. Существует мнение, что повышение уровня длинноцепочечных ацилкарнитинов может оказывать влияние на электрофизиологические и механические процессы сердца посредством электролитных нарушений и дестабилизации потенциала действия и деполяризации [56,57]. В раннее проводимых исследованиях повышенные уровни ацилкарнитинов при сравнении со здоровыми добровольцами были обнаружены в плазме у пациентов с ожирением, резистентностью к инсулину и сахарным диабетом 2 типа [58,59]. Так в исследовании Minoо Bagheri и соавторов анализировали ацилкарнитиновый профиль и выявили, что у пациентов с ожирением отмечалось повышение концентрации ацилкарнитинов C32:1 и C38:3 и снижение концентраций ацилкарнитинов C18:2, C18:1 и C18:2, в свою очередь у пациентов с метаболическим синдромом отмечалось повышение концентраций C3:0 и C16:1, и сниженная концентраций ацилкарнитинов C18:1 и C18:2 [60]. Учитывая то, что ожирение, метаболический синдром, сахарный диабет являются одними из ведущих факторов развития СН, следовательно, схожие изменения в ацилкарнитиновом профиле можно ожидать и у пациентов СН, в том числе и с СНсФВ. Так, например, повышенные уровни пальмитоилкарнитина были связаны с неблагоприятным прогнозом у пациентов с сердечной недостаточностью в исследовании Thor Ueland с соавторами [61]. В исследовании В.Н. Zordoky с соавторами были выявлены повышенные концентрации средне- и длинноцепочечных ацилкарнитинов у пациентов с СНсФВ (n=24) по сравнению спациентами СНнФВ (n=20) и со здоровой группой добровольцев (n=38) [62].

Однако следует отметить и ограничения данной работы в виде небольшой выборки и определения метаболитов с помощью ядерного магнитного резонанса (ЯМР), который больше подходит для определения белковых соединений и обладает достаточно низкой чувствительностью в отношении других соединений.

Помимо прочего, следует отметить, что при снижении доступности кислорода при СН, снижается вклад ОЖК в обеспечение миокарда энергией, происходит уменьшение концентрации ацетил-КоА, который является мощным ингибитором пируватдегидрогеназного комплекса (ПДК), что стимулирует образование ацетил-КоА за счет активации более экономного по использованию кислорода пути образования АТФ — аэробного и анаэробного гликолиза.

1.2.3. Особенности метаболизма глюкозы при хронической сердечной недостаточности

В условиях гипоксии происходит нарушение энергообеспечения КМЦ, что в свою очередь способствует активации гликолиза в цитоплазме. Пируват, полученный в результате катаболизма глюкозы, может транспортироваться в митохондрии и в дальнейшем использоваться для получения ацетил-КоА с помощью ПДК, либо оксалоацетата с помощью пируваткарбоксилазы (рисунок 3). И ацетил-КоА, и оксалоацетат входят в цикл Кребса, образуя восстановленный никотинамидадениндинуклеотид (НАДН) и флавинадениндинуклеотид (ФАДН), которые впоследствии используются цепью переноса электронов для восстановления молекулярного кислорода и создания протонного градиента, необходимого для синтеза АТФ с помощью фермента АТФ-синтазы [63]. Другой путь использования пирувата – это его восстановление в цитозоле до лактата с помощью лактатдегидрогеназы, однако данная цитозольная реакция производит меньше АТФ, чем митохондриальное окислительное фосфорилирование.



CO₂ – углекислый газ, HS-КоА – коэнзим А, АТФ – аденозинтрифосфат, Ацетил-КоА – ацетилкофермент А, НАД⁺ – Никотинамададениндинуклеотид, ПДК – пируватдегидрогеназный комплекс.

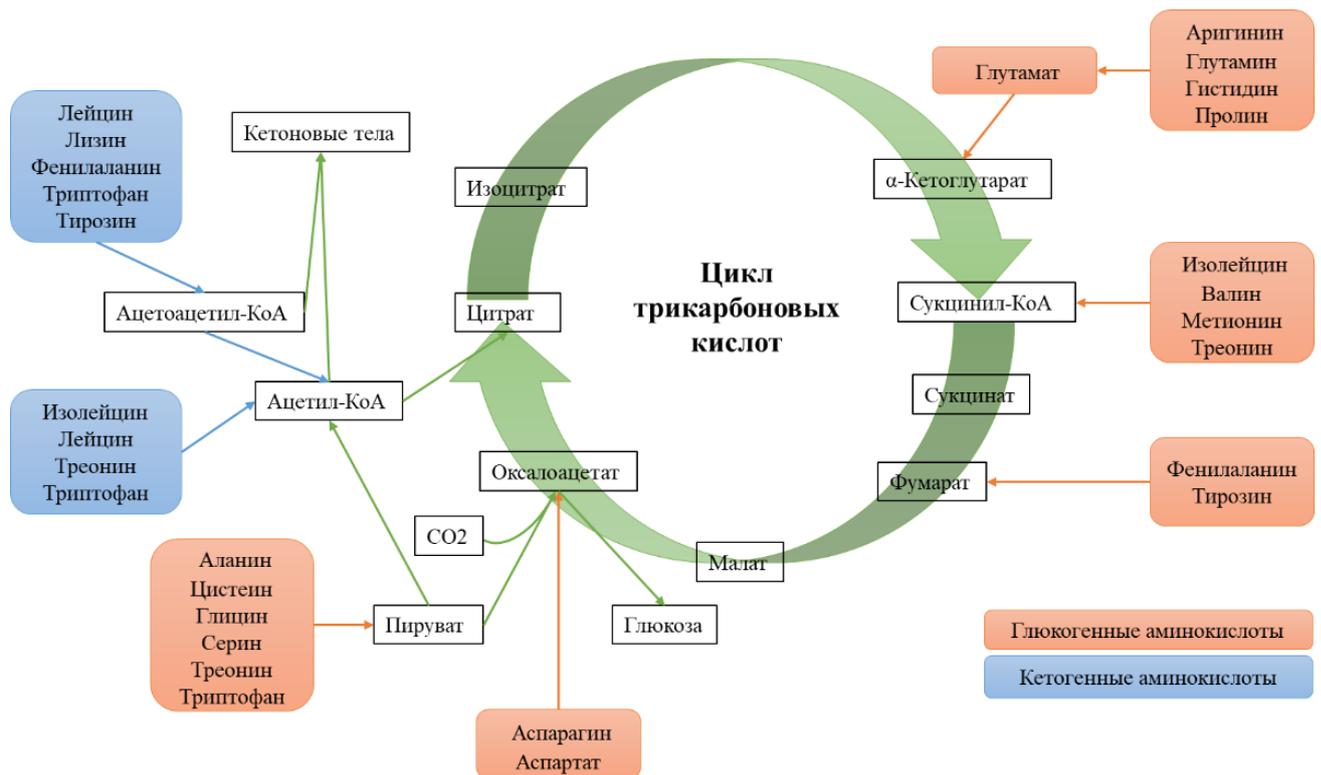
Рисунок 3 - Гликолиз

Получается, что несмотря на активацию компенсаторного механизма при СН в виде метаболического переключения в сторону повышенного поглощения глюкозы и гликолиза, миокард, как это ни парадоксально, остается с дефицитом энергии из-за преимущественного восстановления пирувата до лактата в цитозоле, то есть преобладание анаэробного пути, что является неэффективным с точки зрения производства АТФ и способствует снижению его энергетического статуса из-за усиленного перенаправления метаболитов глюкозы в сигнальные пути (например, полиоловый путь, пентозофосфатный путь) [64,65]. В свою очередь гипертрофированные КМЦ нуждаются в большем количестве энергии, соответственно дальнейшее прогрессирование ремоделирования миокарда приводит к тому, что метаболическая адаптация становится недостаточной. Следовательно, происходят еще большие нарушения в метаболизме,

которые затрагивают аминокислоты, являющиеся исходными соединениями, участвующими в глюконеогенезе.

1.2.4. Особенности метаболизма аминокислот при хронической сердечной недостаточности

Аминокислоты в меньшей степени задействованы в образовании АТФ в миокарде, по сравнению с ЖК и глюкозой. Непосредственно превращаться в глюкозы могут глюкогенные аминокислоты, которые также образуют метаболиты цикла Кребса или конвертируются в пируват и кетогенные аминокислоты из которых образуется ацетил-КоА (рисунок 4).



CO₂ – углекислый газ, КоА – коэнзим А.

Рисунок 4 – Цикл трикарбоновых кислот (цикл Кребса)

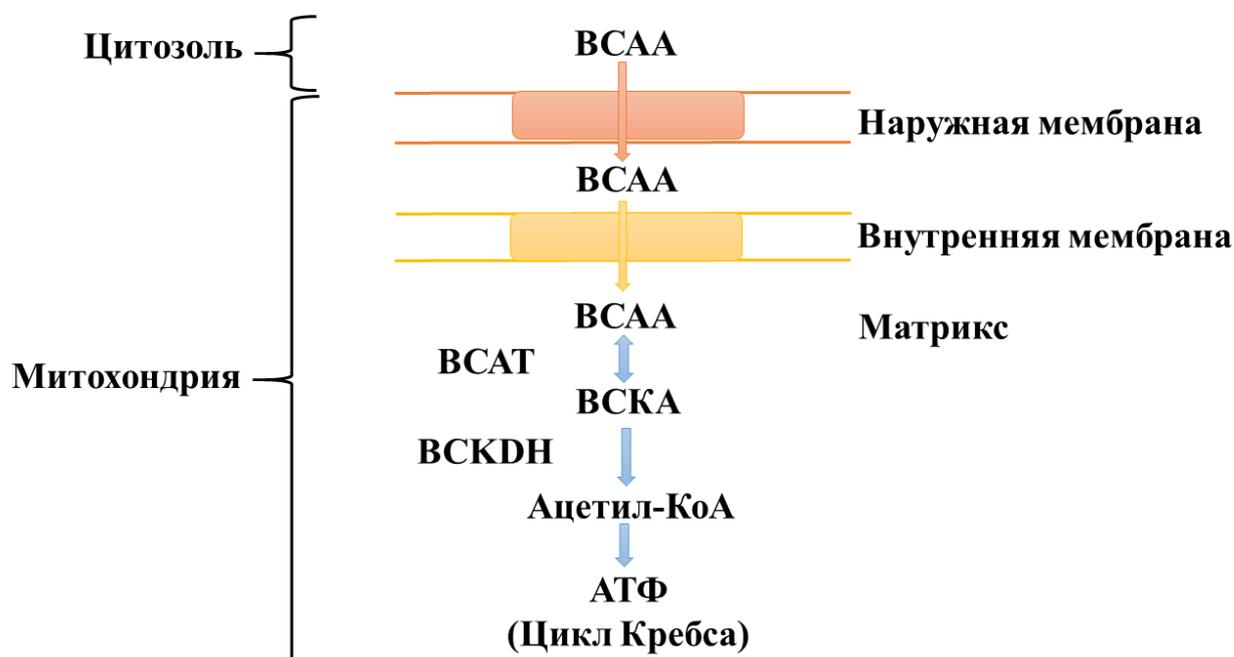
С другой стороны, аминокислоты играют не менее важную роль в его функционировании миокарда за счет участия в синтезе белка, метаболических и сигнальных молекул и кофакторов. Более того, обмен аминокислот ускоряется в ремоделированном миокарде. Возможность использования высокоэффективной жидкостной хроматографии для определения метаболитов показало, что уровни циркулирующих аминокислоты плазмы меняются при СН. Так в исследовании Nakuno D с соавторами было продемонстрировано повышение уровня серина, глицина, глутамита, аспарагина, тирозина, аланина, фенилаланина и снижение уровней гистидина, триптофана и коэффициента Фишера (валин + лейцин + изолейцин / фенилаланин + тирозин) у пациентов с ХСН с ФВ менее 45% (n=38) по сравнению с контрольной группой [66]. Кроме того, были продемонстрированы значимые корреляции аминокислот с ФВ ЛЖ (глутамит и коэффициента Фишера), диаметром нижней полой вены, средним митральным e' (коэффициента Фишера) и значением BNP (гистидин, коэффициента Фишера) [66]. Такие изменения могут быть связаны с подавлением генов, отвечающих за катаболизм АК при развитии гипертрофии миокарда и прогрессировании СН [67]. Значительный интерес вызывает метаболизм незаменимых и условно-заменимых АК, который изменяется при СН.

Особенности метаболизма незаменимых аминокислот с разветвленной цепью при хронической сердечной недостаточности

Аминокислоты с разветвленной цепью (англ. branched-chain amino acids, BCAA) представляют собой комплекс из трех незаменимых АК, которые характеризуются нелинейной структурой алифатической боковой цепи. К ним относятся валин, лейцин и изолейцин. Окисление BCAA включает ряд реакций, так первая реакция представлена обратимым трансаминированием под действием митохондриальной аминотрансферазы (англ. branched-chain amino acid aminotransferase, BCAT) с образованием альфа-кетокислот с разветвленной цепью (англ. branched-chain alpha-keto acid, BCKA) (рисунок 5). Реакцией,

ограничивающей скоростью катаболизма ВСАА является необратимое декарбоксилирование ВСКА при активации дегидрогеназы альфа-кетокислот с разветвленной цепью (англ. branched-chain α -ketoacid dehydrogenase, BCKD), которая активируется и инактивируется киназой, в результате образуются эфиры альфа-кетокислот, а затем и ацетил-КоА или сукцинил-КоА, которые принимают участие в цикле Кребса (рисунок 4). Вероятнее всего связь повышения циркулирующих и тканевых ВСАА с развитием ССЗ в большей степени опосредована нарушениями в некардиальном окислении ВСАА, так как миокард является лишь второстепенным местом окисления ВСАА [68]. Учитывая то, что метаболизм ВСАА в основном происходит в скелетных мышцах и жировой ткани и в меньшей степени в миокарде, достаточно давно изучается взаимосвязь изменения профиля ВСАА с резистентностью к инсулину, СД, ожирением и дислипидемией [69,70]. Ухудшение метаболизма ВСАА в периферических тканях ведет к увеличению циркулирующих уровней ВСАА и ВСКА, в результате происходит развитие инсулинорезистентности и гипертрофии через активацию серин/треонин-протеинкиназной мишени рапамицина млекопитающих (mTOR) и снижение фосфорилирования рецепторов к инсулину, образование супероксида с развитием оксидативного стресса за счет ухудшения активности митохондриального комплекса I с последующим развитием эндотелиальной дисфункции, накоплению в миокарде ВСАА и ВСКА с дальнейшим ингибированием транспорта и окислением глюкозы через глюкозаминилирование ПДГ, особенно выражено данные изменения наблюдаются при наличии ожирения и сахарного диабета [68,71,72,73]. Все вышеперечисленные механизмы приводят к энергетическому дефициту за счет снижения общего окислительного метаболизма, тем самым способствуя развитию и прогрессированию ССЗ. В некоторых исследованиях также предполагается, что окисление ВСАА, происходящее в тромбоцитах, ведет к активации тромбоцитарных путей и может способствовать развитию тромбоза [74]. Помимо прочего, производный метаболит валина – 2-гидроксипутират способен увеличивать трансэндотелиальный транспорт липидов,

однако в настоящий момент до конца не выявлено, способствует ли данной взаимодействию развитию атеросклероза.



BCAA - аминокислоты с разветвленной цепью, BCAT – аминотрансфераза альфа-кетокислот с разветвленной цепью, ВСКА - альфа-кетокислоты с разветвленной цепью, BCKDH – дегидрогеназа альфа-кетокислот с разветвленной цепью, АТФ – аденозинтрифосфат, Ацетил-КоА – ацетилкофермент А.

Рисунок 5 - Метаболизм ВСАА

В ряде экспериментальных исследований была продемонстрирована связь повышенного уровня ВСАА в тканях и крови с развитием и прогрессированием ССЗ [68,75,76,77,78,79]. Так, например, повышение уровня ВСКА в миокарде отмечалось при пероральном введении ВСАА у мышей с развитием сердечной дисфункции, при ремоделировании миокарда, вызванном перегрузкой давлением из-за трансаортального сужения [80]. Интересным представляется то, что при сравнении развития физической и патологической гипертрофии на мышинных моделях, изменения метаболизма ВСАА в сердце было характерно только для группы с патологической гипертрофией [81]. В клиническом исследовании Li с соавт. было продемонстрировано, что изменения в катаболизме ВСАА приводят к

заметному снижению поглощения и окисления глюкозы, содержания гликогена и гликозилированию белка и повышают уязвимость сердца для ишемического повреждения [82]. В других исследованиях повышенные уровни ВСАА были связаны с несколькими кардиометаболическими факторами риска, такими как, избыточный вес и ожирение, нарушение уровня глюкозы натощак, резистентность к инсулину, высокое АД, дислипидемия и толщина интима-медиа [83,84,85,86]. В проспективном популяционном исследовании PREVEND более высокие уровни ВСАА были ассоциированы с увеличением частоты развития АГ в течение 9 лет наблюдения, в японском клиническом исследовании и исследовании, проведенном в Иране, были продемонстрированы схожие результаты [87,88,89].

Учитывая выявленную в ряде исследований связь измененного метаболизма ВСАА с резистентностью к инсулину, сахарным диабетом (СД), ожирением и дислипидемией, а также с развитием АГ и ИБС и несомненное участие данных факторов риска и состояний с развитием СН, логично будет предположить, что повышенный уровень ВСАА связан и с развитием и прогрессированием СН, то и нашло подтверждение в следующих исследованиях. В экспериментальных исследованиях на животных моделях СН как со сниженной, так и с сохраненной ФВ, вызванной перегрузкой давлением было отмечено значимое увеличение уровней ВСАА [79,90]. В клиническом исследовании Hunter W.G. с соавторами отмечалось значимое повышение уровней ВСАА в группе СНнФВ по сравнению с СНсФВ, однако уровни ВСАА СНсФВ также были выше при сравнении с группой контроля [91]. В другом исследовании СНнФВ более, чем у 1000 исследуемых повышение уровней валина и лейцина в плазме крови были частью прогностического профиля метаболитов, который предсказывал выживаемость данных пациентов [92]. Также есть исследования касательно предсказания высокими уровнями ВСАА госпитализации и смерти пациентов с СНнФ и связи функциональных и клинических исходов СНнФВ с уровнем ВСАА [93,94,95,96]. Однако, к сожалению, основной пласт исследований представлен пациентами с СНнФВ.

Таким образом можно сделать вывод, что ВСАА играют важную роль в развитии и прогрессировании факторов риска развития СН (ожирение, дислипидемия, СД), и соответственно, их влияние при СН может быть опосредованно сопутствующей патологией.

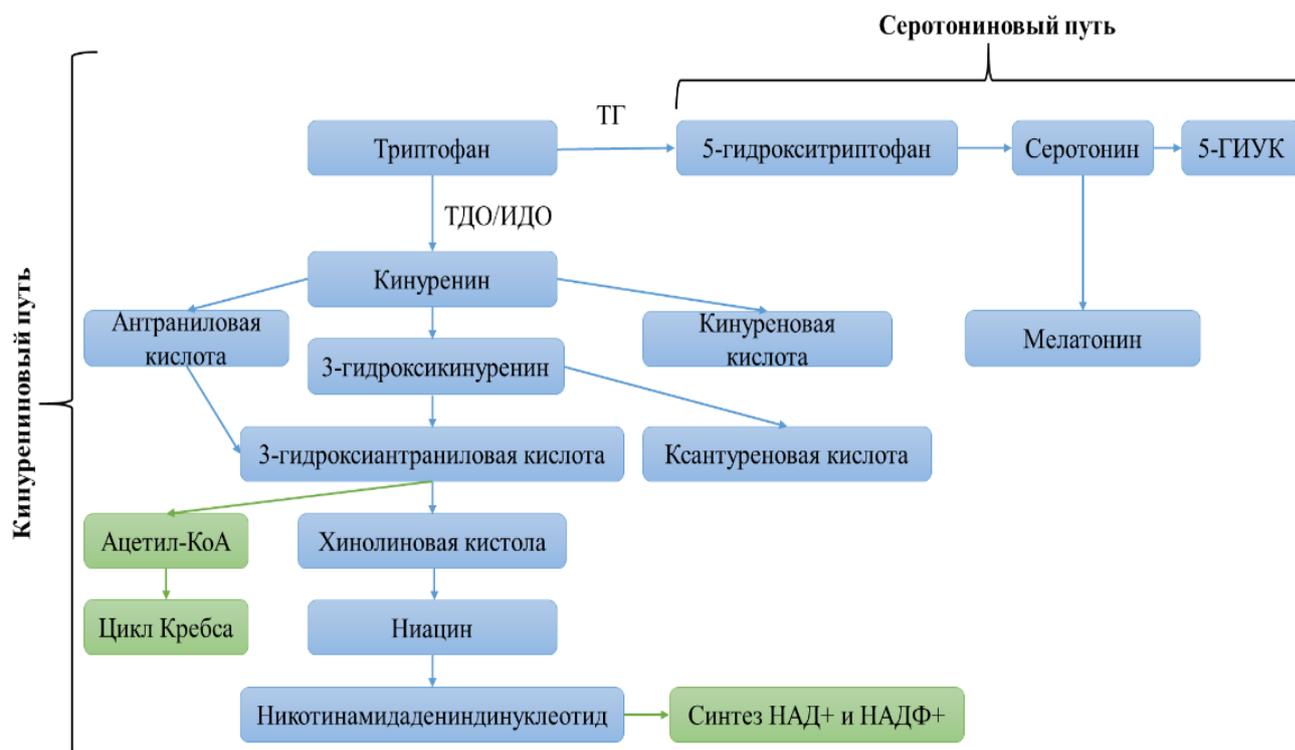
Особенности метаболизма ароматических аминокислот при хронической сердечной недостаточности

Ароматические аминокислоты (АА) содержат в своей структуре ароматическое бензольное кольцо и являются гликокетогенными аминокислотами, которые используются для синтеза глюкозы и кетоновых тел, так как в процессе их катаболизма образуются 2 продукта – фумарат и ацетоацетат. К ним относятся две незаменимые аминокислоты – фенилаланин и триптофан и одна частично-заменимая – тирозин, которая образуется из фенилаланина под действием фермента фенилаланингидроксилазы с участием кофермента тетрагидробиоптерина (ВН4). Тирозин используется для синтеза катехоламинов (дофамин, норадреналин, адреналин), йодтиронинов (тироксин, трийодтиронин) и пигмента меланина. Большинство исследований демонстрируют вклад АА в развитие ССЗ, демонстрируя связь АА с ожирением, дислипидемией и АГ [97,98,99]. Помимо опосредованного действия через тирозин, фенилаланин оказывать независимое влияние на эндотелиальную функцию посредством повышения синтеза кофермента тетрагидробиоптерина, необходимого для образования NO, что способствует снижению цифр АД благодаря регуляции сосудистого тонуса [98]. Существует мнение и о связи АА с активацией иммунной системы и воспалением при ССЗ [99,100]. В экспериментальном исследовании введение тирозина животной модели приводило к увеличению оборота норадреналина и к значительному снижению АД [101,102], однако такие данные не были подтверждены в клинических исследованиях [103,104] и пищевые добавки тирозина способствовали развитию АГ [105,106]. Циркулирующие уровни ароматических аминокислот были исследованы М.Н. Mahbub и соавт. и после

проведения поправок на возраст, пол и индекс массы тела (ИМТ) сохранялась положительная корреляция между наличием АГ и повышенным уровнем тирозина [107]. Роль АА изучалась и при СН, так в некоторых исследованиях отмечалось увеличение концентрации фенилаланина [108,109]. Также интересным представляется изучение прогностического значения соотношения ВСАА/АА (коэффициент Фишера) и соотношения лейцин/фенилаланин в ряде исследований, которые рассматривались в качестве прогностических значений неблагоприятных сердечно-сосудистых событий у пациентов с СН [110,111]. Однако роль АА при развитии СН так до конца и не определена, но так как данные аминокислоты связаны с развитием АГ, следует рассмотреть их вклад в СН у пациентов с АГ.

Особенности метаболизма ароматической аминокислоты триптофан и метаболитов кинуренинового пути при хронической сердечной недостаточности

У незаменимой аминокислоты триптофан, которая также относится к ароматическим аминокислотам, выделяют три пути метаболических превращений. Большая часть аминокислоты принимает участие в кинурениновом пути, в котором под действием индоламин 2,3-диоксигеназы (ИДО) или триптофан 2,3-диоксигеназы (ТДО) образуется кинуренин в ходе разрушения индольного кольца, а в последствии и кофермент никотинамидадениндинуклеотид (НАД⁺) (рисунок 6). НАД⁺ является распространенным окислительно-восстановительным кофактором в различных биологических процессах, включая гомеостаз кальция, энергетический обмен, митохондриальные функции и баланс антиоксидантов/прооксидантов, которые особенно важны для сердечно-сосудистой системы [112].



5-ГИУК – 5-гидроксииндолуксусная кислота, ацетил-КоА – ацетилкофермент А, ИДО – индоламин 2,3-диоксигеназой, НАД⁺ – никотинамададениндинуклеотид, НАДФ⁺ – никотинамададениндинуклеотидфосфат, ТГ – триптофан гидроксилаза, ТДО – триптофан 2,3-диоксигеназой.

Рисунок 6 – Кинурениновый и серотониновый пути катаболизма триптофана

В настоящее время широко исследуется роль триптофана и активность кинуренинового пути как важного компонента регуляции системного воспаления и окислительного стресса при ССЗ [113,114,115,116,117]. Одним из способов регуляции иммунных ответов является изменение экспрессии ИДО иммунными клетками через активацию провоспалительными цитокинами (интерлейкин-6 (ИЛ) и фактор некроза опухоли- γ (ФНО)), которая запускает изменение сигнальных путей и выработку иммунологически активных метаболитов кинуренинового пути, таких как кинуренин, кинуреновая кислота и 3-гидроксианраниловая кислота [118]. Следовательно, на первый план выходит внепеченочный метаболизм триптофана, который происходит преимущественно в крови, почках, легких, селезенке, головном мозге и т.д. Было обнаружено, что кинуренин снижает активность естественных клеток-киллеров, дендритных клеток, макрофагов,

моноцитов и пролиферацию Т-лимфоцитов, а 3-гидроксиантраниловая кислота напрямую ингибирует активацию дендритных клеток, в то время как кинуреновая кислота обеспечивает противовоспалительные и иммунодепрессивные функции за счет ослабления продукции провоспалительных цитокинов [119,120,121]. Однако из-за стимулируемой провоспалительными цитокинами экспрессии фермента кинуренин-3-монооксигеназы (КМО), происходит более быстрое увеличение концентрации 3-гидроксикинуренина, чем кинуреновой кислоты с помощью кинуренинаминотрансфераз (КАТ). В свою очередь, избыточный синтез 3-гидроксикинуренина под действием кинуренинаминотрансфераз приводит к увеличению продукции ксантуреновой кислоты, которая способна подавлять реакции глюконеогенеза и образовывать с инсулином комплекс, препятствуя взаимодействию лиганд-рецептор. Указанные изменения приводят к затруднению транспорта глюкозы в клетки и являются одним из значимых механизмов развития инсулинорезистентности и сахарного диабета [122]. С другой стороны, 3-гидроксиантраниловая кислота, являющаяся промежуточным метаболитом кинуренинового пути, способна интенсифицировать реакции гликолиза, которые обеспечивают клетки субстратом (глюкозой) при повышении потребности в нем при нагрузке и стрессе [122]. При воспалении результатом сдвига в сторону кинуренинового пути, опосредованного в основном активацией ИДО, становится снижение доступности триптофана, являющегося предшественником серотонина, и более активное образование 5-ГИУК под действием ИДО.

В ряде клинических исследований были обнаружены более высокие уровни метаболитов кинуренинового пути как в плазме крови пациентов с СН ишемической этиологии по сравнению с группой ИБС и группой здоровых добровольцев, так и в моче у пациентов с СН по сравнению со здоровыми добровольцами [123,124]. Кроме прочего демонстрировалась связь повышенных уровней метаболитов 3-гидроксикинуренина, ксантуреновой и хинолиновой кислот и соотношения кинуренин/триптофан с у пациентов с СН были связаны с повышенной смертностью [124]. Особый интерес представляет исследование PREDIMED, в котором анализировалась ассоциация метаболитов кинуренинового

пути с риском развития СН и фибрилляции предсердий (ФП) [125]. Было выявлено, что более высокое исходное соотношение кинуренин/триптофан и более высокие уровни кинуреновой кислоты связаны с СН, в то время как хинолиновая кислота была связана и с СН, и с ФП, следовательно, метаболиты триптофана перспективно были связаны с более высоким риском СН и в меньшей степени с риском ФП [125]. При сравнении пациентов с застойной СН и пациентов с СН и дефибриллятором повышенный уровень кинуренина предсказывает смерть в течение 6-месячного наблюдения в группе застойной СН [126]. Исследований с выделением фенотипа СНсФВ практически не проводилось. Так в исследовании Masaaki Konishi с соавт. уровень кинуренина был выше у пациентов с СНнФВ (n=173) и пациентов с СНсФВ (n=76) по сравнению с группой контроля (n=45) и ассоциировался с более высоким риском смерти, однако в данном исследовании группы были несопоставимы по количеству пациентов и не выделялась конкретная этиология СН [127].

Доказано, что при хроническом системном воспалении происходит активация провоспалительных цитокинов, которые не только оказывают повреждающее действие на КМЦ и эндотелиальные клетки, но и нарушают метаболизм триптофана по кинурениновому пути, тем самым продукты кинуренинового пути катаболизма триптофана, принимая участие в регуляции низкоуровневого системного воспаления, способствуют развитию и прогрессированию атеросклероза и эндотелиальной дисфункции, что в свою очередь способствует развитию и прогрессированию СН и требуют дальнейшего изучения.

Особенность метаболизма аминокислоты аргинин и метаболитов обмена азота при сердечной недостаточности

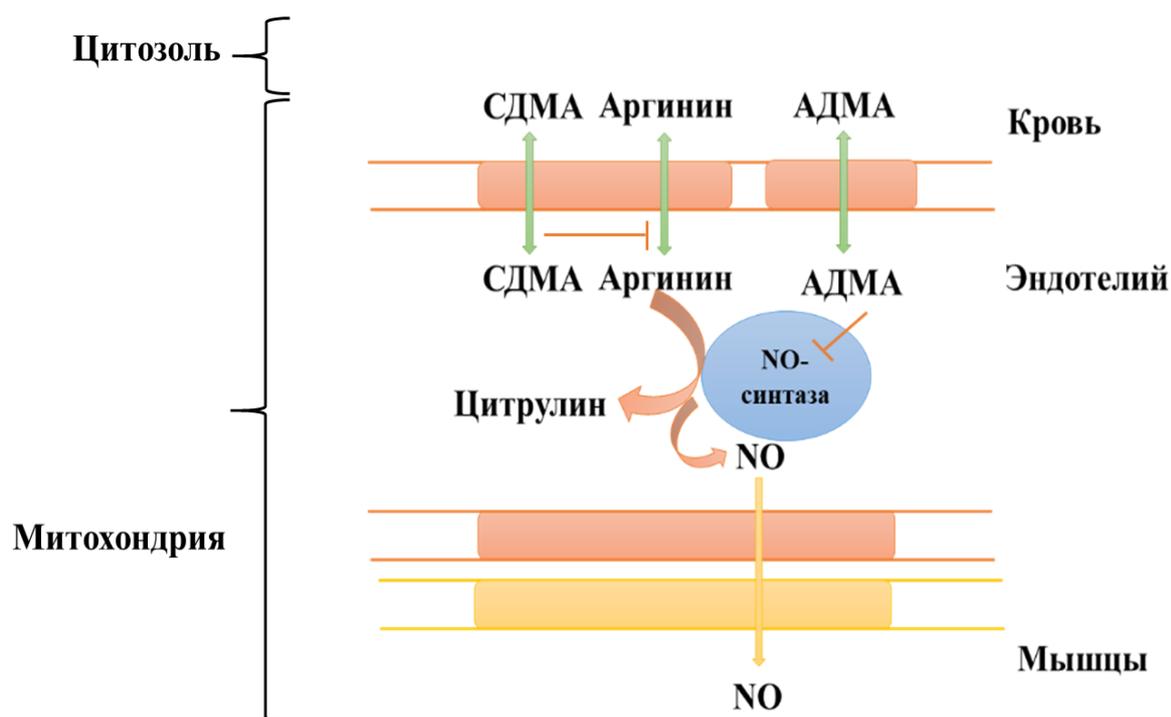
Изменение биодоступности NO под действием воспаления и окислительного стресса является отличительной чертой патогенеза и прогрессирования ССЗ,

особенно СН. Аргинин - условно-заменимая аминокислота, один из ключевых метаболитов в процессах азотистого обмена, так как она является субстратом для синтеза NO. Путь аргинин/NO представляет собой сложную систему, влияющую на вазомоторный тонус, а также на клеточную адгезию, агрегацию тромбоцитов, сосудистую пролиферацию и ангиогенез [128]. В физиологических условиях NO образуется при ферментативном окислении L-аргинина, которое катализируется с помощью ферментов NO-синтаз, вторым продуктом реакции является цитруллин. NO-синтаза – наиболее регулируемый фермент в организме, так как для его работы используется 5 кофакторов/простетических групп, например, ВН4. Мишенью для NO служит растворимая гуанилатциклаза, которая катализирует образование цГМФ, благодаря которому и обуславливается большинство физиологических эффектов NO [129]. При воздействии повреждающих факторов (нарушения метаболизма, активации хронического субклинического воспаления и т.д.) снижается способность эндотелиальных клеток освобождать релаксирующие факторы, тогда как образование сосудосуживающих факторов сохраняется или увеличивается, то есть формируется состояние, определяемое как эндотелиальная дисфункция (ЭД).

Повышенные концентрации диметиларгининов (асимметричного диметиларгинина (АДМА) и симметричного диметиларгинина (СДМА)), метаболитов, образующихся в результате протеолиза метилированных белков при переносе метильных групп на аргинин ферментом аргининметилтрансферазой-1 и -2 и выводящихся с мочой или метаболизирующихся под действием фермента диметиларгинин диметиламиногидролазы, в свою очередь тормозят реакцию образования NO (рисунок 7). Первый - путем конкурентного ингибитора NO-синтазы, второй – за счет снижения доступности аргинина внутри клетки благодаря конкуренции за связывание с транспортными белками.

Стоит отметить, что АДМА, посредством конкурентного ингибирования NO-синтазы, способен не только снижать интенсивность синтеза NO, но и изменять активность NO-синтазы путем преобразования NO-синтазы в генератор супероксида. В итоге происходит дальнейшее прогрессирование развития ЭД.

Кроме прочего, некоторые исследователи демонстрировали повышенный уровень АДМА у людей с избыточным весом и резистентностью к инсулину, также в других исследованиях сообщалось о корреляции между уровнем АДМА и наличием дислипидемии, хронической болезни почек (ХБП), атеросклероза [130,131,132,133].



NO – оксида азота, АДМА – асимметричный диметиларгинин, СДМА - симметричный диметиларгинин.

Рисунок 7 – Метаболизм аргинина

Несмотря на то, что существует механизм опосредованного воздействия СДМА на эндотелиальную функцию, данный метаболит в большей степени связан с развитием патологии почек. Так наличие у пациента с СН сопутствующей патологии в виде ХБП, может усугублять эндотелиальную дисфункцию за счет накопления в организме СДМА.

Поэтому повышенные уровни метилированного аргинина в сыворотке крови рассматриваются в качестве маркеров ЭД при СН, в то время как нормальный уровень L-аргинина считается признаком здорового эндотелия [134]. В ряде

клинических исследований СН продемонстрированы более высокие сывороточные уровни метаболитов, регулирующих синтез NO (АДМА, СДМА) и более низкие – аргинина и соотношения аргинин/АДМА, которое отражает активность фермента NO-синтазы [135,136,137,138,139,140,141]. Кроме того, накопление метилированных метаболитов аргинина, связано с наличием ДД ЛЖ, а повышенный уровень АДМА связан с прогрессированием заболевания и неблагоприятными отдаленными последствиями [139]. Четыре исследования пациентов с ХСН, два из которых включали только пациентов с СНсФВ, а другие – с СНнФВ, также продемонстрировали такие же изменения уровня метаболитов азотистого обмена в выделенных фенотипах ХСН [135,137,142,143]. Так в исследовании Baldassarri F. С соавт. определялось влияние вмешательства физической нагрузкой у пациентов с СНсФВ на параметры ЭД, однако положительных результатов оно не продемонстрировало [135]. В другом исследовании изучалась роль воспаления эндотелия микрососудов в развитии нарушений метаболитов азотистого обмена у 86 пациентов с острой СН с ФВ более 45% [137].

Достоверно известно, что циркулирующие уровни метаболитов, регулирующих NO, отражают выраженность ЭД и могут играть роль в развитии и прогрессировании СН. Учитывая то, что АГ и ХСН как раз и сопровождаются развитием ЭД, следовательно, в нашем исследовании пациентов с СНсФВ и СНусФВ, осложнившей течение АГ данные изменения метаболизма ожидаемы.

1.2.5. Заключение

Таким образом оценка изменений метаболомного профиля жирных кислот, глюкозы и аминокислот, которые отражают нарушения, происходящие в метаболических путях, и позволяет получить наиболее полное представление, необходимое для понимания механизмов биохимических процессов при различных заболеваниях. Так, например, в большей степени для эндотелиальной дисфункции характерно нарушение метаболических путей азотистого обмена метаболитов в

виде повышения АДМА, СДМА, снижения аргинина, для фиброза – повышение концентрации метаболитов кинуренинового пути катаболизма триптофана, которые изменяются при хроническом низкоуровневом воспалении и способствуют его поддержанию, для гипертрофии миокарда – повышение концентраций незаменимых аминокислот ВСАА. Следовательно, в настоящее время интересно изучение таких метаболомных профилей у пациентов с СНсФВ и СНусФВ, осложнившей течение АГ, которое необходимо для более полного понимания патофизиологических механизмов, происходящих в организме при развитии СН и в дальнейшем, может быть использовано для диагностики, профилактики и терапии заболевания.

1.3. Метаболомное профилирование

Интерес к изучению метаболома человека возник в конце XX века [85]. Метаболом представляет собой совокупность низкомолекулярных соединений - метаболитов (с молекулярной массой $<1,5\text{кДа}$) клеток, органов, тканей и биологических жидкостей, которые представлены разнообразными промежуточными продуктами метаболизма, такими как липиды, аминокислоты, пептиды, нуклеиновые кислоты, органические кислоты, витамины и тиолы, описывающие конкретное функциональное и физиологическое состояние живой системы в конкретный момент времени [144]. В свою очередь под метаболомным профилем человека подразумевается состав метаболитов в биологическом образце [145]. Изменения метаболомного профиля отражают патофизиологию многих заболеваний (ССЗ, онкологических, нейродегенеративных и т.д.) и его изучение позволяет перейти от поиска биомаркеров заболеваний к механистическому моделированию патофизиологических процессов.

1.3.1. Подходы к метаболомному анализу

Существуют два варианта метаболомного анализа: нецелевая и целевая метаболомика. Нецелевая метаболомика дает представление о большом количестве неизвестных метаболитов в исследуемом образце, но для идентификации новых биомаркеров наиболее рациональным представляется использование целевой метаболомики, которая направлена на количественную оценку подмножества заранее определенных химически и биохимически охарактеризованных нескольких групп метаболитов [146]. Такой подход приводит к повышению точности и возможности использования абсолютного количественного определения метаболитов в образцах. Однако целевая метаболомика охватывает ограниченное число метаболитов, что может ограничить возможности для создания новых гипотез.

1.3.2. Аналитические платформы для проведения метаболомного анализа

Метаболомный анализ проводится с использованием различных аналитических методов/платформ, которые включают ядерный магнитный резонанс (ЯМР) и масс-спектрометрию (МС). Недостатком ЯМР является низкая чувствительность (обнаруживая только наиболее распространенные соединения (обычно >1 мкмоль/л в образце) по сравнению с МС и дороговизна [144]. Наилучшим выбором является сочетание методов разделения, таких как газовая хроматография (ГХ) или жидкостная хроматография (ЖХ) с МС, чтобы улучшить чувствительность и разрешающую способность анализа. Однако жидкостная хроматография в сочетании с масс-спектрометрией (ЖХ-МС) все больше набирает популярность в области метаболомики, по сравнению с ГХ, поскольку они позволяют анализировать более широкий спектр метаболитов, т.е. от пептидов до гидрофильных органических кислот, даже до гидрофобных липидов, без дериватизации образца [144]. Данный метод широко используется для химического анализа и сочетает в себе физическое разделение ЖХ или

высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с МС. Учитывая большую специфичность и чувствительность, ЖХ-МС прекрасно подходит для метаболомики из-за хорошего охвата широкого спектра химических веществ.

1.4. Метаболомное профилирование плазмы крови при хронической сердечной недостаточности

Несмотря на наличие экспериментальных и клинических данных о значимости нарушений метаболизма при ХСН, остается до конца не ясным, какие именно изменения в метаболомном профиле предшествуют развитию СН до повышения биомаркеров и возникновения структурного ремоделирования миокарда [147]. Но однозначно можно сказать, что структурное ремоделирование миокарда происходит в следствии так называемого «метаболического ремоделирования», которое способствует прогрессированию ХСН и ее усугублению, вызывая постепенную потерю миофибриллярного содержимого, формы и размера митохондрий [148]. С другой стороны, до сих пор не ясно какие изменения предшествуют «метаболическому ремоделированию» у пациентов с ХСН.

В настоящий момент наибольшие данные в области метаболомного анализа накоплены в отношении ожирения, метаболического синдрома, сахарного диабета, АГ, ИБС. Сопровождающие данные состояния и заболевания метаболические нарушения ведут к молекулярной и структурной перестройке миокарда, которая в дальнейшем становится одним из главных патогенетических факторов развития ХСН [107,149,150]. Одним из патогенетических механизмов формирования ХСН, известным на сегодняшний день, особого внимания заслуживает дисфункция эндотелия, развивающаяся на фоне хронического воспаления. Данные предыдущих исследований указывают на связь таких метаболитов, как кининуренины, аргинин и его производные с нарушением функции эндотелия посредством снижения выработки NO или поддержанием хронического воспаления [149,150]. Так под действием провоспалительных цитокинов происходит увеличение экспрессии

фермента ИДО, который сдвигает распад триптофана в сторону кинуренинового пути, метаболиты которого могут генерировать активные формы кислорода, что способствует прогрессированию ЭД. В свою очередь, блокирование NO-синтазы метилированными производными аргинина приводит к нарушению синтеза NO из аргинина и дисбалансу систем, регулирующих сосудистый тонус.

Во многих экспериментальных исследованиях с помощью нецелевой и целевой метаболомики были продемонстрированы изменения метаболомного профиля на мышинных моделях преимущественно в виде повышения уровней аминокислот и ацилкарнитинов [54,80,81,101,102,151]. В исследовании Brian E. Sansbury с соавторами благодаря использованию масс-спектрометрии было идентифицировано повышение уровней аминокислот и их метаболитов (например, триптофана, ВСАА) и снижение содержания пирувата, флавинадениндинуклеотида (ФАД+) и многих членов суперсемейства липидов у мышей с искусственно вызванной перегрузкой давлением [151]. Интересным представляется то, что по мере увеличения длительности воздействия перегрузки давлением на организм фиксировались более значимые метаболические изменения в мышинной модели. Полученные экспериментальные данные позволили предположить, что характерные изменения могут сопровождать развитие СН у человека.

Минусом большинства уже проведенных клинических исследований является использование ЯМР для определения метаболитов, или включение пациентов с ХСН различной этиологии, и, следовательно, с различными механизмами ее развития. Так, группа исследователей под руководством Christian Delles, провела анализ метаболомных профилей более 10 тысяч пациентов, участвовавших в исследованиях PROSPER и FINRISK, 315 из которых были госпитализированы по поводу декомпенсации ХСН [152]. В ходе анализа была установлена связь уровня фенилаланина с риском развития ХСН. При этом следует отметить главный недостаток данной работы – определение метаболомного профиля выполнялось с помощью ЯМР-спектроскопии в образцах крови, полученной около 20 лет назад. Столь длительный период хранения крови,

способен привести к деградации ряда метаболитических соединений. Вторым недостатком исследования является отсутствие разделения пациентов с ХСН по этиологическому принципу и клиническому течению. Другим примером может служить работа Chao-Hung Wang, в которой прогностическая ценность аминокислот также была оценена у 712 пациентов с ХСН различной стадии [153]. В результате авторами была предложена панель, имевшая в составе гистидин, орнитин и фенилаланин в качестве маркера альтернативного NT-proBNP [153]. К сожалению, в данное исследование включались пациенты только с ФВ ЛЖ менее 50%, тогда как в современном мире признается все больший вклад СНсФВ в структуру ХСН. Еще одно масштабное исследование было проведено Charlotte Andersson с соавт., которые проанализировали 217 циркулирующих в крови метаболитов у 2336 участников Фрамингемского исследования без ХСН в исходном состоянии с помощью ЖХ-МС [8]. За период наблюдения у 219 участников была диагностирована ХСН (среднее время до дебюта составило 12,6 года) [8]. Учитывая отсроченный дебют ХСН, возможно ослабление ассоциаций между метаболитами и риском развития ХСН (забор крови производился в период 1991-1995 гг., постановка проб 2009-2011 гг.). Так же к ограничениям исследования можно отнести и то, что диагностические критерии ХСН на момент наблюдения пациентов (1971-2016 гг.) не включали эхокардиографические данные. Еще одним значимым ограничением в этой работе служит отсутствие каких-либо данных о заболеваемости обследуемых, медикаментозной терапии и других факторах, которые могут оказывать влияние на метаболом. Другой аналогичной работой, заслуживающей особое внимание, стало исследование Lanfear, целью которого была оценка прогностической значимости изученных циркулирующих метаболитов [92]. Участниками исследования стали 1032 пациента с ХСН и ФВ<50%. Согласно заявлению авторов, была выделена комбинация аминокислот и ацилкарнитинов, концентрация которых значительно изменялась в зависимости от типа и клинической стадии ХСН, а также являются независимыми факторами риска летального исхода у данной группы пациентов [92]. Camilla Hage с соавт. в своей работе оценивала изменения метаболомного профиля с помощью целевого

метаболического анализа у пациентов с СНсФВ и СНнФВ [154]. Наблюдаемые ими изменения в группе ацилкарнитинов и аминокислот, в виде повышения уровней гидроксипролина, СДМА, аланина, кинуренина, а также снижение – серина, аргинина, L-карнитина свидетельствовали об актуальности подразделения пациентов с СН по фенотипам. Однако исследование было выполнено до 2016 года, когда в критерии диагностики СНсФВ не включали эхокардиографические параметры, также стоит отметить и отсутствие группы контроля. В свою очередь, Hongyu Zhao с соавт. выделяли все три фенотипа СН и группу контроля без СН в проводимом исследовании [10]. Ими была разработана панель, состоящая из 15 метаболитов, которые были общими для всех фенотипов СН. В исследовании Tarek Bekfani с соавт. отмечалось повышение концентрации циркулирующих ароматических аминокислот, ВСАА и некоторых ацилкарнитинов, в то время как концентрации аминокислот снижались при сравнении СНсФВ (n=17) и СНнФВ (n=18) с группой контроля (n=20) [155]. Особое внимание в работе было уделено повышенному уровню кинуренина, как возможному маркеру СН. Интерес вызывает и работа наших соотечественников, продемонстрировавшая возможность использования оценки выдыхаемого воздуха с помощью протонной масс-спектрометрии в качестве варианта не инвазивной диагностики ХСН [156]. Состав выдыхаемого воздуха анализировали по отклонению содержания определенных веществ от их концентрации в нейтральном воздухе и выявили шесть соединений (концентрации ацетона, формальдегида, пропилена, уксусной кислоты, ксилола и бензоатов), значительно различающихся у пациентов с ХСН и без нее.

К сожалению, несмотря на уже доказанные изменения метаболического профиля при СН, требуется дальнейшее изучение данного направления с выделением фенотипов СН, а также подразделение на группы в зависимости от этиологии СН.

1.5. Заключение

В настоящее время признана роль «омиксных» наук в изучении метаболомного профиля у пациентов с различной сердечно-сосудистой патологией. Как видно из представленного обзора литературы, постепенно ведутся работы по изучению метаболома пациентов с ССЗ. Однако работ по метаболомному профилированию непосредственно пациентов с СН ограниченное количество, также следует отметить, что для большинства исследований характерна разнородность пациентов с ХСН по этиологическому признаку, что может стать ограничением, так как при разных заболеваниях задействованы разные метаболические пути и, соответственно, патогенез СН отличается у пациентов с АГ, ИБС и КМП. Работ с исследованием метаболомного профиля при СН, осложнившей течение АГ с сохраненной и умеренно сниженной ФВ в настоящий момент в мире нет. В связи с чем данное исследование является инновационным и оригинальным. Полученные в результате работы данные могут позволить идентифицировать новые биомаркеры и создать новые диагностические панели для верификации СНсФВ и СНусФВ. А более глубокое понимание патогенеза, может лечь в основу в принципиально нового терапевтического подход.

Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Общий протокол клинического исследования, дизайн исследования

На базе ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) было выполнено одномоментное наблюдательное исследование метаболомного профиля здоровых добровольцев, пациентов с АГ и пациентов с ХСН, осложнившей течение АГ. Исследование проводилось по решению Ученого Совета, было одобрено Локальным этическим Комитетом Сеченовского Университета и соответствовало Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации, принятой на 18-ой Генеральной Ассамблее ВМА. Набор пациентов в исследование проводился на базе кардиологического отделения №1 Клиники госпитальной терапии имени А.А. Остроумова Сеченовского Университета с сентября 2020г. по декабрь 2022г., исследование метаболомного профиля выполнялось в Лаборатории фармакокинетики и метаболомного анализа Института трансляционной медицины и биотехнологии Научно-технического парка биомедицины ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет). Всего в исследование было включено 107 человек: 40 пациентов с АГ и ХСН, которые составили основную группу и 40 с АГ без признаков ХСН, которые вошли в группу сравнения, группу контроля составили 27 участников исследования без ССЗ.

Перед включением в исследование потенциальному участнику, соответствующему критериям включения, было предложено подписать информированное добровольное согласие.

Критерии включения в основную группу (ХСН+АГ):

- Наличие письменного информированного согласия на участие в исследовании;
- Возраст более 18 лет;
- Наличие АГ согласно Клиническим рекомендациям Российского кардиологического общества «Артериальная гипертензия у взрослых», 2020 г., то

есть повышение офисного систолического АД (САД) ≥ 140 и/или диастолического АД (ДАД) ≥ 90 мм рт.ст.;

-Наличие ХСНII-III ФК по Нью-Йоркской кардиологической ассоциации (NYHA) с сохранной и промежуточной ФВ, осложнившей течение АГ согласно Клиническим рекомендациям ОССН – РКО – РНМОТ «Сердечная недостаточность: хроническая (ХСН) и острая декомпенсированная (ОДСН). Диагностика, профилактика и лечение». Диагноз устанавливался на основании критериев Европейского общества кардиологов и Российского Общества специалистов по сердечной недостаточности: наличие одышки, периферических отеков, хрипов в легких, снижение толерантности к физической нагрузке, ортопноэ, увеличение массы тела, повышенного уровня NT-proBNP > 220 пг/мл для пациентов с синусовым ритмом или > 660 пг/мл для пациентов с ФП (малые критерии: NT-proBNP > 125 пг/мл или > 365 пг/мл, соответственно) и данных эхокардиографии: ФВ 40–49% для фенотипа СНусФВ и ФВ $\geq 50\%$ - СНСФВ, индекс объема левого предсердия (ИОЛП) более 34 мл/м² (малые критерии: 29-34 мл/м²) или индекс массы миокарда ЛЖ (ИММЛЖ) $> 149/122$ г/м² для мужчин и женщин, соответственно, и относительная толщина стенки (ОТС) ЛЖ $> 0,42$ (малые критерии: ИММЛЖ $> 115/95$ г/м² или ОТС $> 0,42$ или толщина стенки ЛЖ ≥ 12 мм), соотношение E/e' > 15 м/с (малые критерии E/e' 9-14 м/с) или e' перегородки < 7 м/с и e' боковой стенки < 5 м/с или систолическое давление легочной артерии (СДЛА) > 35 мм рт.ст.

Критерии невключения в основную группу (ХСН+АГ):

-ИБС (наличие клинических признаков стенокардии, или безболевого ишемии миокарда по данным холтеровского мониторирования (ХМ), или атеросклероза коронарных артерий (КА), подтвержденного коронароангиографией (КАГ), или стресс-индуцированной ишемии миокарда);

-Вторичная АГ;

-Наследственные и приобретенные (токсическая, воспалительная, стресс-индуцированная, послеродовая) КМП;

-Врожденные и приобретенные пороки сердца;

- Острый миокардит, перикардит;
- ОНМК или транзиторная ишемическая атака в течение предшествующих 6 месяцев;
- Острая почечная недостаточность, хроническая болезнь почек (ХБП) 4 – 5 стадии;
- Хроническое легочное сердце;
- Тяжелые нарушения функции печени (с синдромом цитолиза и явлениями печеночно-клеточной недостаточности);
- Бронхиальная астма, хроническая обструктивная болезнь легких;
- Язвенная болезнь желудка или 12-п. кишки в фазе обострения;
- Хронический панкреатит в фазе обострения;
- Злокачественные новообразования;
- Заболевания щитовидной железы (гипотиреоз и гипертиреоз);
- Синдром Иценко-Кушинга, сахарный диабет (СД) 1 типа;
- СД 2 типа в стадии декомпенсации;
- Тромбоцитопении любого генеза, геморрагический синдром;
- Хронические вирусные и бактериальные инфекции;
- Аутоиммунные заболевания;
- Психическое заболевание;
- Злоупотребление алкоголем или применение наркотических веществ;
- Беременность, лактация.

Критерии исключения из основной группы (ХСН+АГ):

- Отказ пациента от дальнейшего участия в исследовании;
- Отсутствие достаточной готовности к сотрудничеству;
- Наличие ИБС; вторичная АГ; наследственные и приобретенные КМП; врожденные и приобретенные пороки сердца; острый миокардит, перикардит; ОНМК или транзиторная ишемическая атака; бронхиальная астма; хроническая обструктивная болезнь легких; хроническое легочное сердце; острая почечная недостаточность, ХБП 4 – 5 стадии; тяжелые нарушения функции печени; язвенная болезнь желудка или 12-п. кишки в фазе обострения; хронический панкреатит в фазе обострения; злокачественные новообразования; гипотиреоз и гипертиреоз;

синдром Иценко-Кушинга, СД 1 и 2 типа; аутоиммунные заболевания; тромбоцитопении любого генеза; геморрагический синдром; хронические вирусные и бактериальные инфекции; психические заболевания; злоупотребление алкоголем или применение наркотических веществ;

-Беременность, лактация.

Критерии включения в группу сравнения (АГ):

-Наличие письменного информированного согласия на участие в исследовании;

-Возраст более 18 лет;

-Наличие АГ согласно Клиническим рекомендациям Российского кардиологического общества «Артериальная гипертензия у взрослых», 2020 г.

Критерии невключения в группу сравнения (АГ):

-ХСН;

-ИБС (наличие клинических признаков стенокардии, или безболевой ишемии миокарда по данным ХМ, или атеросклероза КА, подтвержденного КАГ, или стресс-индуцированной ишемии миокарда);

-Вторичная АГ;

-Наследственные и приобретенные КМП;

-Врожденные и приобретенные пороки сердца;

-Острый миокардит, перикардит;

-ОНМК или транзиторная ишемическая атака в течение предшествующих 6 месяцев;

-Острая почечная недостаточность, ХБП 4 – 5 стадии;

-Хроническое легочное сердце;

-Тяжелые нарушения функции печени (с синдромом цитолиза и явлениями печеночно-клеточной недостаточности);

-Бронхиальная астма, хроническая обструктивная болезнь легких;

-Язвенная болезнь желудка или 12-п. кишки в фазе обострения;

-Хронический панкреатит в фазе обострения;

-Злокачественные новообразования;

-Заболевания щитовидной железы (гипотиреоз и гипертиреоз);

- Синдром Иценко-Кушинга, СД 1 типа;
- СД 2 типа в стадии декомпенсации;
- Тромбоцитопении любого генеза, геморрагический синдром;
- Хронические вирусные и бактериальные инфекции;
- Аутоиммунные заболевания;
- Психическое заболевание;
- Злоупотребление алкоголем или применение наркотических веществ;
- Беременность, лактация.

Критерии исключения из группы сравнения (АГ):

- Отказ пациента от дальнейшего участия в исследовании;
- Отсутствие достаточной готовности к сотрудничеству;
- Наличие ХСН, ИБС; вторичная АГ; наследственные и приобретенные КМП; врожденные и приобретенные пороки сердца; острый миокардит, перикардит; ОНМК или транзиторная ишемическая атака; бронхиальная астма; хроническая обструктивная болезнь легких; хроническое легочное сердце; острая почечная недостаточность, ХБП 4 – 5 стадии; тяжелые нарушения функции печени; язвенная болезнь желудка или 12-п. кишки в фазе обострения; хронический панкреатит в фазе обострения; злокачественные новообразования; гипотиреоз и гипертиреоз; синдром Иценко-Кушинга, сахарный диабет 1 и 2 типа; аутоиммунные заболевания; тромбоцитопении любого генеза; геморрагический синдром; хронические вирусные и бактериальные инфекции; психические заболевания; злоупотребление алкоголем или применение наркотических веществ;
- Беременность, лактация.

Критерии включения в группу контроля (здоровые добровольцы):

- Наличие письменного информированного согласия на участие в исследовании;
- Возраст более 18 лет;
- Отсутствие клинических и лабораторно-инструментальных признаков поражения сердечно-сосудистой системы.

Критерии невключения в группу контроля (здоровые добровольцы):

- ХСН и первичная АГ;

- ИБС (наличие клинических признаков стенокардии, или безболевого ишемии миокарда по данным ХМ, или атеросклероза КА, подтвержденного КАГ, или стресс-индуцированной ишемии миокарда);
- Вторичная АГ;
- Наследственные и приобретенные КМП;
- Врожденные и приобретенные пороки сердца;
- Острый миокардит, перикардит;
- ОНМК или транзиторная ишемическая атака в течение предшествующих 6 месяцев;
- Острая почечная недостаточность, ХБП 4 – 5 стадии;
- Хроническое легочное сердце;
- Тяжелые нарушения функции печени (с синдромом цитолиза и явлениями печеночно-клеточной недостаточности);
- Бронхиальная астма, хроническая обструктивная болезнь легких;
- Язвенная болезнь желудка или 12-п. кишки в фазе обострения;
- Хронический панкреатит в фазе обострения;
- Злокачественные новообразования;
- Заболевания щитовидной железы (гипотиреоз и гипертиреоз);
- Синдром Иценко-Кушинга, СД 1 типа;
- СД 2 типа в стадии декомпенсации;
- Тромбоцитопении любого генеза, геморрагический синдром;
- Хронические вирусные и бактериальные инфекции;
- Аутоиммунные заболевания;
- Психическое заболевание;
- Злоупотребление алкоголем или применение наркотических веществ;
- Беременность, лактация.

Критерии исключения из группы контроля (здоровые добровольцы):

- Отказ пациента от дальнейшего участия в исследовании;
- Отсутствие достаточной готовности к сотрудничеству;

-Первичная и вторичная АГ; ХСН, ИБС; наследственные и приобретенные КМП; врожденные и приобретенные пороки сердца; острый миокардит, перикардит; ОНМК или транзиторная ишемическая атака; бронхиальная астма; хроническая обструктивная болезнь легких; хроническое легочное сердце; острая почечная недостаточность, ХБП 4 – 5 стадии; тяжелые нарушения функции печени; язвенная болезнь желудка или 12-п. кишки в фазе обострения; хронический панкреатит в фазе обострения; злокачественные новообразования; гипотиреоз и гипертиреоз; синдром Иценко-Кушинга, сахарный диабет 1 и 2 типа; аутоиммунные заболевания; тромбоцитопении любого генеза; геморрагический синдром; хронические вирусные и бактериальные инфекции; психические заболевания; злоупотребление алкоголем или применение наркотических веществ;

-Беременность, лактация.

План исследования:

1. Отбор участников исследования согласно критериям включения, не включения;
2. Получение информированного согласия на участие в исследовании;
3. Обследование участников исследования: сбор анамнеза заболевания и анамнеза жизни, анализ предоставленной медицинской документации, изменение антропометрических показателей с вычислением ИМТ, физикальное обследование, измерение уровня АД методом Короткова, выполнение общего анализа крови, определение показателей липидного обмена (общего холестерина, липопротеинов низкой плотности (ЛПНП), липопротеинов очень низкой плотности (ЛПОНП), липопротеинов высокой плотности (ЛПВП) и триглицеридов), углеводного обмена, уровня мочевой кислоты, уровня КФК, печеночных трансаминаз, анализ уровней гормонов щитовидной железы, определение состояния органов-мишеней у пациентов с ССЗ – сердца: проведение электрокардиографии (ЭКГ), эхокардиографии (ЭХО-КГ) с доплеровским анализом, и почек: проведение ультразвукового исследования (УЗИ) почек, определение уровня креатинина, расчет скорости клубочковой фильтрации (СКФ); при необходимости проведение УЗИ сосудов с доплеровским анализом, выполнение суточного мониторирования АД (СМАД);

4. Проведение дополнительных исследований:

-Определение уровня NT-proBNP с помощью иммуноферментного анализа (ИФА) у пациентов с ХСН;

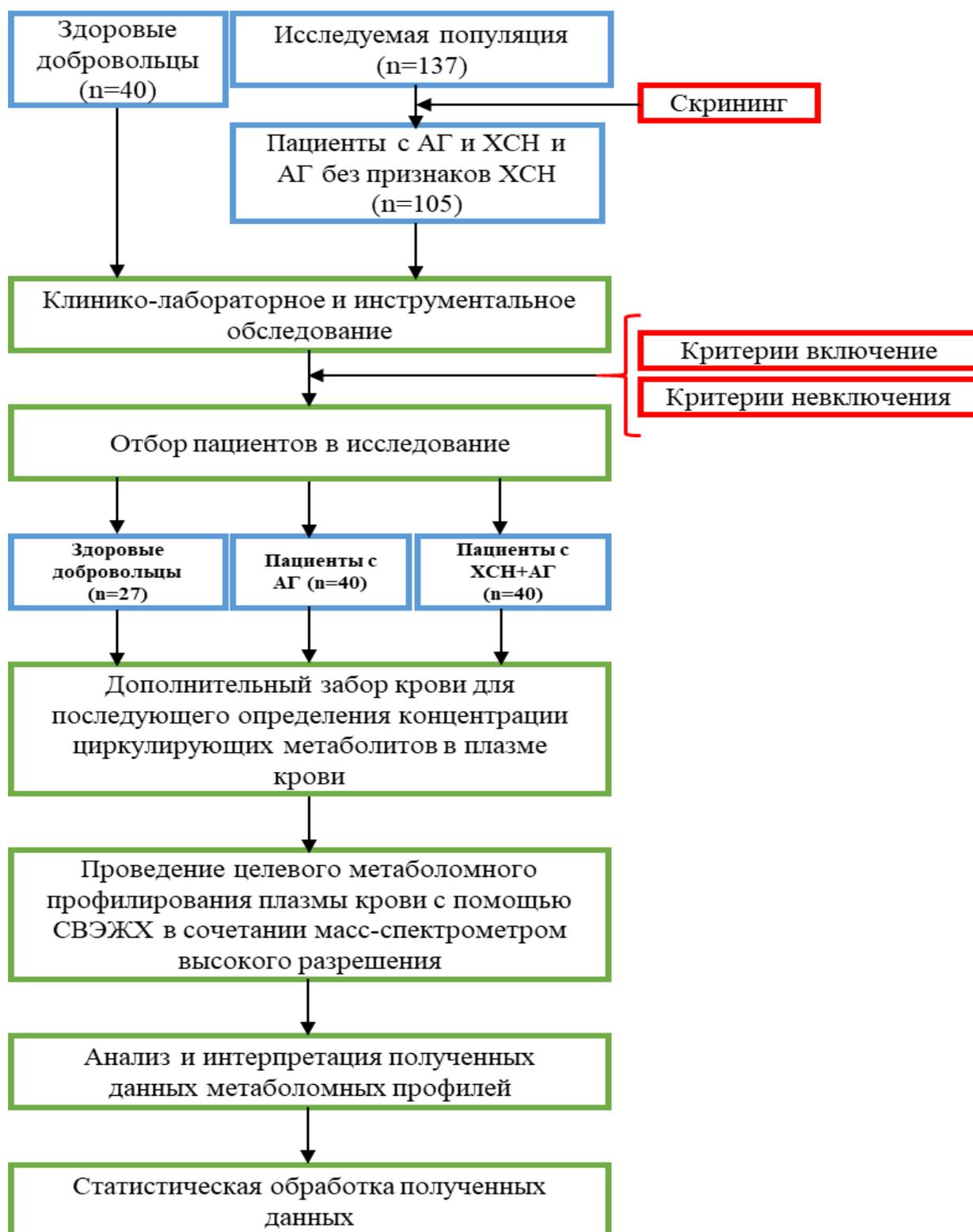
-Проведение целевого метаболомного профилирования крови всех участников исследования с применением ВЭЖХ системы WatersAcquity UPLC в сочетании с масс-спектрометром высокого разрешения (TSQ, Xevo TQ-S micro, Waters, США).

5. Анализ и интерпретация данных, полученных в ходе метаболомного профилирования, выполнялись с помощью комплексных программ интеллектуального анализа с привлечением мультивариантной статистики и специализированного программного обеспечения, для описания ключевых звеньев метаболических процессов (PCA, OPLS-DA и др.).

6. Статистическая обработка полученных данных.

7. Формулировка выводов.

Дизайн исследования представлен на рисунке 8.



АГ – артериальная гипертензия, ХСН – хроническая сердечная недостаточность.

Рисунок 8 - Дизайн исследования

2.2. Характеристика участников исследования

В одномоментном наблюдательном исследовании приняли участие 80 участников с ССЗ и 27 здоровых добровольцев. В основную группу вошло 40 пациентов ХСН, осложнившей течение АГ, среди которых 15 мужчин (37,5%), возраст пациентов составил 70,0 [64,0;74,0] лет, а ИМТ 34,24 [29,72;38,36] кг/м² (таблица 1). Группа сравнения представлена 40 пациентами с АГ без признаков ХСН: 17 мужчин (42,5%), возрастом группы пациентов - 66,5 [60,5;69,5] лет, а ИМТ 29,17 [25,86;32,33] кг/м², у которых отсутствовали клинические и лабораторно-инструментальные признаки ХСН. В группу контроля вошло 9 мужчин (33,3%), возраст здоровых добровольцев составил 27 [26;37] лет, а ИМТ 21,66 [20,28;24,03] кг/м².

Всем участникам исследования было проведено обследование: измерение антропометрических показателей (рост, масса тела), расчет ИМТ, измерение офисного систолического и диастолического АД (САД, ДАД).

Группа контроля значительно отличалась от групп с ССЗ по возрасту, ИМТ (таблица 1). Группы АГ и ХСН+АГ были сопоставимы по возрасту. Кроме прочего ожидаемо здоровые добровольцы отличались по уровням САД, ДАД и пульсового АД (ПАД), измеренным при включении в исследование, особенно стоит выделить статистически значимое различие по уровню ПАД, измеренного при поступлении между здоровыми добровольцами и пациентами группы АГ и группы ХСН+АГ, которое отражает снижение эластичности стенки сосудов у пациентов с ССЗ (таблица 1).

При сравнении среднесуточных значений АД различия между группами АГ и ХСН+АГ выявлено не было. Стаж АГ у пациентов группы АГ: длительность заболевания менее 5 лет – 17,1%, 5-10 лет – 17,1%, ≥10 лет – 65,8%, у пациентов группы ХСН+АГ: 5-10 лет – 5,1%, ≥10 лет – 94,9%. Группы пациентов с ССЗ статистически значимо различались по длительности течения АГ ($p=0,001$), следовательно, пациенты с СН имели более длительное течение АГ.

Таблица 1 – Демографические и гемодинамические показатели участников исследования

Показатели	Группа контроля (n =27)	Группа АГ (n =40)	Группа ХСН+АГ (n = 40)	Критерий р
	Абс. и % Ме и [Q ₁ – Q ₃]	Абс. и % Ме и [Q ₁ – Q ₃]	Абс. и % Ме и [Q ₁ – Q ₃]	
Пол, n (%) (мужчины)	9 (33,3)	17 (42,5)	15 (37,5)	0,744
Возраст, лет	27,0 [26,0-37,0]	66,5 [60,5-69,5]	70,0 [64,0-74,0]	<0,001* р контроль- АГ<0,001 р контроль- ХСН+АГ<0,001
ИМТ, кг/м ²	21,66 [20,28-24,03]	29,17 [25,86-32,33]	34,24 [29,72-38,36]	<0,001* р контроль- АГ<0,001 р контроль- ХСН+АГ<0,001 р АГ- ХСН+АГ=0,008
ЧСС, уд. в мин	71 [61;76]	67,0 [60,0;71,0]	80 ± 19 (74-86)	0,003* р АГ- ХСН+АГ=0,002
САД, мм рт.ст.	120 [110-120]	140 [130-160]	140 [120-150]	<0,001* р контроль- АГ<0,001 р контроль- ХСН+АГ<0,001
ДАД, мм рт.ст.	75 [70-80]	90 [85-95]	80 [80-90]	<0,001* р контроль- АГ<0,001 р контроль- ХСН+АГ<0,001 р АГ- ХСН+АГ=0,016
ПАД, мм рт.ст.	40 [40-46]	50 [45-70]	50 [48-61]	<0,001* р контроль- АГ<0,001 р контроль- ХСН+АГ<0,001
САД ср.сут., мм рт.ст.	-	134 [126-136]	128 [116-147]	0,942

Продолжение таблицы 1

ДАД ср.сут., мм рт.ст.	-	76 [66-83]	72 [65-77]	0,331
ПАД ср.сут., мм рт.ст.	-	57 [50-64]	62 [53-71]	0,380
Степени АГ, n (%)	-	2 - 8 (20) 3 - 32 (80)	2 - 8 (20) 3 - 32 (80)	1,000

Примечания: * - различия показателей статистически значимы ($p < 0,05$). n — абсолютное число больных, Me [Q1-Q3] — медиана и квартили.

АГ – артериальная гипертензия, ДАД – диастолическое артериальное давление, ИМТ – индекс массы тела, ПАД – пульсовое артериальное давление, САД – систолическое артериальное давление, ХСН – хроническая сердечная недостаточность.

Таблица 2 - Факторы риска, ассоциированные состояния и поражение органов-мишеней участников исследования

Показатели	Группа контроля (n=27)	Группа АГ (n =40)	Группа ХСН+АГ (n = 40)	Критерий p
	Абс. и %	Абс. и %	Абс. и %	
Курение, n (%)	4 (14,8)	11 (27,5)	5 (12,5)	0,190
Ожирение, n (%)	1 (3,7)	17 (42,5)	28 (70,0)	<0,001* p контроль- АГ<0,001 p контроль- ХСН+АГ<0,001 p АГ- ХСН+АГ=0,013
Дислипидемия, n (%)	13 (44,4)	40 (100)	38 (95,0)	<0,001* p контроль- АГ<0,001 p контроль- ХСН+АГ<0,001
Гиперурикемия, n (%)	2 (7,4)	10 (25,0)	20 (50,0)	<0,001* p контроль- ХСН+АГ<0,001 p АГ- ХСН+АГ=0,042
Протеинурия, n(%)	0	2 (5)	7 (17,8)	0,025*

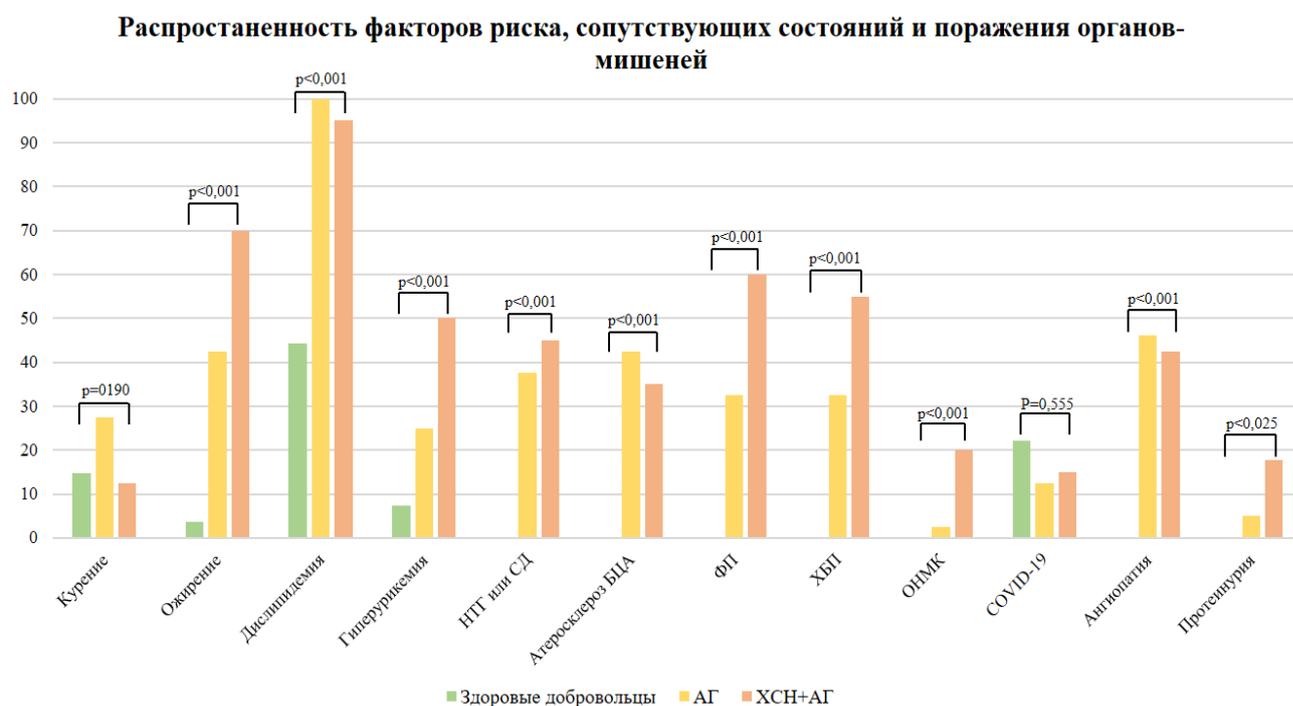
Продолжение таблицы 2

Гипертоническая ангиопатия, n(%)	0	18 (46,2)	17 (42,5)	<0,001* р контроль-АГ<0,001 р контроль-ХСН+АГ<0,001
НТГ и СД, n (%)	0	15 (37,5)	18 (45,0)	<0,001* р контроль-АГ<0,001 р контроль-ХСН+АГ<0,001
Атеросклероз БЦА, n (%)	0	17 (42,5)	14 (35,0)	<0,001* р контроль-АГ<0,001 р контроль-ХСН+АГ<0,001
ФП, n (%)	0	13 (32,5)	24 (60,0)	<0,001* р контроль-АГ=0,002 р контроль-ХСН+АГ<0,001 р АГ-ХСН+АГ=0,014
ХБП, n (%)	0	13 (32,5)	21 (52,5)	<0,001* р контроль-АГ=0,002 р контроль-ХСН+АГ<0,001
ОНМК, n (%)	0	1 (2,5)	8 (20,0)	<0,001* р контроль-ХСН+АГ=0,040 р АГ-ХСН+АГ=0,040
COVID-19 в анамнезе, n (%)	6 (22,2)	5 (12,5)	6 (15,0)	0,555

Примечания: * - различия показателей статистически значимы ($p < 0,05$). n — абсолютное число больных.

COVID-19 – новая коронавирусная инфекция, АГ – артериальная гипертензия, БЦА – брахиоцефальные артерии, НТГ – нарушение толерантности к глюкозе, ОНМК – острое нарушение мозгового кровообращения, СД – сахарный диабет, ФП – фибрилляция предсердий, ХБП – хроническая болезнь почек, ХСН – хроническая сердечная недостаточность.

Пациенты группы АГ и пациенты группы ХСН+АГ были сопоставимы по наличию дислипидемии, нарушения толерантности к глюкозе (НТГ) или СД, доказанного атеросклероза БЦА, ХБП и различались по количеству пациентов с ожирением, гиперурикемией, ОНМК и фибрилляцией предсердий (ФП), которые были более распространены в группе ХСН+АГ (таблица 2).

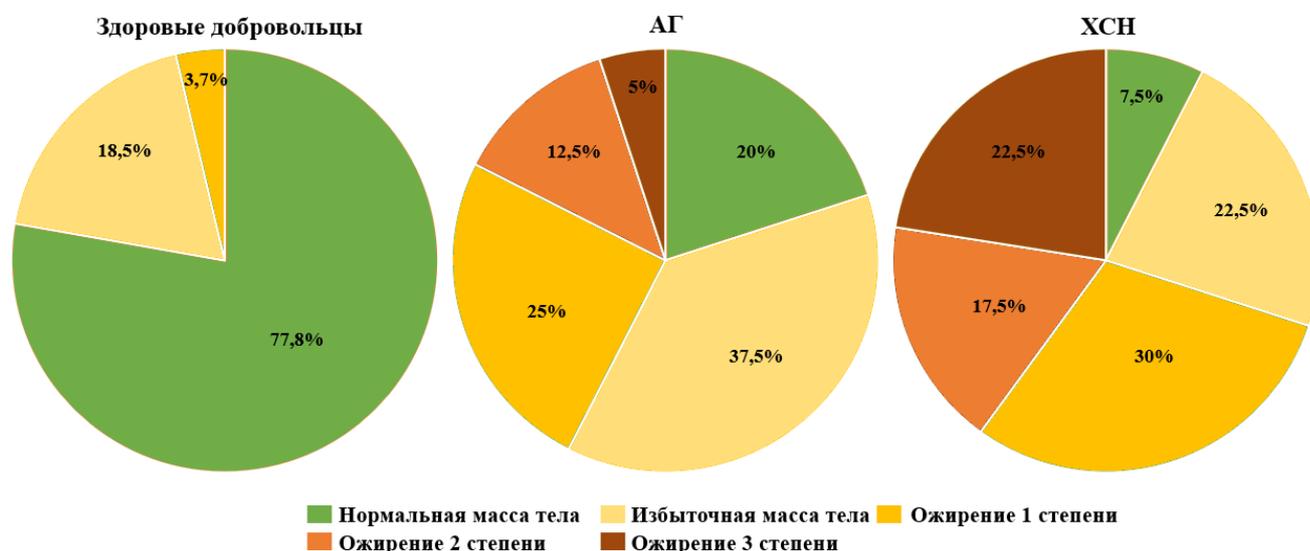


COVID-19 – новая коронавирусная инфекция, АГ – артериальная гипертензия, БЦА – брахиоцефальные артерии, НТГ – нарушение толерантности к глюкозе, ОНМК – острое нарушение мозгового кровообращения, СКФ – скорость клубочковой фильтрации, СД – сахарный диабет, ФП – фибрилляция предсердий, ХБП – хроническая болезнь почек, ХСН – хроническая сердечная недостаточность. р – различия показателей при сравнении трех групп.

Рисунок 9 – Распространенность факторов риска, сопутствующих состояний и поражения органов-мишеней у пациентов основной группы, группы сравнения и группы контроля

Распространенность факторов риска непосредственно в группе пациентов с СН была следующей: дислипидемия была выявлена у большинства участников исследования (95%), гиперурикемии в 50% случаев. Структура заболеваемости в группе пациентов с СН была следующей: ожирением страдали – 70% пациентов (более половины случаев приходилось на ожирение 2 и 3 степени), при этом

избыточная масса тела наблюдалась у 21,5% пациентов, НТГ или СД - практически у половины пациентов, атеросклероз брахицефальных артерий (БЦА) был выявлен у 35%, ФП и ХБП представленная, преимущественно 3а (76,2%) стадией (36 (23,8%)) – у более чем 50% (таблица 2, рисунок 9,10).



АГ – артериальная гипертензия, ХСН – хроническая сердечная недостаточность.

Рисунок 10 – Распределение степени ожирения в исследуемых группах

Все пациенты группы ХСН+АГ были декомпенсированы на момент включения в исследование. Группа пациентов с АГ была сопоставима с группой пациентов с СН по количеству жалоб на ощущение перебоев в работе сердца. Жалобы на одышку при физической нагрузке встречались у пациентов с СН по сравнению с пациентами с АГ в 3 раза чаще, на пастозность или отеки нижних конечностей – в 2 раза чаще, аускультативная картина легких в виде наличия хрипов в нижних отделах – более чем в 2 раза чаще у пациентов с СН (таблица 3).

Все пациенты с СН предъявляли жалобы на быструю утомляемость, слабость, одышку при физической нагрузке, ощущение нехватки воздуха. Пастозность голеней и стоп наблюдалась у 10 (25%) пациентов, тогда как отеки нижних конечностей – у 13 пациентов (32,5%). Жалобы на ощущение перебоев в сердце были выявлены у 60% пациентов. По данным аускультации легких хрипы в нижних отделах выслушивались у 62,5% пациентов (таблица 3). Группа ХСН+АГ

отличалась от группы АГ по наличию жалоб на одышку, по количеству выявленных отеков нижних конечностей и по аускультативной картины легких (таблица 3).

Таблица 3 - Жалобы участников исследования

Жалобы	Группа контроля (n=27)	Группа АГ (n =40)	Группа ХСН+АГ (n = 40)	Критерий p
	Абс. и %	Абс. и %	Абс. и %	
Одышка, n (%)	0 (0)	12 (30,8)	40 (100)	<0,001* p контроль-АГ=0,001 p контроль-ХСН+АГ<0,001 p АГ-ХСН+АГ<0,001
Отеки или пастозность нижних конечностей, n (%)	0 (0)	0 (0)	23 (57,5)	<0,001* p контроль-ХСН+АГ<0,001 p АГ-ХСН+АГ<0,001
Перебои в работе сердца, n (%)	0 (0)	23 (59)	24 (60)	<0,001* p контроль-АГ<0,001 p контроль-ХСН+АГ<0,001
Хрипы в легких, n (%)	0 (0)	0 (0)	25 (62,5)	<0,001* p контроль-ХСН+АГ<0,001 p АГ-ХСН+АГ<0,001

Примечания: * - различия показателей статистически значимы (p<0,05). n - абсолютное число больных.

АГ – артериальная гипертензия, ХСН – хроническая сердечная недостаточность.

Следует отметить, что группа пациентов с СН была представлена двумя фенотипами: СНсФВ – 90% пациентов и 4 пациента с СНусФВ, у которых ФВ была не менее 45% (таблица 4). Половина пациентов по данным теста 6-минутной ходьбы имела II ФК по NYHA – 47,5%, вторая половина представлена пациентами

III ФК (52,5%) (таблица 4). При классификации пациентов по стадиям ХСН наблюдалось следующее распределение: 2а – 80%, 2б – 20% (таблица 4). Определение уровня NT-proBNP проводилось с помощью иммунофлюоресцентного анализа (ИФА) набором, предназначенный для использования в сочетании с анализатором Triage® Meter Pro для количественного определения NT-proBNP в образцах цельной крови и плазмы, защищенных от свертывания с помощью EDTA. В нашем исследовании пациенты с СН статистически значимо отличались от пациентов с АГ без СН по уровню NT-proBNP ($p < 0,001$). В группе ХСН+АГ уровень NT-proBNP в пг/мл составил 968 [295;2695]: у пациентов с ФП – 1658,6 [990,4-3096,2] (таблица 4).

Таблица 4 - Функциональные показатели и лабораторный уровень NT-proBNP группы пациентов ХСН+АГ

Показатели	Группа ХСН+АГ (n = 40)
	Абс. и % или Me и [Q ₁ – Q ₃]
Уровень NT-proBNP, пг/мл	968 [295;2695]
	ФП - 1658,6 [990,4-3096,2]
ФВ, n (%)	≥50% - 36 (90) 40-49% - 4 (10)
ФК по NYHA, n (%)	II ФК – 19 (47,5) III ФК – 21 (52,5)
Стадии ХСН, n (%)	2а стадия – 32 (80)
	2б стадия – 8 (20)

Примечания: * - различия показателей статистически значимы ($p < 0,05$). n — абсолютное число больных.

ФК – функциональный класс, ХСН – хроническая сердечная недостаточность.

На момент включения в исследование пациенты с СН находились на терапии ингибиторами ангиотензинпревращающего фермента (иАПФ) или блокаторами рецепторов ангиотензина II (БРА) – 100%, бета-адреноблокаторами (БАБ) – 82,5%, получали диуретики 72,5% (из них 34,5% - получали тиазидные и тиазидоподобные, а 65,5% - петлевые диуретики), антагонисты минералокортикоидных рецепторов (АМКР) - 60%, блокаторы кальциевых каналов (БКК) получало 37,5% (таблица 5). В группе

сравнения 6 (15%) пациентов получали монотерапию иАПФ и 85% находились на комбинированной антигипертензивной терапии. На момент включения в исследование статины принимали 55% пациентов группы ХСН+АГ и 65% пациентов группы АГ соответственно; гиполипидемическую терапию по поводу сахарного диабета – 32,5% и 17,5%, соответственно. 60% пациентов с СН и 30% пациентов с АГ принимали антикоагулянты по поводу ФП.

Таблица 5 - Исходная терапия пациентов группы АГ и группы ХСН+АГ

Лекарственный препарат	Группа АГ (n=40)	Группа ХСН+АГ (n=40)	Критерий p
	Абс. и %	Абс. и %	
иАПФ	30 (75)	21(52,5)	0,036
БРА	10 (25)	19 (47,5)	0,036
БАБ	22 (55)	33(82,5)	0,008
БКК	16 (40)	15 (37,5)	0,648
АМКР	0 (0)	24 (60)	<0,001
Диуретики	18 (45)	29(72,5)	0,012
Статины	26 (65)	22 (55)	0,361
Гипогликемические средства	7(17,5)	13(32,5)	0,121
НОАК	12 (30)	24 (60)	0,004

АГ – артериальная гипертензия, АМКР – антагонисты минералокортикоидных рецепторов, АРА – антагонисты рецептора ангиотензина, БАБ – бета-адреноблокаторы, БКК – блокаторы кальциевых каналов, иАПФ – ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента, НОАК- новые оральные антикоагулянты, ХСН – хроническая сердечная недостаточность.

Следует отметить, что пациенты группы АГ и группы ХСН+АГ различались по получаемой терапии, так в исследовании были выявлены достоверные различия в приеме иАПФ (p=0,036), БРА (p=0,036), БАБ (p=0,008), диуретиков (p=0,012), АМКР, антикоагулянтов (p=0,004). Однако, несмотря на проводимую терапию, в группе ХСН+АГ среди пациентов с дислипидемией только у 8% были достигнуты целевые уровни ЛПНП, а целевые уровни цифр АД у 35%, в то время как в группе АГ все пациенты имели нецелевые уровни показателей липидного профиля и 75% нецелевые уровни цифр АД.

2.3. Лабораторно-инструментальные методы обследования

Всем участникам исследования проведено обследование: выполнен общий анализ крови (гемоглобин, эритроциты, лейкоциты, тромбоциты, скорость оседания эритроцитов (СОЭ)), биохимический анализ крови (глюкоза, липидный спектр, креатинин, мочевая кислота, КФК, аспартатаминотрансфераза (АСТ), аланинаминотрансфераза (АЛТ), общий билирубин, общий белок, альбумин, С-реактивный белок (СРБ), коагулограмма (фибриноген), проводилось определение уровня тиреотропного гормона (ТТГ), проверялось наличие протеинурии и глюкозурии у пациентов в общем анализе мочи.

Реагенты «ADVIA» и биохимический анализатор ADVIA® 2400 производителя Siemens Healthcare Diagnostics® были использованы для проведения рутинного биохимического анализа. Забор крови для оценки уровня биохимических показателей производился в вакуумные пробирки с активатором свертывания Improvacuter 5 мл, а для оценки уровня ТТГ – в вакуумные пробирки с активатором свертывания и гелем Lind-Vac 5 мл. Показатели липидного спектра, мочевая кислота определялись колориметрическим методом, уровень креатинина – кинетическим методом, уровень глюкозы венозной плазмы натощак – гексокиназным методом, а уровень ТТГ – методом иммуноферментного анализа. Нарушение толерантности к глюкозе выявлялось при проведении перорального глюкозотолерантного теста (ПГТТ) при концентрации глюкозы в венозной плазме более 7,8, но менее 11,1 ммоль/л, а сахарный диабет – при повышении уровня глюкозы более 7,0 ммоль/л натощак и более 11,1 ммоль/л при ПГТТ.

Участники исследования трех групп различались по показателям липидного профиля, уровню глюкозы и мочевой кислоты, воспалительным показателям (таблица 6).

Таблица 6 – Лабораторные данные участников исследования

Лабораторные показатели	Норма	Группа контроля (n=27)	АГ (n=40)	ХСН + АГ (n=40)	Критерий p
		М ± SD Ме и [Q ₁ – Q ₃]	М ± SD Ме и [Q ₁ – Q ₃]	М ± SD Ме и [Q ₁ – Q ₃]	
Гемоглобин, г/л	117-160	141 ± 14	143 ± 12	133 ± 15	0,004* p АГ-ХСН+АГ=0,004
СОЭ, мм/час	1-20	8 [6-9]	11 [8-15]	15 [10-20]	<0,001* p контроль-АГ=0,032 p контроль-ХСН+АГ<0,001
Фибриноген, г/л	1,8-4,0	2,91 [2,53-3,10]	3,62 [3,14-4,51]	3,82 [3,16-4,45]	<0,001* p контроль-АГ<0,001 p контроль-ХСН+АГ<0,001
СРБ, мг/л	0-5	2,0 [0,8-4,0]	1,7 [0,4-3,0]	2,65 [1,54-7,02]	0,033* p АГ-ХСН+АГ=0,037
Глюкоза, ммоль/л	<5,9	4,9 [4,7-5,3]	5,5 [5,2-6,3]	5,6 [5,1-6,7]	<0,001* p контроль-АГ<0,001 p контроль-ХСН+АГ<0,001
Общий холестерин, ммоль/л	<5,6	5,2 ± 0,9	5,5 ± 1,2	4,7 ± 1,4	0,024* p АГ-ХСН+АГ=0,019
ЛПНП, ммоль/л	<4,2	3,2 ± 0,9	3,3 ± 1,0	3,0 ± 1,2	0,397
ЛПОНП, ммоль/л	<0,77	0,47 [0,31-0,61]	0,64 [0,44-0,84]	0,66 [0,50-0,89]	0,012* p контроль-АГ=0,035 p контроль-ХСН+АГ=0,014
Триглицериды, ммоль/л	<1,7	0,88 [0,67-1,22]	1,40 [0,96-1,84]	1,48 [1,07-1,95]	0,002* p контроль-АГ=0,007 p контроль-ХСН+АГ=0,002

Продолжение таблицы 6

ЛПВП, ммоль/л	<1,56	1,57 [1,23- 1,8]	1,45 [1,22- 1,72]	1,05 [0,88- 1,46]	<0,001* р контроль- ХСН+АГ=0,001 р АГ- ХСН+АГ=0,004
Мочевая кислота, мкмоль/л	<415	261 [223- 358]	325 [282- 378]	378 [315- 454]	<0,001* р контроль- ХСН+АГ<0,001
Калий, ммоль/л	3,5-5,1	4,6 [4,4-5,0]	4,7 [4,4- 5,0]	4,6 [4,4- 5,1]	0,906
Натрий, ммоль/л	136- 145	143 [142- 146]	144 [142- 145]	142 [140- 144]	0,086
Общий белок, г/л	66-83	72 ± 4	71 ± 4	70 ± 5	0,340
Альбумин, г/л	35-52	47 ± 3	45 ± 2	42 ± 4	<0,001* р контроль- АГ=0,036 р контроль- ХСН+АГ<0,001 р АГ- ХСН+АГ=0,016
Креатинин, мкмоль/л	<115	87,5 [79,8- 102,0]	93,9 [83,3- 104,5]	93,5 [81,9- 105,4]	0,406
СКФ, мл/мин/1,73м ²	>90	83 ± 11	69 ± 13	61 ± 15	<0,001* р контроль- АГ<0,001 р контроль- ХСН+АГ<0,001 р АГ- ХСН+АГ=0,025
ТТГ, мкМЕ/мл	0,4-4,0	2,0 [1,4-3,0]	1,8 [1,3- 2,9]	2,6 [2,1- 3,5]	0,096

Примечания: * - различия показателей статистически значимы ($p < 0,05$). Me [Q1; Q3] — медиана и квантили, $M \pm SD$ — среднее \pm стандартное отклонение.

АГ – артериальная гипертензия, ЛПВП – липопротеиды высокой плотности, ЛПНП – липопротеиды низкой плотности, ЛПОНП – липопротеиды очень низкой плотности, СКФ – скорость клубочковой фильтрации, СОЭ – скорость оседания эритроцитов, СРБ – С-реактивный белок, ТТГ – тиреотропный гормон, ХСН – хроническая сердечная недостаточность.

Так пациенты групп с ССЗ отличались от группы контроля более высокими уровнями липопротеидов очень низкой плотности (ЛПОНП), триглицеридов, глюкозы, фибриногена, скорости оседания эритроцитов (СОЭ), а пациенты с СН имели более высокие уровни лейкоцитов, мочевой кислоты и более низкие - липопротеиды высокой плотности (ЛПВП), общего холестерина. Следует отметить, что несмотря на полученные различия, в группа ХСН+АГ воспалительные показатели были в пределах нормальных значений.

2.4. Инструментальная характеристика пациентов основной группы и группы сравнения

Всем пациентам с АГ групп АГ и ХСН+АГ для оценки поражения органов-мишеней выполнялись ЭКГ с использованием портативного медицинского оборудования Spacelabs (система Хеллиге, Германия), УЗИ почек и БЦА, проводился осмотр глазного дна. УЗИ почек проводилось на ультразвуковом аппарате GE Vivid 7 Pro. Наличие признаков атеросклеротического поражения БЦА верифицировалось с помощью проведения ультразвукового доплерографического исследования (УЗДГ) магистральных артерий головы на ультразвуковом аппарате GE Vivid 7 Pro. Также были проведены суточное мониторирование АД и ЭКГ проводилось с использованием портативного медицинского оборудования Spacelabs (система Хеллиге, Германия), была выполнена рентгенография органов грудной клетки.

На момент включения в исследование синусовый ритм регистрировался на ЭКГ у 85% пациентов с АГ и у 75% пациентов с СН. При сравнении пациентов группы ХСН+АГ с пациентами группы АГ отмечалось увеличение ЧСС в основной группе ($p=0,003$: $p_{\text{АГ-ХСН+АГ}} = 0,002$). По наличию ГЛЖ согласно индексу Соколова-Лайона более 35 мм группы АГ (20%) и ХСН+АГ (25%) были сопоставимы и различались только с группой контроля ($p=0,022$: $p_{\text{Контроль-АГ}} = 0,027$; $p_{\text{Контроль-ХСН+АГ}} = 0,015$).

Для исключения наличия ИБС всем пациентам проводилась визуализация и оценка степени поражения коронарных артерий (КА) с помощью коронароангиографии (КАГ) или мультиспиральной компьютерной томографии (МСКТ), в зависимости от предтестовой вероятности (ПТВ) ИБС, которая рассчитывалась с помощью шкалы CADConsortium. При ПТВ ИБС 15-85% выполнялась МСКТ на компьютерном томографе Canon Medical Systems, Aquilion ONE, а у пациентов с ПТВ более 85% – КАГ на ангиографической системе GE Innova 2100IQ.

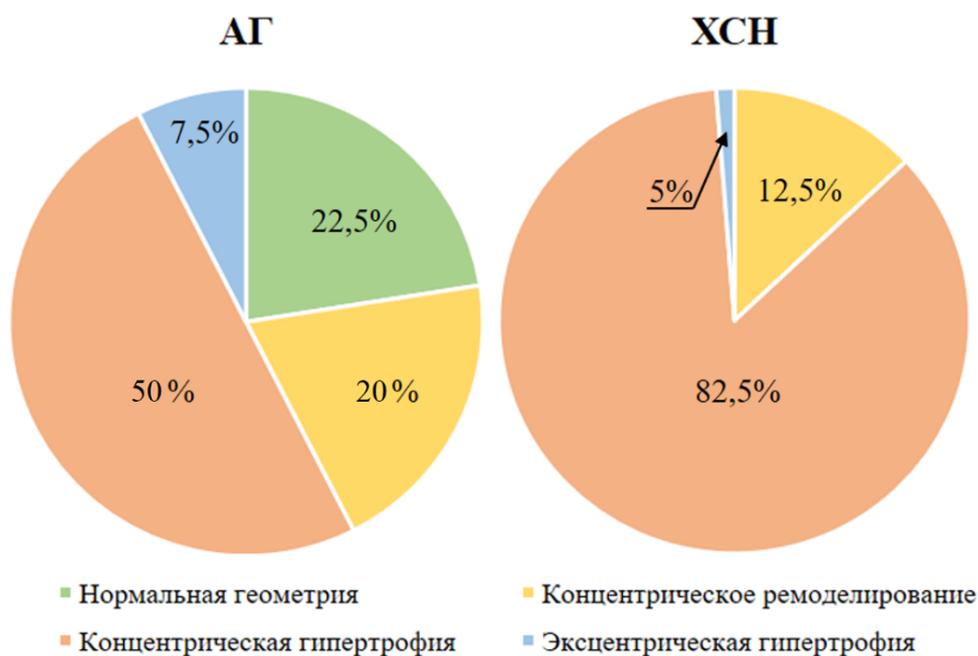
Всем пациентам было выполнено УЗДГ БЦА, осмотр глазного дна, по результатам которых группы АГ и ХСН+АГ были сопоставимы (таблица 2).

ЭХО-КГ проводилась с использованием метода двумерной эхокардиографии в режимах М и В, импульсной и непрерывной доплерографии в положении лежа с помощью эхокардиографа Vivid7 Dimension/Vivid 7 PRO версии 6.0.x (GE, Германия). С помощью ЭхоКГ были оценены следующие измерения: толщина межжелудочковой перегородки (МЖП) и задней стенки (ЗС), конечно-диастолический размер (КРД), объем левого предсердия (ОЛП) и правого предсердия (ОПП), ФВ ЛЖ, СДЛА. Диастолическая функция оценивалась с помощью септальной скорости фиброзного кольца митрального клапана (МК) (e' септ.), латеральной скорости фиброзного кольца МК (e' латер.), отношения максимальных скоростей раннего наполнения трансмитрального кровотока и движения фиброзного кольца МК в раннюю диастолу (E/e'), скорости трансмитрального потока в раннюю диастолу (E , см/с), отношения показателей трансмитрального потока в фазу раннего и позднего диастолического наполнения ЛЖ (E/A). Во время проведения ЭхоКГ также были рассчитаны следующие параметры: индекс объема левого предсердия (ИОЛП), относительная толщина стенки (ОТС), масса миокарда ЛЖ (ММЛЖ) и индекса ММЛЖ (ИММЛЖ).



ИММЛЖ – индекс массы миокарда левого желудочка, ОТС – относительная толщина стенки левого желудочка.

Рисунок 11 - Типы ремоделирования миокарда



АГ – артериальная гипертензия, ХСН – хроническая сердечная недостаточность.

Рисунок 12 – Распределение по типам ремоделирования миокарда в группах АГ и ХСН+АГ

Для классификации участников исследования по типам ремоделирования миокарда ЛЖ (концентрическая и эксцентрическая гипертрофия ЛЖ, концентрическое ремоделирование ЛЖ и нормальная геометрия ЛЖ) использовались показатели ИММЛЖ и ОТС (рисунок 11). Основываясь на полученные результаты, группы ремоделирования в основной исследуемой группе распределились следующим образом: пациенты с концентрическим ремоделированием ЛЖ – 5 (12,5%), пациенты с концентрической ГЛЖ - 33 (82,5%), и пациенты с эксцентрической ГЛЖ – 2 (5%). В группе сравнения было продемонстрировано аналогичное соотношение (20%, 50% и 7,5%, соответственно). Среди участников исследования преобладали пациенты с концентрической ГЛЖ, что как раз и характерно для пациентов с АГ (рисунок 12).

Таблица 7 - Сравнительная характеристика параметров ЭхоКГ у мужчин и женщин группы АГ и ХСН с группой АГ

Параметры	Норма	Группа контроля (n=27)	Группа АГ (n=40)	Группа ХСН+АГ (n=40)	Критерий p
		М ± SD Ме и [Q ₁ – Q ₃]	М ± SD Ме и [Q ₁ – Q ₃]	М ± SD Ме и [Q ₁ – Q ₃]	
ЗС ЛЖ, см	≤1,0 (м) ≤0,9 (ж)	0,8 [0,7-1,0] 0,8 [0,7-0,8]	1,2 [1,0-1,2] 1,1 [1,0-1,2]	1,2 [1,1-1,3] 1,2 [1,1-1,3]	<0,001* p контроль-АГ<0,001 p контроль-ХСН+АГ<0,001 p АГ-ХСН+АГ=0,014
МЖП, см	≤1,0 (м) ≤0,9 (ж)	0,8 [0,7-0,9] 0,7 [0,6-0,8]	1,2[1,0-1,3] 1,0 [0,9-1,2]	1,3 [1,2-1,5] 1,2 [1,2-1,3]	<0,001* p контроль-АГ<0,001 p контроль-ХСН+АГ<0,001 p АГ-ХСН+АГ<0,001

Продолжение таблицы 7

КДР, см	<5,0	4,5 [4,2-4,7]	4,8 [4,6-5,1]	4,9[4,7-5,1]	<0,001* р контроль- АГ<0,001 р контроль- ХСН+АГ <0,001
ОТС ЛЖ	<0,42	0,35 ± 0,04	0,44 ± 0,07	0,51 ± 0,08	<0,001* р контроль- АГ<0,001 р контроль- ХСН+АГ <0,001 р АГ- ХСН+АГ =0,002
ММЛЖ, г	<224 (м) <162 (ж)	118 [113- 153] 97 [90-105]	216 [164- 268] 176 [148- 205]	257 [221- 279] 221 [186- 251]	<0,001* р контроль- АГ<0,001 р контроль- ХСН+АГ <0,001 р АГ- ХСН+АГ =0,003
ИММЛЖ, г/м ²	<115 (м) <95 (ж)	68 [57-73] 58 [54-65]	119 [78;144] 105 [89;119]	142 [115;160] 127 [112;144]	<0,001* р контроль- АГ<0,001 р контроль- ХСН+АГ <0,001 р АГ- ХСН+АГ =0,006
КДО, мл	<154	75 [68-82]	92 [81-108]	97 [86-113]	<0,001* р контроль- АГ<0,001 р контроль- ХСН+АГ <0,001

Продолжение таблицы 7

КСО, мл	<54	28 ± 6	37 ± 8	44 ± 12	<0,001* р контроль- АГ<0,001 р контроль- ХСН+АГ <0,001 р АГ- ХСН+АГ =0,010
ФВ, %	>50	63 [61-66]	60 [57-63]	56 [51-61]	<0,001* р контроль- АГ=0,008 р контроль- ХСН+АГ <0,001 р АГ- ХСН+АГ =0,008
Е, см/с	70-100	74 ± 12	66 ± 11	64 ± 15	0,129
е' септ.	>8	12 [9-16]	8 [6-8]	6 [4-6]	<0,001* р контроль- АГ<0,001 р контроль- ХСН+АГ <0,001 р АГ- ХСН+АГ =0,013
е' латер.	>10	15,0 ± 2,4	10,2 ± 2,8	6,8 ± 1,3	<0,001* р контроль- АГ<0,001 р контроль- ХСН+АГ <0,001 р АГ- ХСН+АГ <0,001

Продолжение таблицы 7

E/A	>0,8	1,6 [1,5-1,8]	0,9 [0,7-1,2]	0,7 [0,6-0,8]	<0,001* p контроль- АГ<0,001 p контроль- ХСН+АГ <0,001 p АГ- ХСН+АГ =0,050
E/e'	≤8	6,2 ± 1,5	8,8 ± 2,6	11,6 ± 2,3	<0,001* p контроль- АГ<0,001 p контроль- ХСН+АГ <0,001 p АГ- ХСН+АГ =0,004
ОЛП, мл	≤58 (м) ≤52 (ж)	41 [39-42] 34 [28-40]	55 [45-76] 52 [43-60]	89 [67-103] 67 [58-74]	<0,001* p контроль- АГ<0,001 p контроль- ХСН+АГ <0,001 p АГ- ХСН+АГ =0,001
ИОЛП, мл/м ²	<29	20 [19-24]	29 [24-33]	35 [29-43]	<0,001* p контроль- АГ<0,001 p контроль- ХСН+АГ <0,001 p АГ- ХСН+АГ =0,001
ОПШ, мл	≤58 (м) ≤52 (ж)	38 [36-41] 30 [27-35]	46 [42-59] 46 [39-56]	70 [54-85] 47 [40-56]	<0,001* p контроль- АГ<0,001 p контроль- ХСН+АГ <0,001

Продолжение таблицы 7

СДЛА, мм рт.ст.	<30	24 [20-26]	24 [21-27]	29 [25-37]	<0,001* р контроль- ХСН+АГ =0,005 р АГ- ХСН+АГ =0,005
-----------------	-----	------------	------------	------------	---

Примечания: * - различия показателей статистически значимы ($p < 0,05$). Me [Q1-Q3] — медиана и квантили, $M \pm SD$ — среднее \pm стандартное отклонение, м - мужской пол, ж - женский пол.

e' септ. - септальная скорость фиброзного кольца митрального клапана, e' латер. - латеральная скорость фиброзного кольца митрального клапана, E - скорость трансмитрального потока в раннюю диастолу, E/e' - отношение максимальных скоростей раннего наполнения трансмитрального кровотока и движения фиброзного кольца митрального клапана в раннюю диастолу, E/A - отношение скоростей раннего (E) и позднего (A) наполнения левого желудочка, АГ - артериальная гипертензия, ЗСЛЖ - задняя стенка левого желудочка, ИММЛЖ - индекс массы миокарда левого желудочка, ИОЛП - индекс объема левого предсердия, КДО - конечно-диастолический объем, КДР - конечно-диастолический размер, КСО - конечно-систолический объем, МЖП - межжелудочковая перегородка, ММЛЖ - масса миокарда левого желудочка, ОЛП - объем левого предсердия, ОПП - объем правого предсердия, ОТС - относительная толщина стенки левого желудочка, СДЛА - систолическое давление в легочной артерии, ФВ - фракция выброса.

При проведении ЭхоКГ с доплерографией у всех пациентов с СН была выявлена ГЛЖ (100%) и диастолическая дисфункция (100%), дилатация левого предсердия - у 35 пациентов (87,5%), а дилатация правого предсердия - у 16 (40%), у всех пациентов ФВ была не менее 45%, а СДЛА было повышено - у 18 (45%) (таблица 7). Наша группа ХСН+АГ была представлена классическим вариантом СН в основном с сохраненной ФВ с преобладающим типом ремоделирования миокарда - концентрической гипертрофией.

Наличие застоя по малому кругу кровообращения (МКК) с помощью рентгенографии органов грудной клетки в виде полнокровных сосудов, обеднение рисунка на периферии, расширение границ сердца, преимущественно за счёт левых отделов было подтверждено у 15 (37,5%) пациентов группы ХСН+АГ, которая

статистически значимо отличалась от группы АГ и здоровых добровольцев ($p < 0,001$).

2.5. Исследование метаболомного профиля

2.5.1. Забор крови и пробоподготовка для последующего определения метаболитов

У всех участников исследования между 08:00 и 09:00 утра были взяты образцы крови из вены после ночного голодания в пробирки, содержащие дегидратдикалиевой соли этилендиаминтетрауксусной кислоты в первые дни госпитализации декомпенсированных пациентов, а здоровым добровольцам сразу после включения в исследования. Образцы центрифугировали при 2000 об/мин в течение 20 минут и полученную плазму крови хранили при $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ до проведения анализа.

Все пациенты были проинформированы, что за три дня до взятия крови нельзя было изменять характер питания, необходимо было исключить прием витаминов и биологически активных добавок. Кроме прочего, стоит отметить, что пациентов, придерживающихся вегетарианской диеты в исследовании не было.

2.5.2. Целевое метаболомное профилирование

Количественный целевой анализ метаболитов был выполнен с помощью с использованием ВЭЖК в сочетании с масс-спектрометром высокого разрешения. По разработанным методикам в пробах были измерены уровни концентраций аминокислот, ацилкарнитинов и некоторых других метаболитов. Содержание циркулирующих метаболитов в плазме анализировали с использованием системы ВЭЖХ Waters Acquity I, соединенной с тройным квадрупольным масс-спектрометром Waters TQ-S-micro (Waters Corp, Милфорд, США). Обработка

полученных данных проводилась с использованием программного обеспечения Target Lynx (Уотерс, Массачусетс, США). Метод прошел валидацию по показателям селективности, линейности, правильности и прецизионности, степени извлечения, эффекту матрицы и стабильности в соответствии с рекомендациями FDA США и ЕМА по валидации биоаналитических методов (ЕМА, 2019; USFDA, 2018). Идентификация метаболитов проводилась при помощи библиотеки масс-спектральной информации Golm Metabolome Database. Все определение метаболомного профиля проводилось в Лаборатория фармакокинетики и метаболомного анализа Института трансляционной медицины и биотехнологии Научно-технического парка биомедицины ФГАУО ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

2.6. Методы статистической обработки

Статистическая обработка полученных данных проводилась при помощи программы Statistica 10.0 (StatSoft Inc., США) и StatTech v. 3.0.5 (ООО "Статтех", Россия). Для описательной статистики нормального распределения количественных показателей использовались средние арифметические (M) и стандартные отклонения (SD), для отличного от нормального - медиана (Me) и нижние и верхние квартили [Q1-Q3], качественные показатели представлены в абсолютных числах (n) и процентах (%). Тип распределения количественных показателей оценивался с помощью критерия Шапиро-Уилка, так как число участников исследования в каждой группе не превышало 50 исследуемых. Для выявления различий между тремя группами по количественному показателю, характеризовавшемуся нормальным распределением, проводился однофакторный дисперсионный анализ, а для проведения апостериорных сравнений использовались критерии Уэлча (при неравных дисперсиях) и Фишера (при условии равенства дисперсий). Для сравнения количественных показателей трех групп, распределение которого отличалось от нормального, использовался непараметрический критерий Краскела-Уоллиса. При выявлении статистически

значимых различий проводилось дальнейшее апостериорное попарное сравнение групп с помощью критерия Данна с поправкой Холма. Для сравнения категориальных переменных трех независимых групп применялся хи-квадрат Пирсона. При нормальном распределении количественных показателей в двух сравниваемых группах при условии равенства дисперсий выполнялось с помощью t-критерия Стьюдента, при неравных - с помощью t-критерия Уэлча. В случае, если распределение количественных показателей в двух сравниваемых группах отличалось от нормального использовался U-критерий Манна-Уитни. Для оценки коэффициента корреляции между двумя количественными показателями применялся коэффициент корреляции Пирсона (при нормальном распределении показателей) или коэффициент корреляции Спирмена (при распределении, отличном от нормального). Шкала Чеддока использовалась для оценки силы связи: 0-0,3 – очень слабая связь, 0,3-0,5 – слабая, 0,5-0,7 – средняя, 0,7-0,9 – высокая, 0,9-1 – очень высокая. При отрицательной корреляции значения силы связи между переменными менялись на противоположные. Прогностическая модель, характеризующая зависимость количественной переменной от факторов, разрабатывалась с помощью метода линейной регрессии.

Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1. Оценка целевого метаболомного профиля

В исследовании было проведено целевое метаболомное профилирование пациентов с ХСН +АГ (n=40), пациентов с АГ (n=40), а также группы контроля без признаков ССЗ (n=27). Нами был проведен целевой метаболомный анализ полученных образцов по 72 различным метаболитам. Полученные данные были проанализированы с использованием метода главных компонент (РСА), пересечение областей метаболомных профилей, характерных для каждой исследуемой группы, позволило провести дальнейшее сравнение исследуемых групп с помощью метода дискриминантного ортогонального анализа (ОPLSDA), в результате которого пересечение областей продемонстрировало метаболиты, концентрации которых сопоставимы в группах (рисунок 13, 14).

Благодаря проведенному анализу удалось обнаружить компоненты, позволяющие разделить исследуемых на три группы, и продемонстрировать различия метаболомных профилей группы ХСН+АГ, группы АГ и здоровых добровольцев.

Из выявленных классов соединений преобладали аминокислоты и жирные кислоты. В результате проведенного целевого метаболомного анализа были выявлены статистически значимые различия ($p < 0,05$) между метаболомными профилями плазмы крови группы ХСН+АГ, группы АГ и группы контроля по 43 соединениям и 4 соотношениям. По 34 метаболитам значимых различий выявлено не было, что может быть связано с меньшей вовлеченностью в патогенез ССЗ, либо с приемом длительной лекарственной терапии пациентами групп АГ и ХСН+АГ.

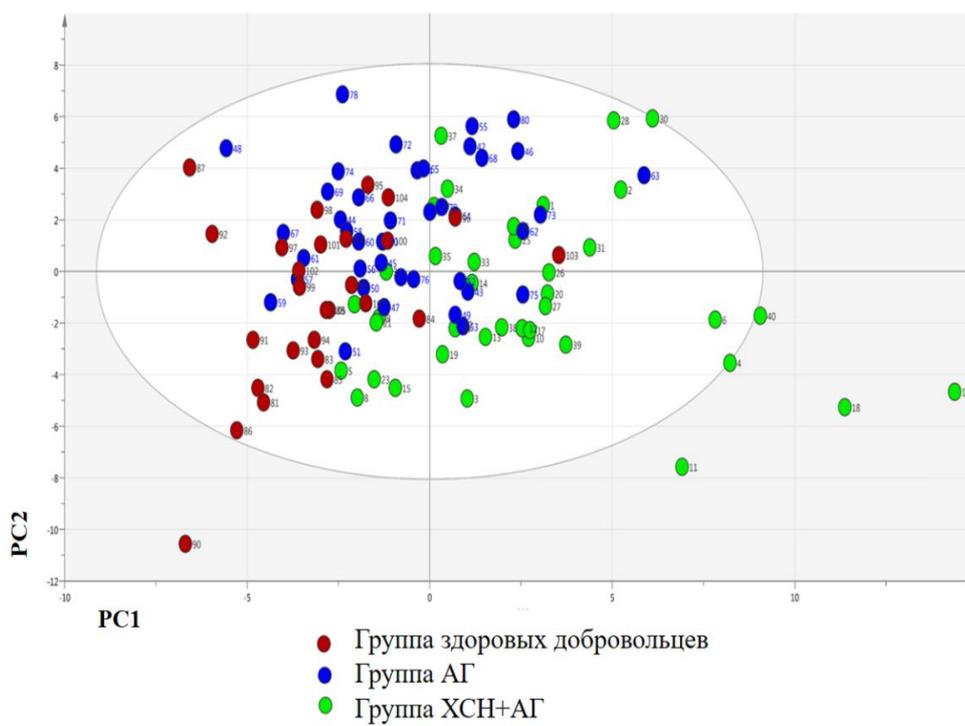


Рисунок 13 - Распределение групп пациентов с помощью PCA

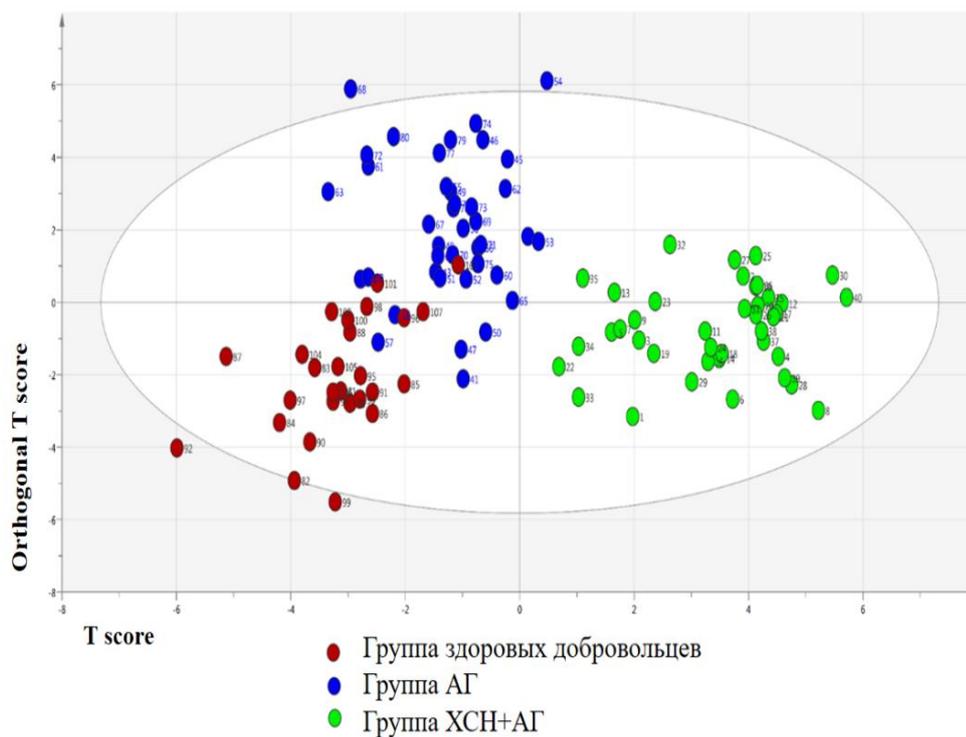


Рисунок 14 - Распределение групп пациентов с помощью OPLS-DA по группам

При ССЗ происходит нарушение окисления жирных кислот и как следствие повышение уровня циркулирующих ацилкарнитинов. Согласно полученным данным в нашем исследовании, для пациентов с АГ было характерно значимое повышение уровня не только свободного карнитина (C0), но и уровней коротко-, средне- и длинноцепочечных ацилкарнитинов (C4, C5, C5:1, C6DC, C10:2, C16, C16OH, C18:1) (таблица 8).

Таблица 8 - Концентрации ацилкарнитинов (мкМ) в группе пациентов с ХСН+АГ, группе с АГ и группе контроля

Метаболиты	Условное обозначение	Класс	Группа контроля (n=27)	Группа АГ (n=40)	Группа ХСН+АГ (n=40)	Критерий p
			Me и [Q ₁ – Q ₃]	Me и [Q ₁ – Q ₃]	Me и [Q ₁ – Q ₃]	
Л-карнитин	C0	Non-esterified	62,5 [40,4-106,5]	105,5 [66,0 – 182,8]	81,2 [52,6 – 110,3]	0,015* P _{контроль-АГ} = 0,013
Ацетилкарнитин	C2	Short - chain	12,5 [10,7-15,6]	20,4 [11,1 – 25,8]	13,3 [10,0–19,7]	0,070
Пропионилкарнитин	C3	Short - chain	0,52 [0,35-0,61]	0,640 [0,48 – 0,81]	0,591 [0,392 – 0,844]	0,139
Бутирилкарнитин	C4	Short-chain	0,092 [0,058-0,125]	0,163 [0,129 – 0,218]	0,142 [0,103 – 0,205]	<0,001* P _{контроль-АГ} <0,001 P _{контроль-ХСН+АГ} = 0,010
Изовалерилкарнитин	C5	Short-chain	0,035 [0,026-0,054]	0,074 [0,054 – 0,104]	0,059 [0,039 – 0,082]	<0,001* P _{контроль-АГ} <0,001 P _{контроль-ХСН+АГ} = 0,002
Тиглилкарнитин	C5:1	Short-chain	0,007 [0,006-0,015]	0,016 [0,009 – 0,018]	0,009 [0,007 – 0,013]	<0,001* P _{контроль-АГ} <0,001 P _{АГ-ХСН+АГ} <0,001

Продолжение таблицы 8

Глутарилкарнитин	C5DC	Short-chain	0,083 [0,066-0,110]	0,080 [0,062 – 0,102]	0,071 [0,055 – 0,104]	0,364
3-Гидроксиизовалерилкарнитин	C5OH	Short-chain	0,004 [0,003-0,006]	0,004 [0,003 – 0,005]	0,004 [0,003 – 0,005]	0,122
Гексаноилкарнитин	C6	Medium-chain	0,043 [0,027-0,059]	0,054 [0,035 – 0,076]	0,054 [0,037 – 0,068]	0,196
Адепоилкарнитин	C6DC	Medium-chain	0,005 [0,003-0,007]	0,010 [0,007 – 0,016]	0,013 [0,009 – 0,024]	<0,001* P_{контроль-АГ}<0,001 P_{контроль-ХСН+АГ}<0,001
Октаноилкарнитин	C8	Medium-chain	0,145 [0,102-0,224]	0,153 [0,105 – 0,231]	0,136 [0,095 – 0,189]	0,422
Октеноилкарнитин	C8:1	Medium-chain	0,019 [0,013-0,024]	0,023 [0,014 – 0,031]	0,018 [0,015 – 0,026]	0,337
Деканоилкарнитин	C10	Medium-chain	0,268 [0,175-0,405]	0,253 [0,182 – 0,382]	0,210 [0,160 – 0,304]	0,337
Деценоилкарнитин	C10:1	Medium-chain	0,187 [0,110-0,235]	0,173 [0,132 – 0,267]	0,189 [0,131 – 0,224]	0,342
Декадиеноилкарнитин	C10:2	Medium-chain	0,009 [0,006-0,011]	0,011 [0,008 – 0,017]	0,012 [0,008 – 0,015]	0,007* P_{контроль-АГ}=0,009 P_{контроль-ХСН+АГ}=0,023
Додеcanoилкарнитин	C12	Medium-chain	0,060 [0,038-0,093]	0,065 [0,046 – 0,084]	0,059 [0,042 – 0,076]	0,662
Додеценоилкарнитин	C12:1	Medium-chain	0,030 [0,023-0,042]	0,036 [0,027 – 0,053]	0,033 [0,028 – 0,048]	0,252
Тетрадеканoilкарнитин	C14	Long-chain	0,018 [0,016-0,020]	0,023 [0,017 – 0,027]	0,021 [0,017 – 0,028]	0,087

Продолжение таблицы 8

Тетрадецен оил	C14:1	Long- chain	0,034 [0,025- 0,051]	0,039 [0,028 – 0,054]	0,040 [0,031 – 0,052]	0,869
Тетрадекад иеноилкарн итин	C14:2	Long- chain	0,022 [0,013- 0,031]	0,020 [0,013 – 0,030]	0,022 [0,016 – 0,029]	0,928
3- Гидроксиге ксадекадиен оилкарнити н	C14OH	Long- chain	0,0005 [0,0002- 0,0008]	0,0004 [0,0002 – 0,0006]	0,0003 [0,0002 – 0,0006]	0,386
Гексадекан оилкарнит ин	C16	Long- chain	0,070 [0,061- 0,082]	0,091 [0,078 – 0,100]	0,087 [0,069 – 0,111]	<0,001* P_{контроль- АГ}<0,001 P_{контроль- ХСН+АГ}<0,001
Гексадецен оилкарнит ин	C16:1	Long- chain	0,0134 [0,0084- 0,0164]	0,0159 [0,0113 – 0,0185]	0,0189 [0,0155 – 0,0261]	<0,001* P_{контроль- ХСН+АГ}<0,001 P_{АГ- ХСН+АГ}=0,006
3- гидроксипа льмитолеил -карнитин	C16:1O H	Long- chain	0,0011 [0,0005- 0,0018]	0,0008 [0,0006 – 0,0014]	0,0011 [0,0007 – 0,0025]	0,165
3- Гидроксиге ксадеканои лкарнитин	C16OH	Long- chain	0,030 [0,023- 0,037]	0,041 [0,033 – 0,064]	0,040 [0,034 – 0,056]	<0,001* P_{контроль- АГ}<0,001 P_{контроль- ХСН+АГ}<0,001
Октадекано илкарнитин	C18	Long- chain	0,026 [0,022- 0,030]	0,028 [0,023 – 0,034]	0,024 [0,021 – 0,034]	0,346
Октадецен оилкарнит ин	C18:1	Long- chain	0,044 [0,035- 0,049]	0,051 [0,038 – 0,067]	0,058 [0,047 – 0,075]	<0,001* P_{контроль- АГ}=0,036 P_{контроль- ХСН+АГ}<0,001
Линолеилк арнитин	C18:2	Long- chain	0,024 [0,020- 0,031]	0,028 [0,017 – 0,040]	0,035 [0,026 – 0,043]	0,018* P_{контроль- ХСН+АГ}=0,017

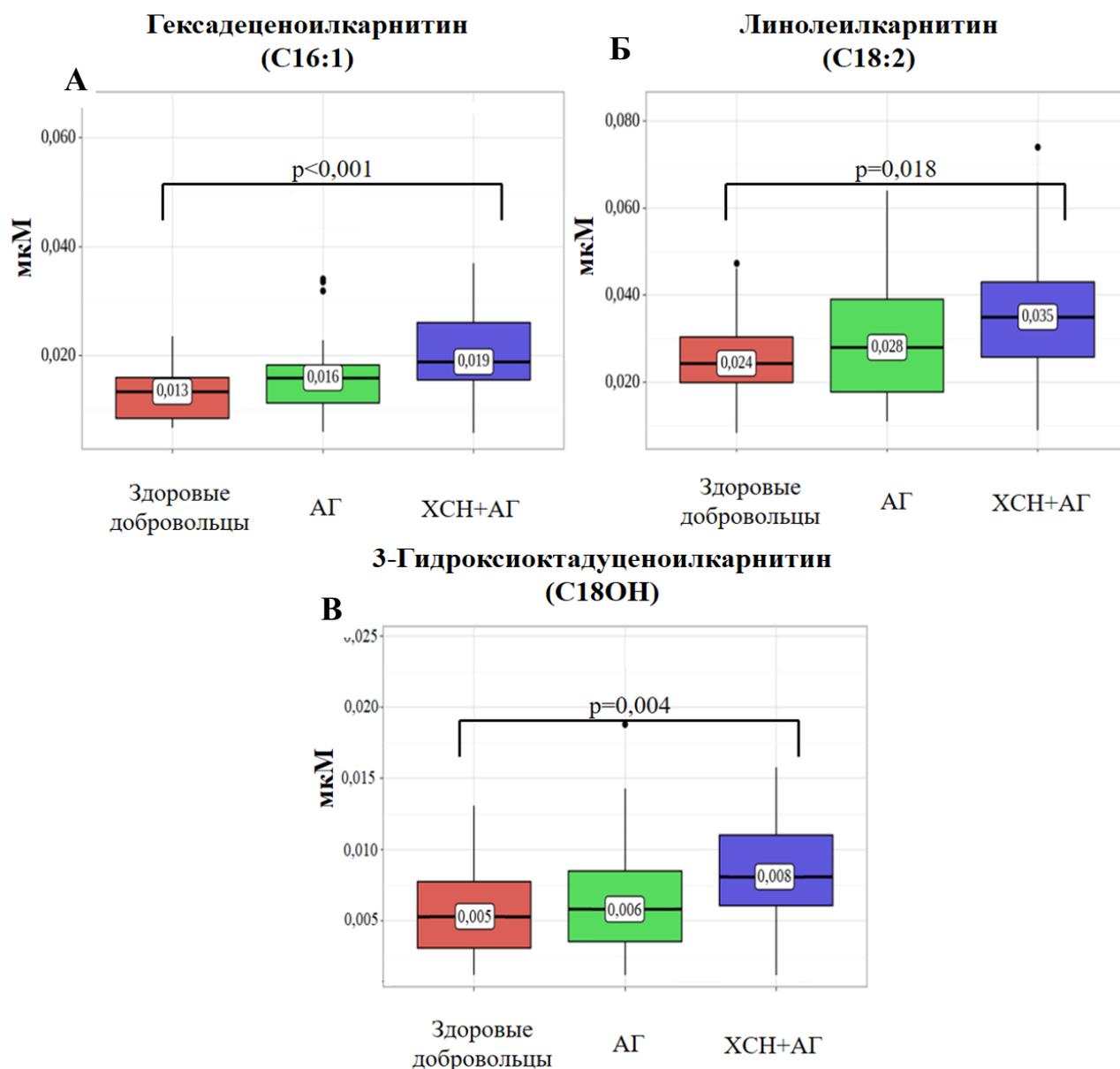
Продолжение таблицы 8

3- Гидроксикт адеценоил- карнитин	C18:1O H	Long- chain	0,00024 [0,00011- 0,00057]	0,00020 [0,00020 – 0,00030]	0,00026 [0,00016 – 0,00050]	0,614
3- Гидроксио ктадуценой л- карнитин	C18OH	Long- chain	0,0005 [0,0003- 0,0008]	0,0006 [0,0003 – 0,0008]	0,0008 [0,0006 – 0,0011]	0,004* p_{контроль- XCH+AG}=0,005 p_{AG- XCH+AG}=0,041

Примечания: * - различия показателей статистически значимы ($p < 0,05$). Me [Q1-Q3] — медиана и квантили.

AG – артериальная гипертензия, XCH – хроническая сердечная недостаточность, Non-esterified – неэстерифицированный или свободный, Short-chain- ацилкарнитин с короткой цепью, Medium-chain – ацилкарнитин со средней цепью, Long-chain – ацилкарнитин с длинной цепью.

Для пациентов с СНсФВ и СНусФВ характерно повышение концентраций циркулирующих длинноцепочечных ацилкарнитинов (C16:1, C18:2, C18OH), следовательно для СН наиболее характерно нарушение окисления именно длинноцепочечных жирных кислот (таблица 8, рисунок 15). Стоит также отметить, что C16:1, C18:2, C18OH являлись представителями самых длинноцепочечных ацилкарнитинов, исследованных в нашей работе.



АГ – артериальная гипертензия, ХСН – хроническая сердечная недостаточность, C16:1 – гексадеценоилкарнитин, C18OH – 3-гидроксиоктадуценоил-карнитин, C18:2 – линолеилкарнитин.

Рисунок 15 – Сравнение концентраций длиноцепочечных ацилкарнитинов: C16:1 (А), C18:2 (Б), C18OH (В)(мкМ) в зависимости от группы

При проведении метаболомного профилирования аминокислот было выявлено, что группы статистически значимо различались по незаменимым (лейцин, лизин, метионин, треонин, триптофан, фенилаланин), условно-заменимым (тирозин, аргинин, гистидин) и заменимым (аланин, глутаминовая кислота) аминокислотам (таблица 9).

Таблица 9 - Концентрации аминокислот (мкМ) в группе пациентов с ХСН+АГ, группе с АГ и группе контроля

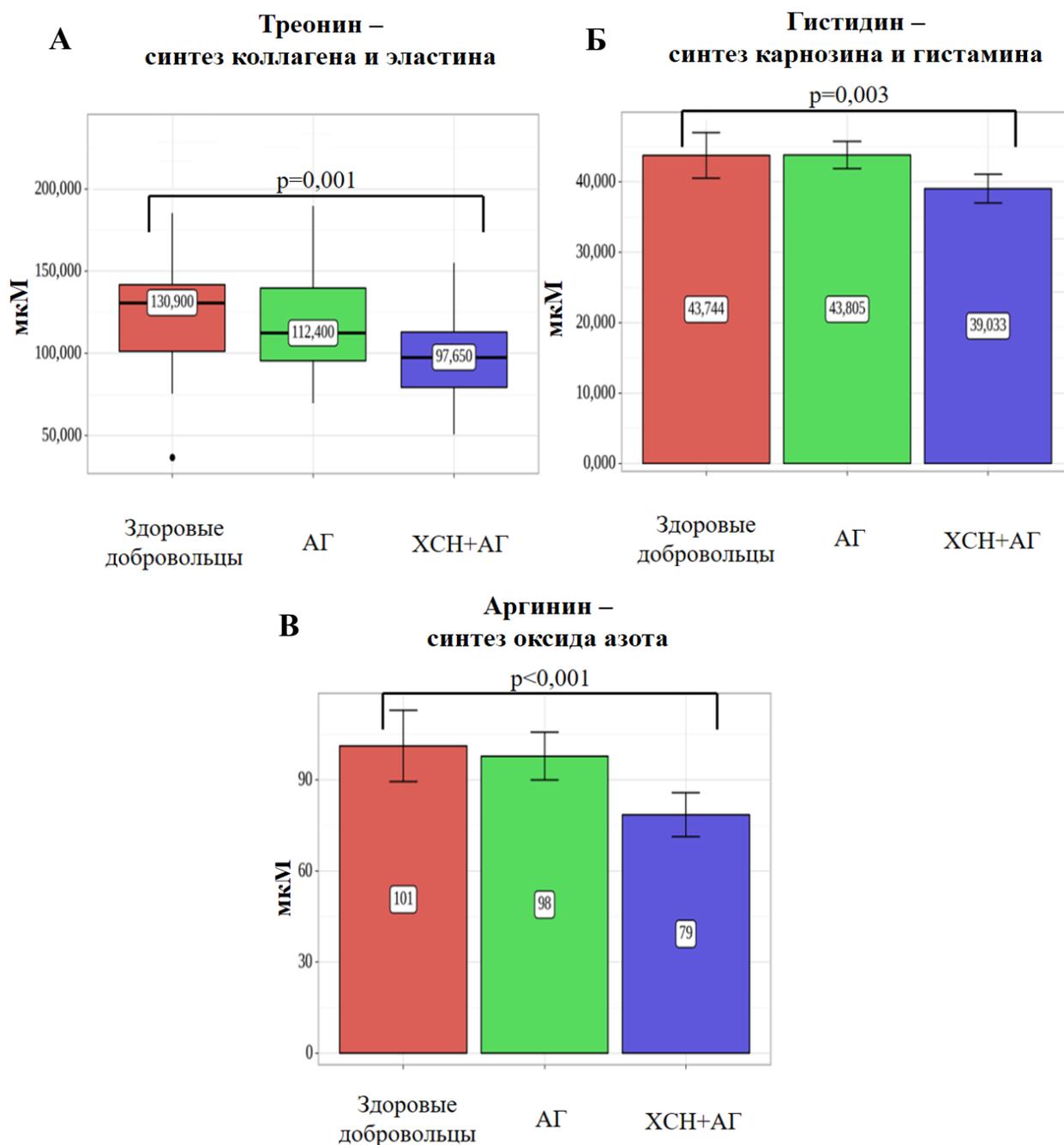
Метаболиты	Принятые сокращения	Группа контроля (n=27)	Группа АГ (n=40)	Группа ХСН+АГ (n=40)	Критерий р
		М ± SD Ме и [Q ₁ – Q ₃]	М ± SD Ме и [Q ₁ – Q ₃]	М ± SD Ме и [Q ₁ – Q ₃]	
Валин	Вал	256,3 ± 59,6	286,2 ± 51,5	251,3 ± 67,5	0,025* р _{АГ-ХСН+АГ} = 0,029
Изолейцин	Илей	78,2 ± 20,5	90,1 ± 21,9	78,1 ± 19,9	0,019* р _{АГ-ХСН+АГ} = 0,031
Лейцин	Лей	134,1 [111,2-159,9]	145,5 [133,8 – 176,7]	120,0 [108,6 – 155,3]	0,002* р _{контроль-АГ} = 0,026 р _{АГ-ХСН+АГ} = 0,002
Лизин	Лиз	205,6 [180,6-237,7]	236,4 [207,7 – 263,2]	206,4 [175,3 – 247,1]	0,002* р _{контроль-АГ} = 0,008 р _{АГ-ХСН+АГ} = 0,006
Метионин	Мет	26,7 ± 7,1 (23,9-29,5)	28,9 ± 5,4 (27,1-30,6)	25,1 ± 5,2 (23,4-26,7)	0,015* р _{АГ-ХСН+АГ} = 0,011
Треонин	Тре	130,9 [100,8-142,3]	112,4 [95,3 – 140,1]	97,7 [78,9 – 113,7]	0,001* р _{контроль-ХСН+АГ} = 0,002 р _{АГ-ХСН+АГ} = 0,018
Триптофан	Три	59994,0 ± 15517,5	67688,1 ± 20698,6	54730,0 ± 15653,6	0,006* р _{АГ-ХСН+АГ} = 0,004
Фенилаланин	Фен	67,4 [59,4-77,0]	74,1 [68,8 – 78,1]	70,5 [63,3 – 82,2]	0,032* р _{контроль-АГ} = 0,027

Продолжение таблицы 9

Тирозин	Тир	64,5 ± 17,3	77,7 ± 16,3	66,0 ± 12,1	<0,001* P _{контроль- АГ} =0,002 P _{АГ-ХСН+АГ} =0,002
Аргинин	Арг	101,3 ± 29,7	97,8 ± 24,6	78,6 ± 22,8	<0,001* P _{контроль- ХСН+АГ} =0,001 P _{АГ- ХСН+АГ} =0,003
Гистидин	Гис	43,7 ± 8,2	43,8 ± 6,1	39,0 ± 6,3	0,003* P _{контроль- ХСН+АГ} =0,017 P _{АГ- ХСН+АГ} =0,006
Аланин	Ала	370,7 [323,2- 453,7]	446,8 [393,2 – 542,1]	403,6 [345,7 – 494,4]	0,018* P _{контроль- АГ} =0,019
Аспарагиновая кислота	Асп	18,0 [16,0- 20,0]	20,0 [17,7 – 21,4]	18,8 [16,0 – 23,6]	0,103
Глутаминовая кислота	Глу	45,1 [41,0- 53,6]	72,4 [49,0 – 91,9]	65,7 [51,7 – 76,6]	0,001* P _{контроль- АГ} <0,001 P _{контроль- ХСН+АГ} =0,012
Глицин	Гли	238,5 ± 60,5	247,1 ± 66,2	239,2 ± 61,0	0,811
Пролин	Про	202,3 [150,8- 228,9]	234,0 [178,8 – 297,9]	200,2 [157,2 – 261,1]	0,074
Серин	Сер	99,7 ± 23,1	100,9 ± 24,4	93,9 ± 21,6	0,368

Примечания: * - различия показателей статистически значимы (p<0,05). Me [Q1-Q3] — медиана и квантили, M±SD — среднее ± стандартное отклонение.

АГ – артериальная гипертензия, ХСН – хроническая сердечная недостаточность.



АГ – артериальная гипертензия, ХСН – хроническая сердечная недостаточность.

Рисунок 16 – Сравнение концентраций аминокислот треонина (А), гистидина (Б) и аргинина (В) (мкМ) в зависимости от группы

Для пациентов с АГ наиболее характерно было повышение концентраций аминокислот лейцина, лизина, фенилаланина, тирозина, аланина, глутаминовой кислоты. Изменение уровня аминокислот метионина, триптофана, ВСАА (валина и изолейцина) вероятно связано либо с течением и прогрессированием АГ, либо с

получаемой терапией пациентами с СН. Непосредственно для пациентов с СН в нашей работе было выявлено значимое снижение концентраций аминокислот треонина, аргинина и гистидина (рисунок 16). Снижение циркулирующих уровней данных аминокислот может быть обусловлено с одной стороны более активным их использованием в цикле трикарбоновых кислот для обеспечения энергией КМЦ вместо окисления ЖК, с другой стороны использованием в других катаболических путях.

Таблица 10 – Концентрации значимых производных катаболизма триптофана (мкМ) в группе пациентов с ХСН+АГ, группе с АГ и группе контроля

Метаболиты	Группа контроля (n=27)	Группа АГ (n=40)	Группа ХСН+АГ (n=40)	Критерий p
	Me и [Q ₁ – Q ₃]	Me и [Q ₁ – Q ₃]	Me и [Q ₁ – Q ₃]	
5-гидрокситриптофан	1,28 [1,11-1,53]	1,20 [0,93 – 1,64]	1,36 [0,92 – 1,87]	0,663
Кинуренин	481,7 [430,8-563,0]	585,7 [515,1 – 741,9]	966,9 [737,4 – 1267,2]	<0,001* P _{контроль-АГ} =0,010 P _{контроль-ХСН+АГ} <0,001 P _{АГ-ХСН+АГ} <0,001
Соотношение кинуренин/триптофан	0,0086 [0,0069-0,0107]	0,0094 [0,0074 – 0,0124]	0,0166 [0,0143 – 0,0247]	<0,001* P _{контроль-ХСН+АГ} <0,001 P _{АГ-ХСН+АГ} <0,001
3-Гидроксикинуренин	669,0 [569,8-831,2]	791,5 [654,7 – 948,5]	1158,4 [780,5 – 1625,5]	<0,001* P _{контроль-ХСН+АГ} <0,001* P _{АГ-ХСН+АГ} =0,009
3-Гидроксиантрониловая кислота	16,91 [12,55-23,34]	21,56 [16,38 – 29,62]	22,24 [19,40 – 30,13]	0,008* P _{контроль-ХСН+АГ} =0,007

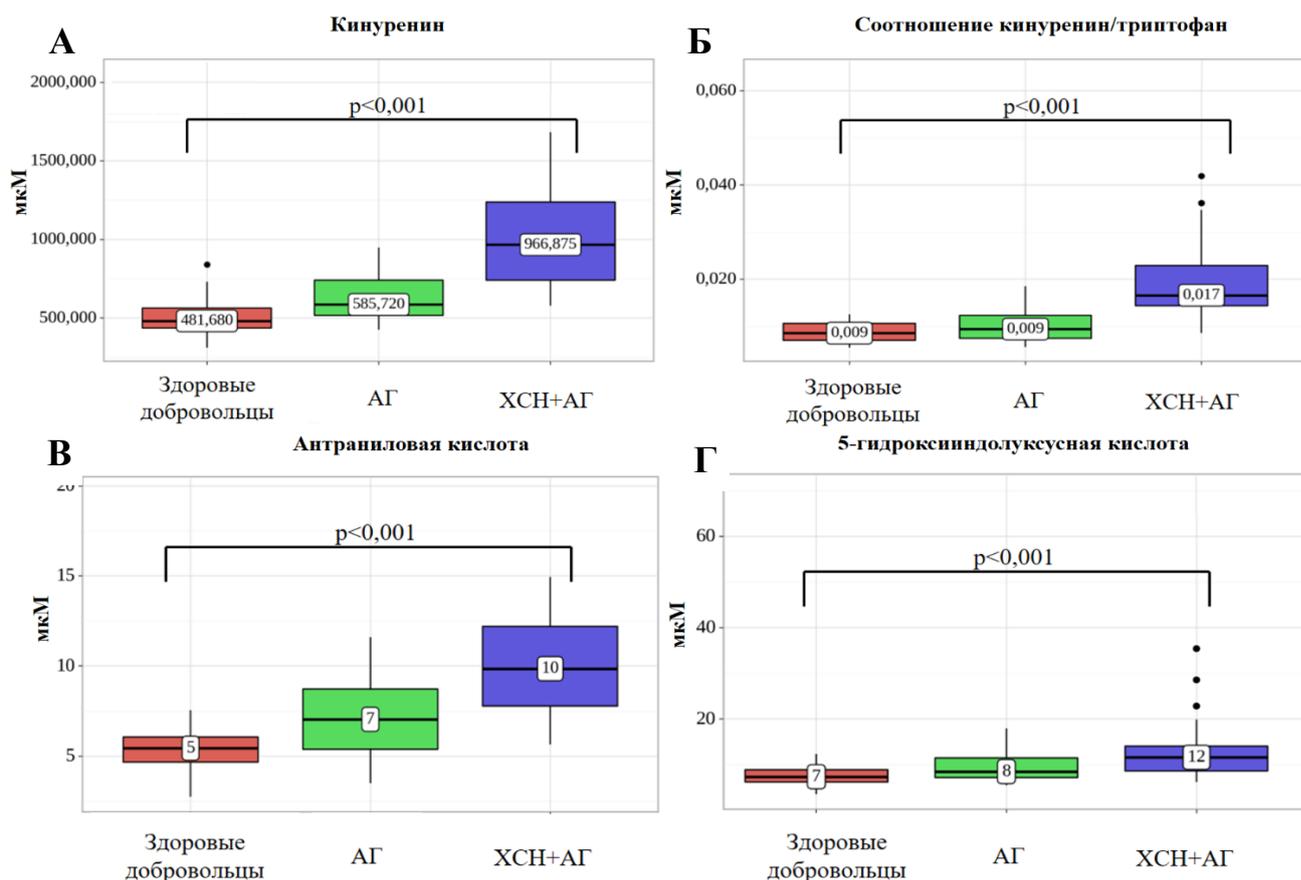
Продолжение таблицы 10

Антраниловая кислота	5,44 [4,66-6,07]	7,04 [5,34 – 8,81]	9,85 [7,76 – 12,25]	<0,001* P контроль- АГ=0,003 P контроль- ХСН+АГ<0,001 P АГ- ХСН+АГ<0,001
Хинолиновая кислота	55,5 [49,7-63,5]	70,1 [61,1 – 81,6]	83,1 [57,9 – 129,7]	<0,001* P контроль- АГ=0,004 P контроль- ХСН+АГ<0,001
Кинуреновая кислота	45,6 [40,0-55,0]	60,0 [49,1 – 76,7]	63,6 [52,3 – 81,9]	<0,001* P контроль- АГ=0,006 P контроль- ХСН+АГ<0,001
Ксантуреновая кислота	8,0 [6,8-9,7]	9,9 [7,3 – 15,2]	9,0 [7,0 – 22,8]	0,170
Серотонин	245,0 [217,5-274,7]	247,6 [221,3 – 273,0]	244,8 [206,6 – 285,1]	0,963
5-ГИУК	7,37 [6,20-9,16]	8,49 [7,15 – 11,57]	11,61 [8,60 – 14,22]	<0,001* P контроль- АГ=0,022 P контроль- ХСН+АГ<0,001 P АГ- ХСН+АГ=0,015

Примечания: * - различия показателей статистически значимы ($p < 0,05$). Me [Q1-Q3] — медиана и квантили.

АГ – артериальная гипертензия, ХСН – хроническая сердечная недостаточность, 5-ГИУК - 5-гидроксииндолуксусная кислота.

При сравнении с группой контроля групп пациентов с АГ и ХСН+АГ выявлены различия по основному кинурениновому пути и серотониновому пути катаболизма триптофана, причем отмечалось значимое повышение уровней данных метаболитов, что позволяет предположить вовлечение изменённого катаболизма аминокислоты триптофан в патогенез ССЗ (таблица 10).



5-ГИУК – 5-гидроксииндолуксусная кислота, АГ – артериальная гипертензия, ХСН – хроническая сердечная недостаточность.

Рисунок 17 - Сравнение концентраций метаболитов кинуренинового пути – кинуренина (А), антрапиловой кислоты (В), 5-ГИУК (Г) (мкМ) и соотношения кинуренин/триптофан (Б) в зависимости от группы

Выявлены различия в циркулирующих уровнях кинуренина, антрапиловой кислоты, а также продукта серотонинового пути (5-ГИУК) по мере прогрессирования АГ и присоединения ХСН, что может свидетельствовать о вовлечении данного пути в развитие СН (рисунок 17). Повышение концентрации 3-гидроксикинурина и снижение соотношения кинуренин/триптофан было характерно непосредственно для пациентов с СН (таблица 10). Концентрации хинолиновой и кинуреновой кислот были повышены в группах АГ и ХСН+АГ по сравнению со здоровыми добровольцами, однако при сравнении групп с ССЗ между собой достоверных различий по концентрациям данных метаболитов не отмечалось, что говорит в пользу изменения уровня этих метаболитов кинуренинового пути непосредственно у пациентов с АГ. Вышеперечисленные

изменения являются отражением ролихронического низкоуровневого воспаления в развитии СН.

При сравнении группы контроля с двумя группами с ССЗ были продемонстрированы изменения метаболитов, отвечающих за азотистый обмен. Так у пациентов с СН было отмечено значимое повышение уровней симметричного диметиларгинина (СДМА), асимметричного диметиларгинина (АДМА), триметиламинооксида (ТМАО) и снижение соотношения аргинин/АДМА и аргинин/(орнитин+цитрулин) (таблица 11, рисунок 18).

Таблица 11 – Концентрации метаболитов обмена азота и соотношений метаболитов (мкМ) в группе пациентов с ХСН+АГ, группе с АГ и группе контроля

Метаболиты	Принятые сокращения	Группа контроля (n=27)	Группа АГ (n=40)	Группа ХСН+АГ (n=40)	Критерий p
		М ± SD Ме и [Q ₁ – Q ₃]	М ± SD Ме и [Q ₁ – Q ₃]	М ± SD Ме и [Q ₁ – Q ₃]	
Асимметричный диметиларгинин	АДМА	0,368 [0,334-0,475]	0,398 [0,368 – 0,473]	0,476 [0,433 – 0,582]	<0,001* P _{контроль-ХСН+АГ} <0,001* P _{АГ-ХСН+АГ} =0,004
Симметричный диметиларгинин	СДМА	0,423 [0,350-0,519]	0,449 [0,373 – 0,572]	0,568 [0,417 – 0,745]	0,008* P _{контроль-ХСН+АГ} =0,008
Триметилглицин (бетаин)	ТМГ	34,7 [28,8-47,4]	34,8 [28,6 – 40,7]	38,7 [31,4 – 45,8]	0,171
Цитруллин	Цит	31,2 [26,7-36,5]	33,0 [25,5-40,2]	27,9 [23,0-36,9]	0,236
Орнитин	Орн	63,2 [46,9-71,2]	83,7 [65,5-102,2]	70,8 [62,2 – 86,1]	<0,001* P _{контроль-АГ} <0,001 P _{контроль-ХСН+АГ} =0,018

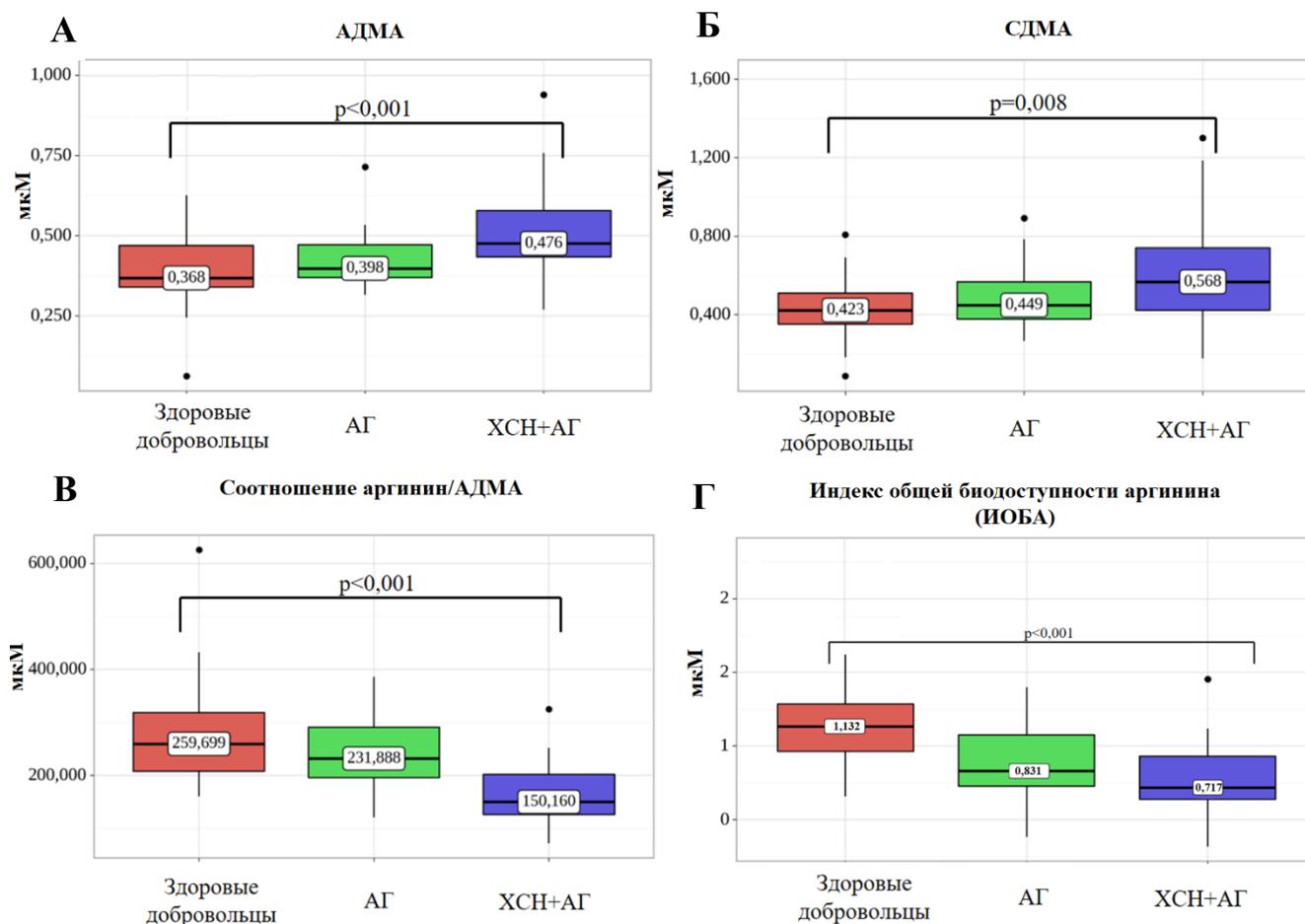
Продолжение таблицы 11

Холин	Хол	10,0 ± 2,7	14,3 ± 3,2	15,7 ± 5,3	<0,001* Р_{контроль-АГ}<0,001 Р_{контроль-ХСН+АГ}<0,001
Цистатионин	Цист	25,9 [20,4-33,3]	40,0 [36,5 – 56,9]	47,4 [34,4 – 91,3]	<0,001* Р_{контроль-АГ}<0,001 Р_{контроль-ХСН+АГ}<0,001
Триметиламин оксид	ТМАО	1,7 [1,1-3,3]	2,6 [1,2-5,0]	4,8 [2,3 – 10,2]	<0,001* Р_{контроль-ХСН+АГ}<0,001 Р_{АГ-ХСН+АГ}=0,024
Аргинин/асимметричный диметиларгинин	Арг/АДМА	259,7 [205,5-325,8]	231,9 [196,0 – 294,1]	150,2 [126,0 – 203,0]	<0,001* Р_{контроль-ХСН+АГ}<0,001 Р_{АГ-ХСН+АГ}<0,001
Соотношение аргинин/орнитин	Арг/Орн	1,796 [1,241-2,112]	1,227 [0,991 – 1,566]	1,002 [0,873 – 1,270]	<0,001* Р_{контроль-АГ}<0,001 Р_{контроль-ХСН+АГ}<0,001
ИОБА	Арг/(Орн+Цит)	1,132 [0,895-1,299]	0,831 [0,727-1,080]	0,717 [0,638-0,939]	<0,001* Р_{контроль-АГ}=0,002 Р_{контроль-ХСН+АГ}<0,001 Р_{АГ-ХСН+АГ}=0,044

Примечания: * - различия показателей статистически значимы ($p < 0,05$). Ме [Q1-Q3] — медиана и квантили, $M \pm SD$ — среднее \pm стандартное отклонение.

АГ – артериальная гипертензия, ИОБА – индекс общей биодоступности аргинина, ХСН – хроническая сердечная недостаточность.

Учитывая наличие значимого различия между группами по уровням метаболитов азотистого обмена и уровню аминокислоты аргинин, можно сделать предположение о более выраженном снижении биодоступности NO и дальнейшему прогрессированию ЭД у пациентов с СН.



АГ – артериальная гипертензия, ХСН – хроническая сердечная недостаточность, АДМА – асимметричный диметиларгинин, Аргинин/АДМА – соотношение аргинин/асимметричный диметиларгинин, ИОБА – индекс общей биодоступности аргинина, СДМА – симметричный диметиларгинин.

Рисунок 18 - Анализ метаболитов АДМА (А), СДМА (Б) (мкМ) и соотношения аргинин/АДМА (В) и ИОБА (Г) в зависимости от группы

Индекс общей биодоступности аргинина (ИОБА), который был рассчитан путем деления содержания аргинина на показатели содержания цитруллина и орнитина, снижен у пациентов с СН, что также говорит в пользу более выраженной эндотелиальной дисфункции у данной группы пациентов. Отмеченное повышение концентрации ТМАО в основной группе, вероятнее всего, способствует поддержанию хронического системного воспаления, образованию активных форм кислорода, угнетению обратного транспорта холестерина, что вносит вклад в развитие ХСН.

Интересным представляется статистически значимое снижение концентрации нейромедиатора ацетилхолина (АЦХ) у пациентов с СН (таблица 12), следовательно, и угнетение его М-холиномиметических эффектов, таких как брадикардия, расширение кровеносных сосудов, снижение АД и повышение нейромедиатора гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК), который ускоряет утилизацию глюкозы и считается, что он может быть связан с развитием СД.

Таблица 12 – Концентрации нейромедиаторов и их производных (мкМ) в группе пациентов с ХСН+АГ, группе с АГ и группе контроля

Метаболиты	Группа контроля (n=27)	Группа АГ (n=40)	Группа ХСН+АГ (n=40)	Критерий p
	Me и [Q ₁ – Q ₃]	Me и [Q ₁ – Q ₃]	Me и [Q ₁ – Q ₃]	
Ацетилхолин	0,641 [0,470-0,880]	0,528 [0,307 – 0,828]	0,240 [0,135 – 0,440]	<0,001* P _{контроль-ХСН+АГ} <0,001 P _{АГ-ХСН+АГ} =0,006
Гамма-аминомасляная кислота	127,6 [117,4-144,9]	143,7 [126,9 – 161,7]	155,6 [128,9 – 177,5]	0,004* P _{контроль-ХСН+АГ} =0,003
Норэпинефрин	14,86 [11,58-18,60]	19,4 [14,9 – 29,0]	21,6 [15,5 – 26,3]	0,001* P _{контроль-АГ} =0,002 P _{контроль-ХСН+АГ} =0,004
Норметанефрин	1,63 [1,30-1,93]	1,64 [1,47 – 1,97]	1,71 [1,42 – 1,98]	0,764
Метанефрин	0,29 [0,20-0,36]	0,25 [0,20 – 0,34]	0,21 [0,19 – 0,29]	0,048

Примечания: * - различия показателей статистически значимы (p<0,05). Me [Q₁-Q₃] — медиана и квантили.

АГ – артериальная гипертензия, ХСН – хроническая сердечная недостаточность.

При сравнении концентраций продуктов птерина между всеми группами выявлено повышение уровней биоптерина и неоптерина, характерное для пациентов с СН (таблица 13). Патологические эффекты от повышения концентраций продуктов птерина опосредованы через снижение доступности

важного кофактора - тетрабиоптерина (BH₄), участвующего в реакциях катаболизма аргинина и фенилаланина.

Таблица 13 – Концентрации производных птерина (мкМ) в группе пациентов с ХСН+АГ, группе с АГ и группе контроля

Метаболиты	Группа контроля (n=27)	Группа АГ (n=40)	Группа ХСН+АГ (n=40)	Критерий p
	Me и [Q ₁ – Q ₃]	Me и [Q ₁ – Q ₃]	Me и [Q ₁ – Q ₃]	
Биоптерин	1,10 [0,79-1,60]	1,17 [0,83-1,52]	1,76 [1,45-2,38]	<0,001* p _{контроль-ХСН+АГ} <0,001 p _{АГ-ХСН+АГ} <0,001
Неоптерин	4,63 [3,27-6,24]	5,2 [3,9 – 7,5]	8,9 [6,4 – 14,1]	<0,001* p _{контроль-ХСН+АГ} <0,001 p _{АГ-ХСН+АГ} <0,001

Примечания: * - различия показателей статистически значимы (p<0,05). Me [Q₁-Q₃] - медиана и квартили.

АГ – артериальная гипертензия, ХСН – хроническая сердечная недостаточность.

В ходе нашего исследования были выявлены метаболиты, нарушение которых характерно для АГ. Нарушение окисления ЖК проявлялось в виде повышения концентраций коротко-, средне- и длинноцепочечных ацилкарнитин (C4, C5, C5:1, C6DC, C10:2, C16, C16OH, C18:1) при сравнении с группой контроля. Нарушение метаболизма аминокислот затрагивало в первую очередь незаменимые и условно-заменимые аминокислоты. Так у пациентов с АГ наблюдалось повышение концентраций ВСАА, лизина, фенилаланина, тирозина, аланина, глутаминовой кислоты в сравнении со здоровыми добровольцами. Нарушение со стороны кинуренинового пути катаболизма триптофана выражалось в повышении кинуреновой и хинолиновой кислот, нарушение метаболизма азотистого обмена - в повышении концентраций цистатионина, холина, орнитина и снижении соотношения аргинин/орнитин, которое отражает активность аргиназы и катаболизм аргинина в орнитинном цикле с образованием мочевины. Из нейромедиаторов у пациентов с АГ нами были выявлены более высокие уровни

норэпинефрина по сравнению со здоровыми добровольцами. Все вышеперечисленные изменения свидетельствуют о нарушении метаболизма, которое подготавливает «почву» для развития такого серьезного заболевания, как СН.

По результатам целевого метаболомного профилирования для группы пациентов с СН было характерно изменение концентрации 18 метаболитов плазмы крови и 3 соотношений. Среди них отмечается снижение концентраций трех аминокислот (треонина, аргинина, гистидина), повышении концентраций четырех производных кинуренинового пути (кинуренина, 3-гидроксиинуренина, 3-гидроксиантраниловой и антраниловой кислот), соотношения кинуренин/триптофан и производного серотонинового пути катаболизма триптофана (5-ГИУК), концентраций метаболитов азотистого обмена (СДМА, АДМА, ТМАО) и снижение соотношения аргинин/АДМА и нейромедиатора АЦХ, повышение концентраций нейромедиатора ГАМК, производных птерина (биоптерин и неоптерин) и трех длинноцепочечных ацилкарнитинов (С16:1, С18:2, С18ОН). Данные изменения наглядно демонстрируют нарушения метаболизма аминокислот и жирных кислот у пациентов с СН и, соответственно, именно по данным метаболитам в дальнейшем будет проводится многофакторный анализ и корреляционный анализ с клиническими данными и лабораторно-инструментальными показателями в основной группе ХСН+АГ.

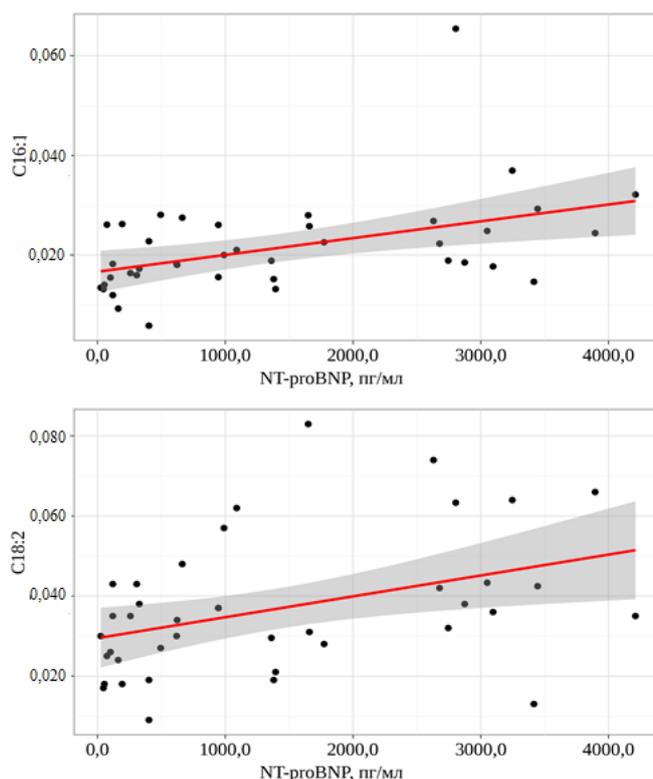
В ходе дальнейшей статистической обработки результатов нами был проведен корреляционный анализ с демографическими данными, сопутствующими состояниями, результатами лабораторно-инструментальных методов исследования. Нами были выявлены связи ряда метаболитов с возрастом: антраниловой кислоты и с ИМТ: 3-гидроксиантраниловой кислоты, треонина. Однако, следует отметить, что в дальнейшем построенные регрессионные модели продемонстрировали отсутствие взаимосвязи данных метаболитов с возрастом и ИМТ. Кроме прочего в группе пациентов с ХСН при построении регрессионной модели изменение значимых метаболитов не было связано с приемом иАПФ, АРА, БАБ, диуретиками, АМКР, статинами и НОАК.

3.2. Взаимосвязь маркеров нарушенного окисления жирных кислот - ацилкарнитинов с клиническими и лабораторно-инструментальными данными в группе пациентов с хронической сердечной недостаточностью

В нашем исследовании были выявлены более высокие уровни длинноцепочечных ацилкарнитинов: C16:1, C18:2, C18OH. При сравнении пациентов с 2а стадией и 2б стадией СН отмечалось увеличение концентраций длинноцепочечных ацилкарнитинов C16:1 ($p=0,002$) и C18OH ($p<0,001$), а у пациентов с III ФК по NYHA отмечалась тенденция в виде более высоких уровней C18:2 ($p=0,060$). Проведенный корреляционный анализ ацилкарнитинов с уровнем NTproBNP, выявил прямые связи с уровнем C16:1 ($r= 0,503$, $p<0,001$) и с уровнем C18:2 ($r= 0,439$, $p=0,005$) (рисунок 19). При изучении связи метаболитов с показателями ремоделирования миокарда при СН, обращало на себя внимание наличие значимой связи C18OH со скоростью трансмитрального потока в раннюю диастолу E ($r= 0,568$, $p=0,034$). Наличие признаков легочной гипертензии и повышенное СДЛА положительно коррелировали с уровнем C18:2 ($r= 0,389$, $p=0,019$).

Получены данные о наличии взаимосвязи между ацилкарнитинами и факторами риска и ассоциированными состояниями СН. Выявлены отрицательные корреляции уровней C16:1 и C18:2 с показателями липидного профиля и уровнем глюкозы, однако связи с приемом статинов и гипогликемических препаратов ацилкарнитины не демонстрировали (таблица 14). Кроме связи с липопротеидами, более высокий уровень концентрации C16:1 был характерен для пациентов с СН с наличием ХБП ($p=0,027$).

Выявленная умеренной силы связь C16:1 с возрастом ($r=0,367$, $p=0,020$), однако при построении регрессионной модели, которая характеризовалась коэффициентом корреляции $r_{xy} = 0,186$, что соответствовало слабой тесноте связи по шкале Чеддока, не была статистически значимой ($p=0,250$).



NT-proBNP - N-терминальный фрагмент мозгового натрийуретического пептида.

Рисунок 19 - График регрессионной функции, характеризующий связь концентрации антраниловой кислоты (мкМ) и уровня NT-proBNP (пг/мл)

Таблица 14 - Корреляционный анализ длинноцепочечных ацилкарнитинов C16:1 и C18:2 у пациентов с ХСН+АГ с уровнями показателей биохимического анализа крови

Метаболиты	Глюкоза	Общий холестерин	ЛПНП	ЛПОНП	Триглицериды	ЛПВП
C16:1	$r = -0,321$ $p = 0,044$	$r = -0,400$ $p = 0,013$	$r = -0,387$ $p = 0,022$	$r = -0,415$ $p = 0,016$	$r = -0,382$ $p = 0,021$	$r = 0,037$ $p = 0,836$
C18:2	$r = -0,321$ $p = 0,212$	$r = -0,376$ $p = 0,020$	$r = -0,321$ $p = 0,060$	$r = -0,559$ $p < 0,001$	$r = -0,530$ $p < 0,001$	$r = -0,015$ $p = 0,935$

ЛПОНП – липопротеины очень низкой плотности, ЛПНП - липопротеины низкой плотности.

Согласно полученным результатам нашего исследования, представленные длинноцепочечные ацилкарнитины (C16:1, C18:2, C18OH) можно рассмотреть в качестве биомаркеров СНсФВ, так как они отражают выраженность СН и степень

миокардиального стресса, а также ремоделирование миокарда, свойственного для данного фенотипа СН.

3.3. Взаимосвязь измененного профиля аминокислот с клиническими и лабораторно-инструментальными данными в группе пациентов с хронической сердечной недостаточностью

Несмотря на то, что в нашем исследовании продемонстрировано изменение метаболизма аминокислот треонина и гистидина у пациентов с СН, однако корреляций данных аминокислот с клиническими признаками СН не было обнаружено. Уровень аминокислоты треонин был статистически значимо ниже у пациентов группы ХСН+АГ с подтвержденными застойными явлениями по МКК ($p=0,003$) по данным рентгенографии органов грудной клетки и подтверждается статистически значимо более низким уровнем данного метаболита у пациентов, получающих петлевые диуретики ($p=0,004$). Изменение уровней циркулирующего треонина вероятно отражает декомпенсацию СН и может быть в дальнейшем рассмотрено в качестве возможного маркера эффективности диуретической терапии на послегоспитальном этапе. Кроме прочего, уровень треонина отрицательно коррелировал с ($r=-0,530$, $p=0,011$) диастолическим параметром ЭХО-КГ – E/A. Выявленная отрицательная связь треонина с ИМТ ($r=-0,358$, $p=0,024$) при построении регрессионная модель соответствовала умеренной тесноте связи по шкале Чеддока и была статистически значимой ($p=0,024$). В исследовании более низкие концентрации аминокислоты гистидин были связаны только лишь с более высоким уровнем глюкозы, однако связи с наличием НТГ или СД продемонстрировано не было.

Учитывая полученные данные, можно предположить, что более низкий уровень треонина можно рассмотреть в качестве маркера застойных явлений в МКК, в то время как сниженный уровень гистидина у пациентов с СН вероятнее всего быть обусловлен сопутствующей патологией.

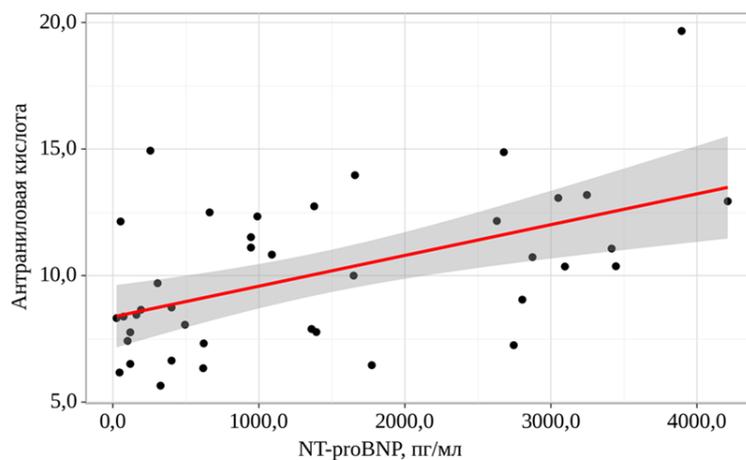
3.4. Взаимосвязь маркеров воспаления – метаболитов катаболизма триптофана с клиническими и лабораторно-инструментальными данными в группе пациентов с хронической сердечной недостаточностью

При анализе метаболитов триптофана с тяжестью течения ХСН были установлены следующие связи: при сравнении пациентов с 2а стадией и 2б стадией отмечалось увеличение концентраций антралиловой кислоты ($p < 0,001$) и повышение соотношения кинуренин:триптофан ($p = 0,023$), а при сравнении 2 и 3 ФК по NYHA было выявлено статистически значимое повышение концентрации только антралиловой кислоты ($p = 0,040$). В данном исследовании отмечалось повышение уровня кинуренина у пациентов с периферическими отеками ($p = 0,046$), также о связи метаболитов кинуренинового пути с наличием застоя МКК свидетельствует заметное повышение концентрации кинуренина, 3-гидроксикинуренина и соотношение кинуренин/триптофан у пациентов с СН, находящихся на терапии петлевыми диуретиками.

Помимо того, что нами были выявлены взаимосвязи уровней метаболитов катаболизма триптофана с ФК по NYHA и стадиями ХСН, при проведении корреляционного анализа данных показателей с уровнем NTproBNP были установлены взаимосвязи только антралиловой кислотой ($r = 0,486$, $p = 0,0001$) (рисунок 20).

С параметрами ремоделирования миокарда при СН также коррелировал метаболит кинуренинового пути катаболизма триптофана - антралиловая кислота: с ФВ ($r = -0,313$, $p = 0,049$), уровнем СДЛА ($r = 0,365$, $p = 0,029$), с наличием признаков ГЛЖ по критерию Соколова-Лайона по данным ЭКГ ($p = 0,009$). Интересным представляется и наличие значимого повышения концентраций кинуренина ($p = 0,028$), 3-гидроксиантралиловой кислоты ($p = 0,033$), 5-ГИУК ($p = 0,034$) у пациентов выявленной легочной гипертензией по данным ЭХО-КГ и наличие корреляции повышенного уровня 3-гидроксикинуренина с ОЛП ($r = 0,373$, $p = 0,019$),

стоит отметить и наличие тенденции к повышению уровня 3-гидроксикинурина при более высоких значениях ИОЛП ($r=0,298$, $p=0,065$).



NT-proBNP - N-терминальный фрагмент мозгового натрийуретического пептида.

Рисунок 20 - График регрессионной функции, характеризующий связь концентрации антралиловой кислоты (мкМ) и уровня NT-proBNP (пг/мл)

Следует отметить, что в группе ХСН+АГ уровни показателей воспаления - СОЭ и СРБ были в пределах нормальных значений. Однако, несмотря на это, в нашем исследовании была продемонстрирована положительная связь соотношения кинуренин/триптофан и метаболита кинуренин с показателем СРБ была установлена положительная связь ($r=0,465$, $p=0,017$ и $r=0,549$, $p=0,004$, соответственно), а также соотношения кинуренин/триптофан с уровнем СОЭ ($r=0,411$, $p=0,041$). Наличие данной зависимости можно объяснить вкладом метаболитов триптофанового катаболизма в развитие системного низкоуровневого воспаления при СН.

В дальнейшем был проведен корреляционный анализ взаимосвязи метаболитов путей катаболизма триптофана с факторами риска и ассоциированными состояниями. Интересным представляется также наличие корреляции между концентрациями кинуренина ($r=0,711$, $p<0,001$), 3-гидроксикинурина ($r=0,563$, $p<0,001$), 3-гидроксиантралиловой ($r=0,528$, $p<0,001$) и антралиловой кислотами ($r=0,438$, $p=0,006$), соотношением кинуренин/триптофан ($r=0,557$, $p<0,001$) и 5-ГИУК ($r=0,336$, $p=0,039$) и уровнем

мочевой кислоты. Метаболиты кинуренинового пути катаболизма триптофана и 5-ГИУК, как и метаболит серотонинового пути, а также соотношение кинуренин/триптофан также были положительно связаны с уровнем креатинина (кинуренин $r = 0,332$, 3-гидроксикинуренин $r = 0,398$, 3-гидроксиантраниловая кислота $r=0,485$, 5-ГИУК $r=0,612$, $p<0,05$). Однако, только по уровням 3-гидроксикинуренина ($p=0,021$), антраниловой кислоты ($p=0,031$) и 5-ГИУК ($p=0,005$) отмечалось различие пациентов с ХБП по сравнению с пациентами той же группы, но без ХБП. Помимо вышперечисленного, более низкие уровни антраниловой кислоты были ассоциированы с наличием доказанного периферического атеросклероза БЦА ($p=0,015$), а более высокие уровни 3-гидроксикинуренина – с ИМТ ($r=0,403$, $p=0,010$) и уровнем глюкозы ($r=0,335$, $p=0,035$), уровнем среднесуточного САД и ДАД ($r=-0,579$, $p=0,024$ и $r=-0,611$, $p=0,015$, соответственно).

Из всего вышесказанного следует, что изменение двух метаболитов путей катаболизма триптофана (антраниловой кислоты и кинуренина) можно рассмотреть в качестве возможных биомаркеров СН.

3.5. Взаимосвязь маркеров эндотелиальной дисфункции – метаболитов обмена азота с клиническими и лабораторно-инструментальными данными в группе пациентов с хронической сердечной недостаточностью

При сравнении метаболомных профилей пациентов с СН с клиническими данными были выявлены следующие различия: наличие жалоб на ощущение перебоев в работе сердца было связано с повышенным уровнем АДМА ($p=0,028$). У пациентов с 2б стадией ХСН по сравнению с 2а стадией было отмечено снижение концентраций аргинина ($p=0,042$), соотношения аргинин/АДМА ($p=0,005$), также, как и при сравнении 2 и 3 ФК по NYHA по соотношению аргинин/АДМА ($p=0,031$).

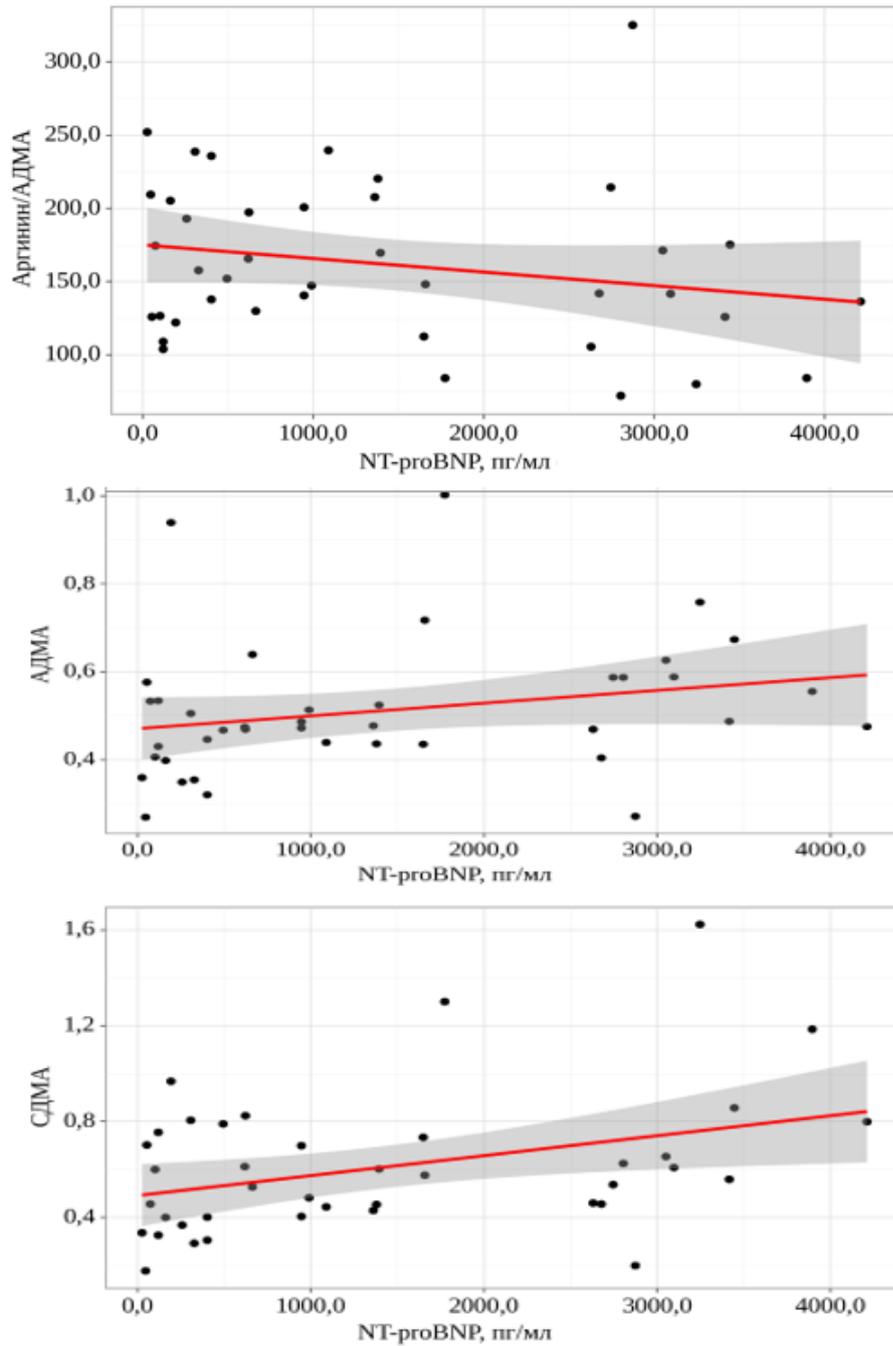
При проведении корреляционного анализа была выявлена взаимосвязь уровня NTproBNP с метаболитами азотистого обмена: наблюдалась прямая связь с уровнем АДМА ($r= 0,402$, $p=0,10$), СДМА ($r=0,370$, $p=0,019$) (рисунок 21).

Учитывая полученные данные, можно говорить о том, что вышеперечисленные показатели наиболее значимо ассоциируются со степенью миокардиального стресса и выраженностью клинических проявлений СН. Интересно и полученное нами снижение уровня аргинина ($p=0,002$) и ИОБА ($p=0,036$) у части пациентов с СН с застоем по ММК.

При изучении лабораторных показателей, отмечается наличие связи уровней метаболитов ТМАО ($r=-0,502$, $p=0,011$) и аргинина ($r=-0,565$, $p=0,003$) с показателем воспаления – уровнем СОЭ.

С другой стороны, интересным представляется и отсутствие корреляции между уровнем мочевой кислоты и уровнями аргинина, АДМА, так как известно, что более высокий уровень мочевой кислоты является повреждающим фактором для микроциркуляторного русла благодаря одновременному образованию с мочевой кислотой большого количества активных форм кислорода за счет повышения активности ксантиноксидазы, способствуя усилению оксидативного стресса, эндотелиальной дисфункции и активации системного воспаления. Однако, в ходе построения регрессионной модели выявлено, что у пациентов с наличием гиперурикемии отмечалось более выраженное снижение соотношения аргинин/АДМА ($p=0,027$).

В нашем исследовании выявлена связь уровня СДМА с уровнем креатинина ($r =0,370$, $p=0,019$) и наличием у пациентов ХБП ($p=0,003$), так как выведение данного метаболита происходит преимущественно через почки, его циркулирующий уровень является маркером ранней почечной дисфункции.



АГ – артериальная гипертензия, NT-проBNP - N-терминальный фрагмент мозгового натрийуретического пептида, АДМА – асимметричный диметиларгинин, СДМА – симметричный диметиларгинин, ТМАО – триметиламиноксид, Арг/АДМА – соотношение аргинин/асимметричный диметиларгинин.

Рисунок 21 - График регрессионной функции, характеризующий зависимость уровней метаболитов азотистого обмена от уровня NT-proBNP

Таблица 15 – Анализ взаимосвязи метаболомного профиля пациентов группы ХСН +АГ с параметрами ЭхоКГ

Метаболиты	Параметры ЭХО-КГ						
	ЗС ЛЖ	МЖП	ОТС	ММЛ Ж	ИММЛ Ж	ОЛП	ОПП
Аргинин	r = -0,273 P=0,08 8	r = -0,345 p=0,02 9	r = -0,234 p=0,14 5	r = -0,284 p=0,076	r = -0,343 p=0,030	r = -0,248 p=0,12 8	r = -0,182 p=0,26 2
Аргинин/АДМА	r = -0,273 p=0,08 8	r = -0,431 p=0,00 6	r = -0,182 p=0,26 1	r = -0,399 p=0,01 1	r = -0,335 p=0,034	r = -0,368 p=0,02 1	r = -0,356 p=0,02 4
ИОБА	r = -0,459 p=0,00 3	r = -0,502 p<0,00 1	r = -0,348 p=0,02 8	r = -0,433 p=0,00 5	r = -0,504 p<0,001	r = -0,263 p=0,10 6	r = -0,3301 p=0,06 0

ЗС ЛЖ – задняя стенка левого желудочка, ИММЛЖ – индекс массы миокарда левого желудочка, МЖП – межжелудочковая перегородка, ММЛЖ – масса миокарда левого желудочка, ОЛП – объем левого предсердия, ОПП – объем правого предсердия.

Наибольший интерес в рамках ХСН, осложнившей течение АГ вызывает наличие корреляций метаболитов азотистого обмена с показателями гипертрофии миокарда, дилатации миокарда. Как следует из таблицы 15, уровни метаболитов аргинина, соотношения аргинин/АДМА и ИОБА были связаны с параметрами ремоделирования миокарда. Связи с параметрами ЭхоКГ продемонстрировали уровни аргинина и соотношения аргинин/АДМА: отрицательная связь с толщиной МЖП, ИММЛЖ, а соотношение аргинин/АДМА - еще и с ММЛЖ, ОЛП, ОПП. ТМАО также статистически значимо был связан с ИММЛЖ ($r=0,337$, $p=0,033$). Однако наиболее сильно был связан с показателями ремоделирования у пациентов с СН ИОБА (с толщиной ЗС, МЖП, ОТС, ММЛЖ, ИММЛЖ).

Таким образом, продемонстрировавшие в данном исследовании связь с клиническими и лабораторно-инструментальными показателями СН метаболит аргинин, соотношение аргинин/АДМА и ИОБА, которые участвуют в развитии эндотелиальной дисфункции и активируются при низкоуровневом системном

воспалении, можно рассмотреть в качестве специфических метаболомных биомаркеров СНсФВ и СНусФВ.

3.6. Взаимосвязь нейромедиаторов ацетилхолина и гамма-аминомасляной кислоты и производных птерина с клиническими и лабораторно-инструментальными данными в группе пациентов с хронической сердечной недостаточностью

Известно, что нейромедиатор АЦХ оказывает воздействие на ССС в виде замедления сердечных сокращений, расширения периферических кровеносных сосудов с понижением АД. В нашей работе было выявлено снижение уровней циркулирующего АЦХ у пациентов с СН, однако у пациентов, для которых было характерно наличие жалоб на ощущение перебоев в работе сердца отмечались более высокие уровни АЦХ ($p=0,05$), кроме этого установлены прямые корреляции уровня АЦХ с уровнем САД и ПАД, измеренным при включении пациентов в исследование ($r=0,363$, $p=0,021$ и $r=0,347$, $0,028$, соответственно), что отражает вовлеченность нейромедиатора в патогенез СН.

Концентрации нейромедиатора центральной нервной системы – ГАМК в нашем исследовании были снижены у пациентов с более тяжелым течением СН при классификации по стадиям ($p=0,023$) и повышены у пациентов с более высокой ЧСС ($r=0,381$, $p=0,015$).

Концентрации производных птеринов (неоптерин и биоптерин), как маркеры иммунной системы, могут активироваться при хроническом воспалении, что характерно и для пациентов с СН. Повышению концентрации происходит за счет снижения синтеза ВН₄, который является кофактором в реакциях катаболизма, аргинина и фенилаланина. В нашем исследовании продемонстрирована связь неоптерина с лабораторными показателями с уровнем NTproBNP ($r=0,372$, $p=0,018$), мочевой кислоты ($r=0,436$, $p=0,005$), креатинина ($r=0,436$, $p=0,006$).

Учитывая выявленные корреляции неоптерина, наиболее вероятным представляется опосредованный механизм влияния благодаря участию в катаболизме ароматических аминокислот и аргинина и снижению уровня кофактора ВН4.

3.7. Заключение по главе результаты

Выявлены ассоциации изучаемых метаболитов с основными клиническими и лабораторно-инструментальными критериями СН. Так с параметрами тяжести течения СН было ассоциировано повышением уровней антралиловой кислоты, соотношения кинуренин/триптофан, длинноцепочечных ацилкарнитинов С16:1 и С18ОН, а также снижением уровней ГАМК, аргинина и соотношения аргинин/АДМА. С повышенным уровнем NTproBNP было связано повышение длинноцепочечных ацилкарнитинов (С16:1 и С18:2), метаболита катаболизма триптофана (антралиловая кислота), метаболита азотистого обмена (СДМА, АДМА), неоптерина. С параметрами ремоделирования коррелировали уровни метаболитов кинуренинового и серотонинового путей катаболизма триптофана, метаболитов обмена азота, а также ацилкарнитинов. В свою очередь, для пациентов с концентрической гипертрофией было характерно повышение концентрация циркулирующих уровней 3-гидроксикунуренина и 3-гидроксиантралиловой кислоты, по сравнению с пациентами с концентрическим ремоделированием. Совокупность данных метаболитов может быть предложена к рассмотрению в качестве возможных биомаркеров СН.

Глава 4. ОБСУЖДЕНИЕ

С появлением новых «омиксных» технологий в медицине произошли перемены во взглядах на патогенез ССЗ. Интеграция получаемой подробной информации о метаболических изменениях дает надежду на улучшение понимания патофизиологии СН, определение новых биомаркеров для выявления заболевания на более ранних этапах развития, а также определение возможных терапевтических мишеней для персонализированного подхода к подбору терапии у пациентов с СНсФВ и СНусФВ.

С учетом отсутствия значимого различия по полу и возрасту групп АГ и ХСН+АГ, возможную разницу в метаболитах между данными группами можно объяснить тем, что пациенты на момент включения в исследование находятся на разных этапах сердечно-сосудистого континуума, вследствие более позднего начала лечения пациентов с СН.

В результате проведенного исследования, при сравнении метаболомных профилей пациентов с ХСН, осложнившей течение АГ, пациентов с АГ и здоровых добровольцев были выявлены различия по уровням концентраций в плазме крови трех аминокислот (треонин, аргинин, гистидин); метаболитов азотистого обмена (СДМА, АДМА, ТМАО) и соотношения аргинин/АДМА и ИОБА; метаболитов, являющихся производными путей катаболизма триптофана (кинуренин, 3-гидроксикинуренин, 3-гидроксиантраниловая и антраниловая кислоты) и соотношению кинуренин/триптофан; производных птеринов (биоптерина, неоптерина) и нейромедиатора ацетилхолина и ГАМК; длинноцепочечных ацилкарнитинов.

Подтверждение нарушенного окисления жирных кислот также было продемонстрировано в нашей работе в виде повышения концентраций циркулирующих длинноцепочечных ацилкарнитинов (С16:1, С18:2, С18ОН) у пациентов с ХСН по сравнению с пациентами с АГ и здоровыми добровольцами. Данные изменения согласуются с рядом других экспериментальных исследований модели СН и клинических исследований изменения метаболизма жирных кислот и

ацилкарнитинов при ожирении, АГ, ИБС, в которых была продемонстрирована связь циркулирующих ацилкарнитинов, и особенно длинноцепочечных ацилкарнитинов, с неблагоприятными клиническими исходами [41,42,43,44,51]. Так в одном клиническом исследовании была продемонстрирована связь повышенных уровней длинноцепочечных ацилкарнитинов с выраженными метаболическими нарушениями и прогрессирующей СН [157]. В свою очередь в нашем исследовании длинноцепочечные ацилкарнитины С16:1 и С18:2 были связаны не только с тяжестью СН, но и с лабораторными и инструментальными критериями данного заболевания. Все это позволяет предположить, что повышение уровней длинноцепочечных ацилкарнитинов в плазме крови свидетельствует о сохраняющемся сдвиге метаболомного ремоделирования в сторону гликолиза и ухудшению компенсаторных механизмов и могут быть рассмотрены в качестве биомаркеров СН.

В нашем исследовании было продемонстрировано снижение уровня циркулирующей незаменимой аминокислоты треонина у пациентов с СН по сравнению с пациентами с АГ и здоровыми добровольцами. Учитывая то, что из треонина посредством двухстадийного биохимического пути образуются глицин и серин, проанализировав концентрации данных аминокислот, и значимого различия между всеми тремя группами в данной работе выявлено не было, следовательно снижение концентрации треонина может быть связано либо со сниженным его поступлением (однако вегетарианцы не включались в данное исследование), либо с нехваткой магния и витаминов В3 и В6, которые способствуют лучшей усвояемости треонина, либо с его более активным вовлечением в другие пути катаболизма [158]. Известно, что треонин также принимает участие в синтезе коллагена и эластина, в цикле Кребса, стимулирует процессы роста тканей, способствует нормализации обмена липидов и холестерина в организме. В нашем исследовании была выявлена обратная связь с ИМТ и застоем по МКК, следовательно, может быть маркером гиперволемии легких.

Представляет интерес выявленное в ходе проведения работы снижение концентрации циркулирующей аминокислоты гистидин у пациентов с ХСН.

Известно, что в мышечной ткани из гистидина и аланина образуется карнозин, который обладает кардиопротективным эффектом и выступает как инотропный агент, способный усиливать сократительную способность миокарда за счет высвобождения кальция из саркоплазматического ретикула и повышать чувствительности миофибрилл к кальцию. Предполагаемая физиологическая роль карнозина включает также подавление активных форм кислорода (АФК), хелатирование ионов металлов и защиту от перекисного окисления липидов [159]. Дюпен с соавт., Прокопьева с соавт. и Редди В.П с соавт. представили результаты своих исследований, в которых продемонстрировали антиоксидантные свойства карнозина: в скелетных мышцах ингибирование накопления конечных продуктов перекисного окисления липидов в саркоплазматическом ретикулуме и снижение концентрации малонового диальдегида, а также формирование комплексов с металлами (например, Cu^{2+} , Zn^{2+} и Fe^{2+}), тем самым предотвращая участие ионов металлов в образовании свободных радикалов, таким образом способствуя снижению окислительного стресса [160,161,162]. Несмотря на то, что не вызывает сомнений тот факт, что в большей степени концентрация карнозина зависит от доступности заменимой аминокислоты аланин, недостаточное поступление и образование условно-заменимой аминокислоты гистидин также влияют на скорость образования данного соединения. Соответственно, снижение гистидина может приводить к более низким концентрациям карнозина и, следовательно, к уменьшению его кардиопротективного эффекта. С другой стороны, достоверно нельзя исключить вторичное снижение концентрации гистидина в крови, которое может быть вызвано активацией процессов ремоделирования. Следует отметить, что в нашем исследовании отмечалось снижение уровня условно-заменимой аминокислоты гистидина при неизменном уровне заменимой аминокислоты аланина, что вероятнее всего связано с более активным потреблением гистидина в катаболических реакциях, вероятнее всего, для образования карнозина и гистамина в качестве возможных механизмов компенсации. Подтверждением может служить экспериментальное исследование Giuseppe Potrick Stefani с соавт., в котором пероральный прием β -аланина с L-гистидином у крыс с ХСН ишемической

этиологии способствовал увеличению функциональных возможностей за счет повышения переносимости физической нагрузки, без изменения эхокардиографических (улучшение систолической и диастолической функции) и морфологических показателей [163]. Вероятнее всего, карнозин при СН является не самым важным фактором, модулирующим сократительные функции миокарда, однако стоит отметить улучшение переносимости физической нагрузки при пероральном приеме его предшественников, как в экспериментальных исследованиях на крысах, так и в клинических исследованиях с вмешательством в виде использования добавок данной аминокислоты [163,164].

В настоящее время помимо концепции «повышенной постнагрузки левого желудочка (ЛЖ)», как основной причины СНсФВ, все больше обсуждается вклад в патогенез заболевания системного низкоуровневого воспаления, обусловленного коморбидностью, которое приводит к повреждению эндотелия микрососудов и снижению биодоступности NO. В свою очередь, сигнальный путь NO также идентифицирован как один из потенциально ключевых элементов патогенеза СНсФВ. При более низкой биодоступности NO происходит подавление оси NO-растворимая гуанилатциклаза - (pГЦ) - цГМ-протеинкиназа G (ПКГ). Более низкая активность ПКГ способствует прогрессированию эндотелиальной дисфункции, пролиферации эндотелиоцитов, вазоконстрикции, развитию фиброза и гипертрофии миокарда [129]. Субстратом NO является условно-заменимая аминокислота аргинин. Сигнальный путь NO представляет собой сложную систему, влияющую на вазомоторный тонус, а также на клеточную адгезию, агрегацию тромбоцитов, сосудистую пролиферацию и ангиогенез [128]. АДМА, являясь метилированным производным аргинина и конкурентным ингибитором NO-синтазы регулирует образование NO и способствует развитию ЭД, поэтому повышение концентрации циркулирующего АДМА является косвенным показателем, свидетельствующим о наличии нарушения метаболизма NO[128]. Еще одним важным показателем снижения биодоступности NO, а также риска образования атеросклеротических бляшек является соотношение аргинин/АДМА [131]. В нашей работе было продемонстрировано значимое снижение уровня

аргинина и повышение уровня АДМА у пациентов с ХСН по сравнению с пациентами с АГ и здоровыми добровольцами. Соотношение аргинин/АДМА также значительно снижалось при сравнении исследуемых групп. Такие результаты, вероятнее всего, свидетельствуют о прогрессирующем нарушении эндотелиальной функции у пациентов с ХСН. Отмечалось наличие корреляции концентраций аргинина, соотношения аргинин/АДМА и ИОБА со структурно-функциональными изменениями миокарда при ХСН, в свою очередь высокий уровень АДМА положительно коррелировали в повышенным уровнем NTproBNP, а сниженный уровень аргинина с показателем СОЭ, что также подтверждает значимый вклад нарушения метаболизма аргинина в развитие и прогрессирование ХСН. Полученные нами данные согласуются и с экспериментальными исследованиями на экспериментальной модели застойной сердечной недостаточности, где было продемонстрировано повышение уровня АДМА и снижение эндотелий-зависимой релаксации, стимулируемой ацетилхолином, и с рядом клинических исследований, в которых аналогично демонстрируются схожие результаты, касательно нарушения метаболизма NO при СНсФВ [165,166].

Другим производным аргинина является СДМА, уровень которого как известно повышается при снижении функции почек и рассматривается в качестве раннего маркера острого повреждения почек [167]. В нашем исследовании было выявлено повышение уровня концентрации СДМА в плазме крови у пациентов СН, что в первую очередь, предположительно было связано с наличием сопутствующей патологии – ХБП. Последующая статистическая обработка данных продемонстрировала наличие связи повышенного уровня СДМА с наличием ХБП у пациентов с ХСН, с повышенным уровнем креатинина. Однако более интересным представляется выявленная связь данного метаболита с более выраженным клиническим течением СН, более высоким уровнем биомаркера СН – NTproBNP.

Значимо более высокий уровень концентрации ТМАО в плазме крови наблюдался у пациентов с СН по сравнению с пациентами с АГ и группой здоровых добровольцев в нашем исследовании. ТМАО является метаболитом, сильно зависящим от кишечной микробиоты, так как она играет важную роль в

превращении пищевого холина в триметиламин который поступает в кровь и окисляется до ТМАО в печени печеночной флавиносодержащей монооксигеназой. В последнее время появляется все больше работ о связи ТМАО с ССЗ, такими как атеросклероз, АГ и ИМ [168]. Также существует мнение, что данный метаболит участвует и в прогрессировании СН. В серии экспериментальных исследований демонстрировался механизм повышенного образования ТМАО за счет развития гипоперфузии, ишемии и отека стенки кишечника при СН, что способствовало изменению состава кишечной микробиоты. Вследствие чего происходило индуцируемое повышенным уровнем ТМАО высвобождение провоспалительных цитокинов (ИЛ-1, ИЛ-6, ФНО- α), которое способствовало развитию и поддержанию хронического системного воспаления [168]. Кроме того, ТМАО участвует и в других биологических процессах: активация агрегации тромбоцитов, увеличение образования пенистых клеток, образование митохондриальных активных форм кислорода и уменьшение обратного транспорта холестерина [168]. Наибольший интерес представляет прямое влияние ТМАО на развитие гипертрофии и фиброза миокарда. Данный механизм хорошо описан в экспериментальном исследовании Li и соавт., в котором у крыс с индуцированным поперечным сужением аорты и вызванной перегрузкой давлением СН, были выявлены повышенные уровни циркулирующего ТМАО, которые посредством сигнального пути Smad3 способствовал гипертрофии и фиброзу миокарда [169]. При дополнительном пероральном приеме ТМАО или холина, у крыс наблюдался более выраженный отек легких, дилатация ЛЖ, воспаление и фиброз миокарда и повышенный уровень циркулирующего НУП по сравнению с контрольными группами без поперечного сужения аорты [170]. В другом экспериментальном исследовании кормления мышей ТМАО способствовало повышению его уровня в плазме крови, что способствовало нарушению энергетический метаболизм сердца в виде нарушения окисления ЖК и пирувата, что в конечном итоге привело к ремоделированию желудочков и развитию СН [171]. Кроме прочего, снижение функции почек способствует накоплению ТМАО вследствие нарушения выведения из организма. Однако данные клинических исследований достаточно разнородны.

Так в одном исследовании выявленные повышенные уровни ТМАО показали прогностическую значимость в отношении предсказания сердечно-сосудистых событий у пациентов с СНнФВ, но не у пациентов с СНсФВ, в другом - способствовали стратификации риска пациентов с СНсФВ, особенно когда уровни BNP были невысокими [172,173]. Однако это не исключает того, что все описанные патофизиологические механизмы влияния ТМАО представляют замкнутый круг, который еще больше усугубляет течение СН. В нашем исследовании более высокий уровень ТМАО коррелировал с более низким уровнем СОЭ и не был связан с показателем СРБ. А выявленные прямые корреляции метаболита параметрами ремоделирования миокарда (ИММЛЖ) говорят в пользу вклад нарушенного метаболизма ТМАО в развитие СН. Следовательно, метаболиты азотистого обмена, вносящие значимый вклад в развитие и прогрессирование эндотелиальной дисфункции, следует рассмотреть в качестве возможных биомаркеров и целей персонализированной терапии пациентов с СНсФВ и СНпФВ.

Аналогичные данные были получены нами и в отношении АЦХ, который образуется из условно заменимой аминокислоты – холина. Его воздействия на миокард опосредованы через активацию М-холинорецепторов в миокарде и эндотелии сосудов, что приводит к увеличению выработки NO и расслаблению гладкомышечных клеток сосудов, увеличению силы сокращения [174]. Также известно его стимулирующее действие на синтез NO, а, следовательно, снижение данного метаболита может привести к прогрессированию ЭД. В нашем исследовании выявлен статистически значимо более низкий уровень ацетилхолина в группе пациентов ХСН по сравнению двумя другими группами, а как следствие, можно предположить, что снижены и кардиопротекторные эффекты АЦХ. В свою очередь нейромедиатор центральной нервной системы – ГАМК статистически значимо повышался у пациентов с СН, что вероятнее всего можно объяснить нарушением когнитивных функций у пациентов, однако данный анализ не проводился в нашем исследовании [175,176].

Еще одним интересным результатом нашей работы является выявление повышения уровня биоптерина и неоптерина в плазме крови у пациентов с ХСН. Они являются производными птеринов, повышение концентраций которых характеризуется дефицитом ВН4 в организме. ВН4 представляет собой кофактор ряда важных биохимических реакций, протекающих в организме. Дефицит ВН4 приводит к торможению таких реакций, как образование тирозина из фенилаланина, синтез дофамина и серотонина, образование NO из аргинина, окислительное расщепление эфиров липидов [177]. Следовательно, повышение уровня производных птеринов в нашем исследовании ухудшает биодоступность NO и частично объясняет снижение уровня тирозина у пациентов с ХСН по сравнению с пациентами с АГ. Так в исследовании В.М. Mitchell и соавт. была продемонстрирована способность ароматических кислот фенилаланина и тирозина опосредованно через доступность кофермента ВН4 оказывать независимое влияние на эндотелиальную функцию [98]. К другим возможным механизмом снижения уровня тирозина можно отнести усиленную активацию других путей превращения фенилаланина, либо более быстрый расход тирозина в путях катаболизма с образованием метаболитов, участвующих в цикле Кребса или повышенным образованием и использованием катехоламинов при ХСН. Однако увеличение уровней катехоламинов в плазме крови в нашем исследовании продемонстрировано не было.

Возвращаясь ко вкладу системного низкоуровневого воспаления в развитие и прогрессирование СН, нельзя не отметить изменения, происходящие в кинурениновом пути катаболизма незаменимой кислоты - триптофана. Известно, что продукты катаболизма триптофана последнее время рассматриваются в качестве регуляторов иммунных реакций, способствующих дифференцировке регуляторных Т-клеток и повышению провоспалительных цитокинов (ИЛ-6 и ИФ- γ) в крови [178,179]. В нашей работе мы изучали уровни метаболитов путей катаболизма триптофана у пациентов с ХСН, осложнившей течение АГ и отметили значимое повышение большинства продуктов кинуренинового пути (кинуренин, 3-гидроксикинуренин, антраниловая кислота, 3-гидроксиантрониловая кислоты) и

соотношения кинуренин/триптофан. Кроме прочего, ожидаемо были выявлены корреляции уровня С-реактивного белка с кинуренином и соотношением кинуренин/триптофан. Помимо связи с воспалением, преобладание продуктов катаболизма КУП способствует снижению концентрации ниацина, который способен положительно влиять на углеводный обмен, липидный профиль, микроциркуляцию (сосудорасширяющее действие), способствовать клеточному энергетическому гомеостазу в форме НАД⁺, который является распространенным окислительно-восстановительным кофактором в различных биологических процессах [113,180]. Другие наши результаты демонстрировали, что по мере развития и прогрессирования ССЗ происходит постепенное усугубление нарушений по кинурениновому пути в виде последовательного нарастания уровней кинуренина, соотношения кинуренин/Трп, хинолиновой, кинурениновой и 5-ГИУК и снижение концентраций триптофана и серотонина в группах АГ, АГ с наличием доказанного периферического атеросклероза и ИБС [181]. Настоящее исследование продемонстрировало прогрессирующее нарушение катаболизма триптофана у пациентов ХСН, что может говорить о большей выраженности таких процессов, как низкоуровневое системное воспаление, которое способствует дальнейшему прогрессированию ХСН.

В нашем исследовании не отмечалось статистически значимого повышения уровней АА (фенилаланина и тирозина) и даже наблюдалась тенденция к их снижению по сравнению с группой пациентов с АГ, которая статистически значимо отличалась от уровней АА у здоровых добровольцев. В нашем предыдущем исследовании, как и в ряде зарубежных исследований, отмечалось значимое повышение уровней циркулирующих АА в плазме крови при АГ, следовательно, тенденция в нашем исследовании к снижению уровней АА у пациентов с СН вероятно обусловлена применением комбинированной антигипертензивной терапии [68,71,72,82,182].

Известно, что уровни валина, лейцина и изолейцина играют роль в развитии АГ [68,71,72,82]. Нами было выявлено различие по уровням концентраций ВСАА между группами АГ и ХСН+АГ при сопоставимых концентрация ВСАА в группах

ХСН+АГ и контроля. Однако, наблюдается тенденция к снижению уровней ВСАА у пациентов с ХСН. Учитывая наши результаты и результаты исследований зарубежных коллег, которые демонстрируют повышение уровней ВСАА у пациентов с АГ по сравнению с группой контроля, выявленная тенденция к снижению уровней ВСАА у пациентов с ХСН вероятнее всего связана с более адекватной терапией у пациентов с ХСН и ее воздействием на разные механизмы патогенеза ХСН [69, 183]. Кроме прочего, в последние годы стали появляться данные о возможном ингибирующем эффекте сартанов на киназу дегидрогеназы α -кетокислот с разветвленной цепью, что приводит к повышению активности фермента, катализирующего необратимую реакцию превращения ВСАА в эфиры альфа-кетокислот, а затем и в ацетил-КоА или сукцинил-КоА [184]. Терапевтическим эффектом в экспериментальной модели являлось замедление прогрессирования СН, вызванной перегрузкой давлением и ослабление инсулинорезистентности, вызванной повышенными уровнями ВСАА. Следует также отметить, что в обеих группах с ССЗ не было статистически значимых отличий по количеству пациентов с НТГ или СД, дислипидемией, что также могло внести свой вклад в отсутствие достоверных различий по уровням ВСАА в исследуемых группах.

Таким образом, настоящее исследование впервые описывает наиболее полный метаболомный профиль пациентов с СНсФВ и СНусФВ, метаболиты которого были значимо связаны с основными признаками СН, что позволяет предположить, что их изменение является отражением ХСН с ФВ более 45% и, следовательно, необходима дальнейшая разработка панели для диагностики данных фенотипов СН.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

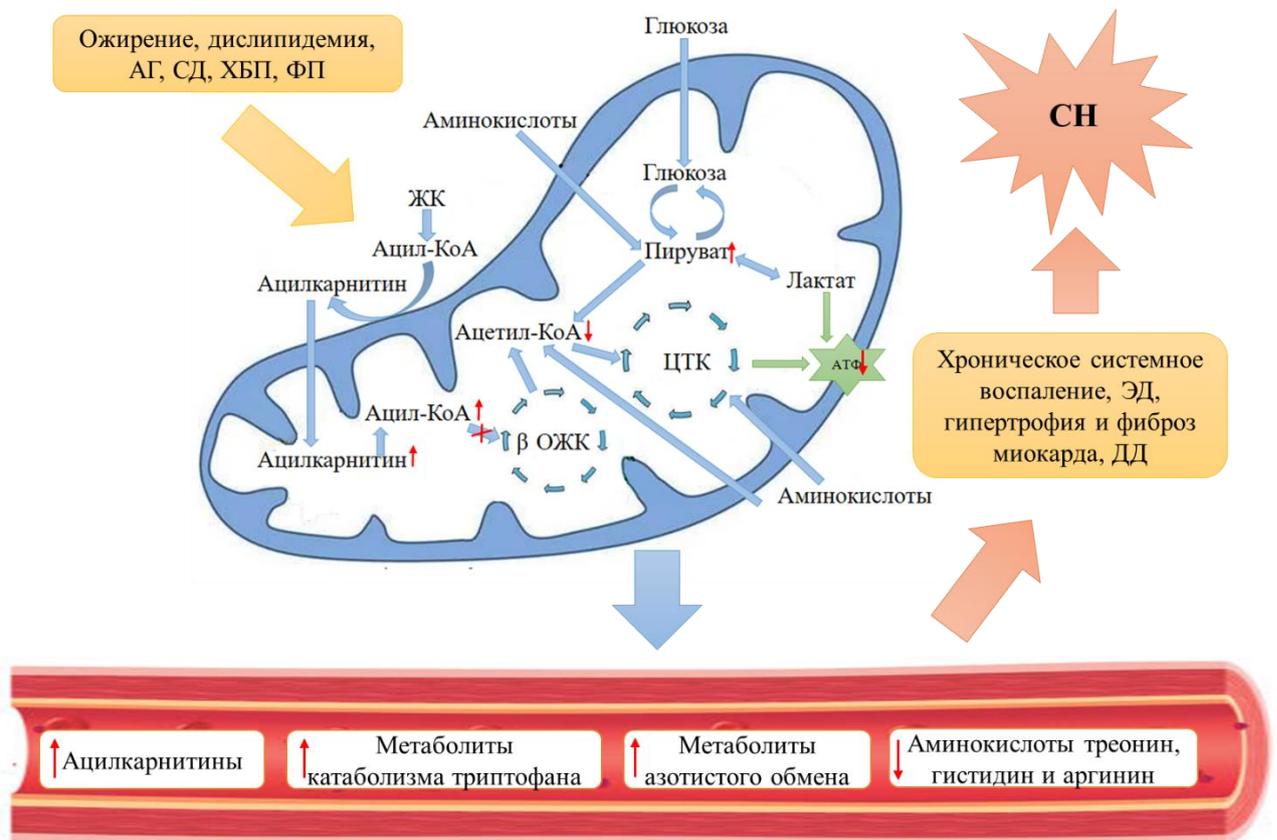
В нашем исследовании мы изучали метаболомные профили пациентов с СНсФВ и СНусФВ, однако большинство пациентов относились к фенотипу СНсФВ, которая отвоевывает все больше места в структуре СН. Фенотип СНсФВ в настоящее время остается большой проблемой, так как сохраняются пробелы в понимании патогенеза, не выявлены убедительные биомаркеры необходимые для диагностики и отсутствует четкий алгоритм ведения данных пациентов. Пациенты с СН были сопоставимы с пациентами с АГ по наличию дислипидемии, НТГ или СД, доказанного атеросклероза БЦА, ХБП и различались – по наличию гиперурикемии, ожирения, ФП, ОНМК, которые встречались чаще у пациентов с СН.

Благодаря проведенному метаболомному анализу нами были выделены повышенные уровни метаболитов, характерных для АГ по сравнению со здоровыми добровольцами: коротко-, средне- и длинноцепочечных ацилкарнитинов (C4, C5, C5:1, C6DC, C10:2, C16, C16OH, C18:1), аминокислот (метионина, триптофана, лейцина, лизина, фенилаланина, тирозина, глутаминовой кислоты, аланина), метаболитов кинуренинового пути (кинуреновой и хинолиновой кислот), метаболитов азотистого обмена (цистатинина, холина, орнитина) и нейромедиатора норэпинефрина.

Наше исследование также демонстрирует, что некоторые метаболиты по мере прогрессирования заболевания и присоединения ХСН продолжают значительно изменяться, но несмотря на это, нами были выделены метаболиты, характерные непосредственно для ХСН. Так для СН, осложнившей течение АГ наиболее характерны изменения в путях обмена незаменимых и условно-заменимых аминокислот треонина и гистидина, в путях азотистого обмена (аргинин, СДМА, АДМА, ТМАО), в кинурениновом и серотониновом путях катаболизма триптофана и некоторых ацилкарнитинов (рисунок 22).

В настоящее время метаболомика набирает все большую популярность в исследовании различных заболеваний. Проведен ряд исследований и по оценке

метаболического профиля и пациентов с СН, однако в большинстве этих исследований данные очень сложно интерпретировать, так как включались в исследования достаточно разнородные пациенты с СН. Новизна настоящего исследования заключается в том, что впервые был наиболее полно описан метаболический профиль у пациентов с СН, осложнившей течение АГ с сохраненной и умеренно сниженной ФВ и проведен сравнительный анализ уровня метаболитов ХСН, осложнившей течение АГ и АГ.



АГ – артериальная гипертензия, АТФ- аденозинтрифосфат, ДД – диастолическая дисфункция, ЖК – жирные кислоты, ОЖК – окисление жирных кислот, СД – сахарный диабет, СН – сердечная недостаточность, ХБП – хроническая болезнь почек, ФП –фибрилляция предсердий, ЭД – эндотелиальная дисфункция.

Рисунок 22 —Схема нарушения метаболизма при хронической сердечной недостаточности, осложнившей течение артериальной гипертензии

Изменения в вышеописанных метаболомных путях были ассоциированы с более тяжелым течением сердечной недостаточности сохраненной и умеренно сниженной ФВ. Корреляции уровней метаболитов кинуренинового и серотонинового путей катаболизма триптофана, метаболитов обмена азота, а также ацилкарнитинов со структурно-функциональными изменениями сердца (ГЛЖ, дилатацией полостей, ДД) отражают вклад нарушенного метаболизма в развитие и прогрессирование ХСН. Более выраженные изменения в метаболизме аргинина у пациентов основной группы свидетельствуют о значимом вкладе оксидативного стресса и ЭД в развитие ХСН. Изменения метаболитов кинуренинового пути катаболизма триптофана позволили предположить значимость вклада низкоуровневого системного воспаления в патогенез ХСН.

В нашем исследовании шесть метаболитов продемонстрировали наиболее значимую связь с повышенным уровнем NT-proBNP. Выявлены корреляции уровней циркулирующих метаболитов со структурно-функциональными изменениями сердца (ГЛЖ, дилатацией полостей, ДД) при ХСН, осложнившей течение АГ. У пациентов с концентрической гипертрофией отмечено статистически значимое повышение уровней 3-гидроксикунуренина и 3-гидроксиантраниловой кислоты, по сравнению с пациентами с концентрическим ремоделированием. Дальнейшая разработка панели, в виде определения совокупности концентраций длиноцепочечных ацилкарнитинов C16:1, C18:OH, C18:2, антраниловой кислоты, аргинина и соотношения аргинин/АДМА и ИОБА может быть предложена в качестве биомаркера СНсФВ и СНусФВ.

Дальнейшие исследования в этой области позволят расширить понимание патогенетических механизмов развития и прогрессирования СН и помогут сформировать концепцию ранней диагностики пациентов с факторами риска развития сердечно-сосудистых осложнений.

ВЫВОДЫ

1. При сравнительном анализе метаболомного профиля выявлены метаболиты, повышение которых характерно для пациентов с артериальной гипертензией: ацилкарнитинов, незаменимых, условно-заменимых и заменимых аминокислот, метаболитов кинуренинового пути катаболизма триптофана, метаболитов азотистого обмена и норэпинефрина. Для пациентов с хронической сердечной недостаточностью, осложнившей течение артериальной гипертензии характерно снижение концентраций в плазме крови треонина (Me=97,7 мкМ), аргинина (M=78,6 мкМ), гистидина (M=39,0 мкМ), ацетилхолина (Me=0,240 мкМ), соотношения аргинин/АДМА (Me=150,2 мкМ) и ИОБА (Me=0,717 мкМ); повышение концентраций кинуренина (Me=966,9 мкМ), 3-гидроксикинуренина (Me=1158,4 мкМ), 3-гидроксиантраниловой (Me=22,24 мкМ) и антраниловой кислот (Me=9,85 мкМ), 5-ГИУК (Me=11,61 мкМ) и соотношения кинуренин/триптофан (Me=0,0166 мкМ), АДМА (Me=0,476 мкМ), СДМА (Me=0,568 мкМ), ТМАО (Me=4,8 мкМ), ГАМК (Me=155,6 мкМ), биоптерина (Me=1,76 мкМ) и неоптерина (Me=8,9 мкМ), повышение концентрации длинноцепочечных ацилкарнитинов (C16:1, Me=0,0189 мкМ; C18ОН, Me=0,035 мкМ; C18:2, Me=0,0008 мкМ).

2. Более тяжелое течение хронической сердечной недостаточности ассоциировано с повышением уровней длинноцепочечных ацилкарнитинов C16:1 и C18ОН, антраниловой кислоты, соотношения кинуренин/триптофан, а также со снижением уровня аргинина и соотношения аргинин/АДМА.

3. Выявлены корреляции уровней метаболитов кинуренинового и серотонинового путей катаболизма триптофана, метаболитов обмена азота, а также ацилкарнитинов со структурно-функциональными изменениями сердца (ГЛЖ, дилатацией полостей сердца, ДД) при хронической сердечной недостаточности с сохраненной и умеренно сниженной фракцией выброса, осложнившей течение артериальной гипертензии, что отражает вклад нарушения метаболизма в формирование гипертрофии миокарда и развитие фиброза.

4. Определены метаболомные биомаркеры хронической сердечной недостаточности с сохраненной и умеренно сниженной фракцией выброса, которые представлены маркерами эндотелиальной дисфункции: условно-заменимой аминокислотой - аргинин, а также соотношениями аргинин/АДМА и ИОБА; маркерами, отражающими нарушение окисления жирных кислот: длиноцепочечными ацилкарнитинами C16:1, C18OH и C18:2; маркером, характеризующим хроническое системное воспаление - антраиловой кислотой. Суммарная панель данных метаболитов может быть рассмотрена в качестве биомаркера хронической сердечной недостаточности, осложнившей течение артериальной гипертензии с фракцией выброса не менее 45%.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Определен набор метаболитов, представленный C16:1, C18ОН и C18:2, антраниловой кислотой, аргинином, и соотношением аргинин/АДМА и ИОБА, который может лечь в основу разработки диагностической панели хронической сердечной недостаточности с фракцией выброса не менее 45% на основе метаболомного профилирования.
2. Диагностическая метаболомная панель, включающая определение уровня аргинина, СДМА, ТМАО, соотношения аргинин/АДМА и ИОБА, треонина, гистидина, кинуренина, 3-гидрокскинуренина, 3-гидроксиантраниловой и антраниловой кислот, 5-ГИУК и соотношения кинуренин/триптофан, биоптерина и ацилкарнитина C16:1 и C18ОН может рассматриваться в качестве дополнительного маркера риска развития хронической сердечной недостаточности.
3. Изменение концентрации циркулирующего треонина можно рассмотреть в качестве возможного маркера эффективности диуретической терапии на постгоспитальном этапе.
4. Выявленные нарушения метаболизма при дальнейшем изучении могут рассматриваться в качестве дополнительных путей терапевтического воздействия, что открывает новые возможности для персонализированного подхода в лекарственной терапии пациентов с хронической сердечной недостаточности с сохраненной и умеренно сниженной фракцией выброса.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

5-ГИУК	- 5-гидроксииндолуксусная кислота
BCKD	- Дегидрогеназы альфа-кетокислот с разветвленной цепью
BCAA	- Аминокислоты с разветвленной цепью
BCAT	- Аминотрансфераза альфа-кетокислот с разветвленной цепью
BCKA	- Альфа-кетокислота с разветвленной цепью
BH4	- Тетрабиоптерин
BNP	- Мозговой натрийуретический пептид
CO ₂	- Углекислый газ
Cu ²⁺	- Медь
Fe ²⁺	- Железо
HS-CoA	- Коэнзим А
Long-chain	- Ацилкарнитин с длинной цепью
M	- Средние арифметические
Me	- Медиана
Medium-chain	- Ацилкарнитин со средней цепью
mTOR	- Серин/треонин-протеинкиназная мишень рапамицина млекопитающих
NO	- Оксид азота
Non-esterified	- Неэстерифицированный или свободный
NT-proBNP	- N-терминальный фрагмент мозгового натрийуретического пептида
NYHA	- Нью-Йоркская кардиологическая ассоциация
OPLSDA	- Дискриминантный ортогональный анализ
PCA	- Метод главных компонент
proBNP	- Предшественник мозгового натрийуретического пептида
Q	- квартили
SD	- стандартные отклонения

Short-chain	- Ацилкарнитин с короткой цепью
Zn 2+	- Цинк
АА	- Ароматические аминокислоты
АГ	- Артериальная гипертензия
АД	- Артериальное давление
АДМА	- Асимметричный диметиларгинин
АДФ	- Аденозиндифосфат
Ала	- Аланин
АЛТ	- Аланинаминотрансфераза
АнII	- Ангиотензина II
БРА	- Блокаторы рецептора ангиотензина II
Арг	- Аргинин
Асп	- Аспарагиновая кислота
АСТ	- Аспартатаминотрансфераза
АТФ	- Аденозинтрифосфат
АФК	- Активных форм кислорода
Ацетил-КоА	- Ацетилкафермент А
Ацил-КоА	- Ацил-коэнзим А
АЦХ	- Ацетилхолин
БАБ	- Бета-адреноблокаторы
БКК	- Блокаторы кальциевых каналов
БЦА	- Брахиоцефальные артерии
Вал	- Валин
ВЭЖХ	- Высокоэффективная жидкостная хроматография
ГАМК	- Гамма-аминомасляная кислота
Гис	- Гистидин
ГЛЖ	- Гипертрофия левого желудоска
Гли	- Глицин
Глу	- Глутаминовая кислота

ГХ	- Газовая хроматография
ДАД	- Диастолическое артериальное давление
ДД	- Диастолическая дисфункция
Е, см/с	- Скорость трансмитрального потока в раннюю диастолу
Е/А	- отношения показателей трансмитрального потока в фазу раннего и позднего диастолического наполнения ЛЖ (Е/А).
Е/е'	- Отношение максимальных скоростей раннего наполнения трансмитрального кровотока и движения фиброзного кольца митрального клапана в раннюю диастолу
е'латер	- Латеральная скорость фиброзного кольца митрального клапана
е'септ	- Септальная скорость фиброзного кольца митрального клапана
Е	- Энергия
ЖК	- Жирные кислоты
ЖХ	- Жидкостная хроматография
ЗС	- Задняя стенка
иАПФ	- Ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента
ИБС	- Ишемическая болезнь сердца
ИДО	- Индоламин 2,3-диоксигеназа
ИЛ	- Интерлейкин
Илей	- Изолейцин
ИМ	- Инфаркт миокарда
ИММЛЖ	- Индекс массы миокарда левого желудочка
ИМТ	- Индекс массы тела
ИОБА	- Индексобщей биодоступности аргинина
ИОЛП	- Индекс объема левого предсердия
ИФ	- Интерферон
ИФА	- Иммуноферментный анализа
КА	- Коронарные артерии

КАГ	- Коронароангиография
КАТ	- Карнитинацилтрансфераза
КДР	- Конечно-диастолический размер
КМО	- Кинуренин-3-монооксигеназа
КМП	- Кардиомиопатия
КМЦ	- Кардиомиоцит
Кф	- Креатинфосфат
КФК	- Креатинфосфокиназа
Лей	- Лейцин
ЛЖ	- Левый желудочек
Лиз	- Лизин
ЛПВП	- Липопротеины высокой плотности
ЛПНП	- Липопротеины низкой плотности
ЛПОНП	- Липопротеины очень низкой плотности
Мет	- Метионин
МЖП	- Межжелудочковая перегородка
МК	- Митральный клапан
МКК	- Малый круг кровообращения
мкМ	- Микромоль
ММЛЖ	- Масса миокарда левого желудочка
МС	- Масс-спектрометрия
МСКТ	- Мультиспиральная компьютерная томография
H ₂ O	- Вода
НАД	- Никотинамидадениндинуклеотид
НАДФ	- Никотинамидадениндинуклеотидфосфат
НОАК	- Новые оральные антикоагулянты
НТГ	- Нарушение толерантности к глюкозе
НУП	- Натрийуретический пептид
O ₂	- Кислород

ОДСН	- Острая декомпенсированная сердечная недостаточность
ОЖК	- Окисление жирных кислот
ОЛП	- Объем левого предсердия
ОНМК	- Острое нарушение мозгового кровообращения
ОПП	- Объем правого предсердия
Орн	- Орнитин
ОТС	- Относительная толщина стенки
ПАД	- Пульсовое артериальное давление
ПГТТ	- Перорального глюкозотолерантного теста
ПДК	- Пируватдегидрогеназа
ПКГ	- Протеинкиназа G
ППТ	- Площадь поверхности тела
Про	- Пролин
ПТВ	- Предтестовая вероятность
РААС	- Ренин-ангиотензин-альдостероновой система
рГЦ	- Растворимая гуанилатциклаза
РФ	- Российская Федерация
С16:1	- Гексадеценоилкарнитин
С18:2	- Линолеилкарнитин
С18ОН	- 3-гидроксиоктадуценоил-карнитин
Са ²⁺	- Кальций
САД	- Систолическое артериальное давление
САС	- Симпато-адреналовой система
СД	- Сахарный диабет
СДЛА	- Систолическое давление в легочной артерии
СДМА	- Симметричный диметиларгинин
Сер	- Серин
СКФ	- Скорость клубочковой фильтрации
СМАД	- Суточное мониторирование артериального давления

СН	- Сердечная недостаточность
СНнФВ	- Сердечная недостаточность со сниженной фракцией выброса
СНсФВ	- Сердечная недостаточность с сохранённой фракцией выброса
СНусФВ	- Сердечная недостаточность с умеренно-сниженной фракцией выброса
СОЭ	- Скорость оседания эритроцитов
СРБ	- С-реактивный белок
ССЗ	- Сердечно-сосудистые заболевания
ТГ	- Триптофан гидроксилаза
ТДО	- Триптофан 2,3-диоксигеназой
Тир	- Тирозин
ТМАО	- Триметиламиноксид
ТМГ	- Триметилглицин
Тре	- Треонин
Три	- Триптофан
ТТГ	- Тиреотропный гормон
УЗИ	- Ультразвуковое исследование
ФАД	- Флавинадениндинуклеотид
ФАДН	- Восстановленный флавинадениндинуклеотида
ФВ	- Фракция выброса
Фен	- Фенилаланин
ФНО	- Фактор некроза опухоли
ФП	- Фибрилляция предсердий
ХБП	- Хроническая болезнь почек
Хол	- Холин
ХСН	- Хроническая сердечная недостаточность
цАМФ	- Циклический аденозинмонофосфат
цГМФ	- Циклический гуанозинмонофосфат
Цист	- Цистатионин

Цит	- Цитруллин
ЧСС	- Частота сердечных сокращений
ЭД	- Эндотелиальная дисфункция
ЭКГ	- Электрокардиография
ЭХО-КГ	- Эхокардиография
ЯМР	- Ядерный магнитный резонанс

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. ЭПОХА-АГ 1998–2017 гг.: динамика распространенности, информированности об артериальной гипертензии, охвате терапией и эффективного контроля артериального давления в Европейской части РФ / Ю.В. Бадин, И.В. Фомин, Ю.Н. Беленков [и др.] // Кардиология. - 2019. – Т. 59. - № 1S. - С. 34-42.
2. Артериальная гипертензия среди лиц 25-64 лет: распространенность, осведомленность, лечение и контроль. По материалам исследования ЭССЕ / С.А. Бойцов, Ю.А. Баланова, С.А. Шальнова [и др.] // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. - 2014. – Т. 13. - № 4. - С.4-14.
3. World Heart Federation Roadmap for Heart Failure / J.P. Ferreira, S. Kraus, S. Mitchell [et al.] // Global Heart. - 2019. – Vol. 14. - № 3. - P. 197-214.
4. Хроническая сердечная недостаточность в Российской Федерации: что изменилось за 20 лет наблюдения? Результаты исследования ЭПОХА-ХСН / Д.С. Поляков, И.В. Фомин, Ю.Н. Беленков [и др.] // Кардиология. - 2021. – Т. 61. - № 4. - С. 4-14.
5. Агеев, Ф.Т. Сердечная недостаточность с промежуточной фракцией выброса левого желудочка: существует ли клиническая необходимость выделения ее в отдельную подгруппу? / Ф.Т. Агеев, А.Г. Овчинников // Кардиология. - 2018. – Т. 58. - № 12S. – С. 4-10.
6. Клинические рекомендации ОССН - РКО - РНМОТ. Сердечная недостаточность: хроническая (ХСН) и острая декомпенсированная (ОДСН). Диагностика, профилактика и лечение / В.Ю. Мареев, И.В. Фомин., Ф.Т. Агеев [и др.] // Кардиология. - 2018. - Т. 58. - № 6S. - С. 8-158.
7. Кожевникова, М.В. Биомаркеры сердечной недостаточности: настоящее и будущее / М.В. Кожевникова, Ю.Н. Беленков // Кардиология. – 2021. – Т. 61. - № 5. – С. 4-16.
8. Metabolomic signatures of cardiac remodelling and heart failure risk in the community / C. Andersson, C. Liu, S. Cheng [et al.] // ESC Heart Failure. - 2020. – Vol. 7. - № 6. - P. 3707-3715.

9. Cardiac Energy Metabolism in Heart Failure / G.D. Lopaschuk, Q.G. Karwi, R. Tian, [et al.] // *Circulation research*. - 2021. – Vol. 128. - № 10. - P. 1487–1513.
10. Quantitative Metabolomics Reveals Heart Failure With Midrange Ejection Fraction as a Distinct Phenotype of Heart Failure / H. Zhao, B. Shui, Q. Zhao [et al.] // *Canadian Journal of Cardiology*. - 2021. – Vol. 37. - № 2. - P.300-309.
11. Metabolomics Fingerprint Predicts Risk of Death in Dilated Cardiomyopathy and Heart Failure / A. Vignoli, A. Fornaro, L. Tenori [et al.] // *Frontiers in Cardiovascular Medicine*. – 2022. Vol. 9. - P. 851905.
12. Energy Metabolites as Biomarkers in Ischemic and Dilated Cardiomyopathy / J. Haas, K.S. Frese, F. Sedaghat-Hamedani [et al.] // *International Journal of Molecular Sciences*. - 2021. – Vol. 22. - № 4. - P. 1999.
13. Characteristics of Blood Metabolic Profile in Coronary Heart Disease, Dilated Cardiomyopathy and Valvular Heart Disease Induced Heart Failure / C. Liu, R. Li, Y. Liu [et al.] // *Frontiers in Cardiovascular Medicine*. – 2021. – Vol. 7. – P. 622236.
14. Metabolomic Profiling of End-Stage Heart Failure Secondary to Chronic Chagas Cardiomyopathy / M.L. Díaz, K. Burgess, R. Burchmore [et al.] // *International Journal of Molecular Sciences*. - 2022. – Vol. 23. - № 18. – P. 10456.
15. 2022 AHA/ACC/HFSA Guideline for the Management of Heart Failure: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Joint Committee on Clinical Practice Guidelines / P.A. Heidenreich, B. Bozkurt, D. Aguilar [et al.] // *Journal of the American College of Cardiology*. - 2022. -Vol. 79. - № 17. - P. e263-e421.
16. How to diagnose heart failure with preserved ejection fraction: the HFA-PEFF diagnostic algorithm: a consensus recommendation from the Heart Failure Association (HFA) of the European Society of Cardiology (ESC) / B. Pieske, C. Tschöpe, R.A. de Boer [et al.] // *European Heart Journal*. - 2019. – Vol. 40. - № 40. - P. 3297-3317.
17. The Euro Heart Failure Survey of the EUROHEART survey programme. A survey on the quality of care among patients with heart failure in Europe. The Study Group on Diagnosis of the Working Group on Heart Failure of the European Society of Cardiology. The Medicines Evaluation Group Centre for Health Economics University of York / J.G.

- Cleland, K. Swedberg, A. Cohen-Solal [et al.] // *European Journal of Heart Failure*. - 2000. - Vol. 2. - № 2. - P. 123-32.
18. Baliga, R.R. *Management of Heart Failure: Volume 1: Medical*. / R.R. Baliga, G.J. Haas (Editor). - Springer-Verlag London, 2015. – 336 p. – ISBN 978-1-44716-656-6.
19. Cardiovascular and Renal Outcomes with Finerenone, a Selective Mineralocorticoid Receptor Antagonist / S. Palanisamy, M. Funes Hernandez, T.I. Chang, K.W. Mahaffey // *Cardiology and Therapy*. - 2022. – Vol. 11. - № 3. - P. 337-354.
20. Yoshikawa, T. Alterations in sympathoadrenal system in congestive heart failure / T. Yoshikawa // *Nihon Rinsho*. - 2003. – Vol. 61. - № 5. - P. 739-44.
21. Volpe, M. Endocrine functions of the heart: from bench to bedside / M. Volpe, G. Gallo, S. Rubattu // *European heart journal*. - 2022. Vol. 44. - № 8. - P. 643–655.
22. Кобалава, Ж.Д. Значение сигнального пути “оксид азота — растворимая гуанилатциклаза — циклический гуанозинмонофосфат” в патогенезе сердечной недостаточности и поиске новых терапевтических мишеней / Ж.Д. Кобалава, П.В. Лазарев // *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. - 2021. - № 20. - № 6. - С. 3035.
23. Ghosh, N. Atrial natriuretic peptides in heart failure: pathophysiological significance, diagnostic and prognostic value / N. Ghosh, H. Haddad // *Canadian journal of physiology and pharmacology*. - 2011. – Vol. 89. - № 8. - P. 587–591.
24. Soluble Guanylate Cyclase Stimulators and Activators / P. Sandner, D.P. Zimmer, G.T. Milne [et al.] // *Handbook of experimental pharmacology*. – 2021. – Vol. 264. - P. 355–394.
25. Douglas, L. Mann. *Mechanisms and Models in Heart Failure* / L. Mann Douglas // *Circulation*. - 2005. – Vol. 111. - № 21. - P. 2837-2849.
26. American Heart Association Council on Basic Cardiovascular Sciences. *Assessing Cardiac Metabolism: A Scientific Statement From the American Heart Association* / H. Taegtmeyer, M.E. Young, G.D. Lopaschuk [et al.] // *Circulation research*. - 2016. – Vol. 118. - № 10. - P. 1659–17017.

27. Metabolic Flexibility as an Adaptation to Energy Resources and Requirements in Health and Disease / R.L. Smith, M.R. Soeters, R.C.I. Wüst, R.H. Houtkooper // *Endocrine reviews*. - 2018. – Vol. 39. - № 4. - P. 489–517.
28. Wende, A.R. Metabolic Origins of Heart Failure / A.R. Wende, M.K. Brahma, G.R. McGinnis, M.E. Young // *JACC. Basic to translational science*. - 2017. – Vol. 2. - № 3. - P. 297–310.
29. Wyss, M. Creatine metabolism and the consequences of creatine depletion in muscle / M. Wyss, T. Wallimann // *Molecular and cellular biochemistry*. - 1994. – № 133-134. - P. 51–66.
30. Ingwall, J.S. Energy metabolism in heart failure and remodeling / J.S. Ingwall // *Cardiovascular research*. - 2009. – Vol. 81. - № 3. - P. 412–419.
31. Casademont, J. Electron transport chain defects in heart failure / J. Casademont, O. Miró // *Heart failure reviews*. - 2002. – Vol. 7. - № 2. - P. 131–139.
32. Marín-García, J. Abnormal cardiac and skeletal muscle mitochondrial function in pacing-induced cardiac failure / J. Marín-García, M.J. Goldenthal, G.W. Moe // *Cardiovascular research*. - 2001. – Vol. 52. - № 1. - P. 103–110.
33. Absolute concentrations of high-energy phosphate metabolites in normal, hypertrophied, and failing human myocardium measured noninvasively with ³¹P-SLOOP magnetic resonance spectroscopy / M. Beer, T. Seyfarth, J. Sandstede [et al.] // *Journal of the American College of Cardiology*. - 2002. – Vol. 40. - № 7. - P. 1267–1274.
34. Mechanisms of creatine depletion in chronically failing rat heart / M. Ten Hove, S. Chan, C. Lygate [et al.] // *Journal of molecular and cellular cardiology*. - 2005. – Vol. 38. - № 2. - P. 309–313.
35. Weiss, R.G. ATP flux through creatine kinase in the normal, stressed, and failing human heart / R.G. Weiss, G. Gerstenblith, P.A. Bottomley // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. - 2005. – Vol. 102. - № 3. - P. 808–813.
36. Беловол, А.Н. Энергетический повышенный риск сердечной недостаточности и возможности медикаментозной коррекции / А.Н. Беловол, И.И. Князькова // *Практическая ангиология*. – 2012. – Т. 3. - № 4. – С. 52-53.

37. Myocardial fatty acid metabolism in health and disease / G.D. Lopaschuk, J.R. Ussher, C.D. Folmes [et al.] // *Physiological reviews*. - 2010. – Vol. 90. - № 1. - P. 207–258.
38. Асташкин, Е.И. Роль L-карнитина в энергетическом обмене кардиомиоцитов и лечении заболеваний сердечно-сосудистой системы / Е.И. Асташкин, М.Г. Глезер // *Кардиология и сердечно-сосудистая хирургия*. - 2012. – Т. 5. - № 6. - С. 58–65.
39. Analysis of metabolic remodeling in compensated left ventricular hypertrophy and heart failure / T. Kato, S. Niizuma, Y. Inuzuka [et al.] // *Circulation. Heart failure*. - 2010. – Vol. 3. - № 3. - P. 420–430.
40. Assessment of myocardial fatty acid metabolic abnormalities in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy using ¹²³I BMIPP SPECT: correlation with clinicopathological findings and clinical course / Y. Yazaki, M. Isobe, W. Takahashi [et al.] // *Heart (British Cardiac Society)*. – Vol. 81. - № 2. - P. 153–159.
41. Acute lipoprotein lipase deletion in adult mice leads to dyslipidemia and cardiac dysfunction / H.L. Noh, K. Okajima, J.D. Molkenin [et al.] // *American journal of physiology. Endocrinology and metabolism*. - 2006. – Vol. 291. - № 4. - P. E755–E760.
42. Mouse cardiac acyl coenzyme a synthetase 1 deficiency impairs Fatty Acid oxidation and induces cardiac hypertrophy / J.M. Ellis, S.M. Mentock, M.A. Depetrillo [et al.] // *Molecular and cellular biology*. - 2011. – Vol. 31. - № 6. - P. 1252–1262.
43. Intramyocardial lipid accumulation in the failing human heart resembles the lipotoxic rat heart / S. Sharma, J.V. Adroque, L. Golfman [et al.] // *FASEB journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*. - 2004. – Vol. 18. - № 14. - P. 1692–1700.
44. Cardiac-specific deletion of acetyl CoA carboxylase 2 prevents metabolic remodeling during pressure-overload hypertrophy / S.C. Jr. Kolwicz, D.P. Olson, L.C. Marney [et al.] // *Circulation research*. - 2012. – Vol. 111. - № 6. - P. 728–738.
45. Lee, C.F. Mitochondrion as a Target for Heart Failure Therapy- Role of Protein Lysine Acetylation / C.F. Lee // *Circulation journal: official journal of the Japanese Circulation Society*. - 2015. – Vol. 79. - № 9. - P. 1863–1870.

46. Disorders of mitochondrial long-chain fatty acid oxidation and the carnitine shuttle / S.J.G. Knottnerus, J.C. Bleeker, R.C.I. Wüst [et al.] // *Reviews in endocrine & metabolic disorders*. - 2018. – Vol. 19. - № 1. - P. 93–106.
47. Plasma acylcarnitine concentrations reflect the acylcarnitine profile in cardiac tissues / M. Makrecka-Kuka, E. Sevostjanovs, K. Vilks [et al.] // *Scientific reports*. - 2017. – Vol. 7. - № 1. - P. 17528.
48. Baseline metabolomic profiles predict cardiovascular events in patients at risk for coronary artery disease / S.H. Shah, J.L. Sun, R.D. Stevens [et al.] // *American heart journal*. - 2012. – Vol. 163. - № 5. - P. 844–850.e1.
49. D'Souza, K. Lipid metabolism and signaling in cardiac lipotoxicity / K. D'Souza, C. Nzirorera, P.C. Kienesberger // *Biochimica et biophysica acta*. - 2016. – Vol. 1861. - № 10. - P. 1513–1524.
50. Mitochondrial overload and incomplete fatty acid oxidation contribute to skeletal muscle insulin resistance / T.R. Koves, J.R. Ussher, R.C. Noland [et al.] // *Cell metabolism*. - 2008. – Vol. 7. - № 1. - P. 45–56.
51. Relationship between the plasma acylcarnitine profile and cardiometabolic risk factors in adults diagnosed with cardiovascular diseases / A. Kukhareenko, A. Brito, M.V. Kozhevnikova [et al.] // *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*. - 2020. – Vol. 507. - P. 250–256.
52. Zlobine, I. Lipotoxicity in obesity and diabetes-related cardiac dysfunction / I. Zlobine, K. Gopal, J.R. Ussher // *Biochimica et biophysica acta*. - 2016. – Vol. 1861. - № 10. - P. 1555–1568.
53. CROT (Carnitine O-Octanoyltransferase) Is a Novel Contributing Factor in Vascular Calcification via Promoting Fatty Acid Metabolism and Mitochondrial Dysfunction / T. Okui, M. Iwashita, M.A. Rogers [et al.] // *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. - 2021. – Vol. 41. - № 2. - P. 755–768.
54. Energy substrate metabolism and mitochondrial oxidative stress in cardiac ischemia/reperfusion injury / M. Dambrova, C.J. Zuurbier, V. Borutaite [et al.] // *Free radical biology & medicine*. - 2021. – Vol. 165. - P. 24–37.

55. Oxidative stress and cardiovascular disease: new insights / P. Pignatelli, D. Menichelli, D. Pastori, F. Violi // *Kardiologia polska*. - 2018. – Vol. 76. - № 4. - P. 713–722.
56. Long-Chain Acylcarnitines and Cardiac Excitation-Contraction Coupling: Links to Arrhythmias / H.M. Aitken-Buck, J. Krause, T. Zeller [et al.] // *Frontiers in physiology*. - 2020. – Vol. 11. - P. 577856.
57. Altered Acylcarnitine Metabolism Is Associated With an Increased Risk of Atrial Fibrillation / E. Smith, C. Fernandez, O. Melander, F. Ottosson // *Journal of the American Heart Association*. - 2020. – Vol. 9. - № 21. - P. e016737.
58. Plasma Acylcarnitines and Risk of Type 2 Diabetes in a Mediterranean Population at High Cardiovascular Risk / M. Guasch-Ferré, M. Ruiz-Canela, J. Li [et al.] // *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. - 2019. – Vol. 104. - № 5. - P. 1508–1519.
59. Increased levels of plasma acylcarnitines in obesity and type 2 diabetes and identification of a marker of glucolipototoxicity / S.J. Mihalik, B.H. Goodpaster, D.E. Kelley [et al.] // *Obesity (Silver Spring, Md.)*. - 2010. – Vol. 18. - № 9. - P. 1695–1700.
60. Obesity-Related Metabolomic Profiles and Discrimination of Metabolically Unhealthy Obesity / M. Bagheri, F. Farzadfar, L. Qi [et al.] // *Journal of proteome research*. - 2018. – Vol. 17. - № 4. - P. 1452–1462.
61. Disturbed carnitine regulation in chronic heart failure--increased plasma levels of palmitoyl-carnitine are associated with poor prognosis / T. Ueland, A. Svardal, E. Øie [et al.] // *International journal of cardiology*. - 2013. – Vol. 167. - № 5. - P. 1892–1899.
62. Metabolomic fingerprint of heart failure with preserved ejection fraction / B.N. Zordoky, M.M. Sung, J. Ezekowitz [et al.] // *PloS one*. - 2015. – Vol. 10. - № 5. - P. e0124844.
63. Fernandez-Caggiano, M. Heart failure-emerging roles for the mitochondrial pyruvate carrier / M. Fernandez-Caggiano, P. Eaton // *Cell death and differentiation*. 2021. - Vol. 28. - № 4. - C. 1149–1158.

64. Pressure-overload-induced heart failure induces a selective reduction in glucose oxidation at physiological afterload / P. Zhabyeyev, M. Gandhi, J. Mori [et al.] // *Cardiovascular Research*. - 2013. – Vol. 97. - № 4. - P. 676-85.
65. Cardiac insulin-resistance and decreased mitochondrial energy production precede the development of systolic heart failure after pressure-overload hypertrophy / L. Zhang, J.S. Jaswal, J.R. Ussher, [et al.] // *Circulation. Heart failure*. - 2013. – Vol. 6. - № 5. – P. 1039-48.
66. Plasma amino acid profiling identifies specific amino acid associations with cardiovascular function in patients with systolic heart failure / D. Hakuno, Y. Hamba, T. Toya, T. Adachi // *PLoS One*. - 2015. – Vol. 10. - № 2. - P. e0117325.
67. Energy metabolic reprogramming in the hypertrophied and early stage failing heart: a multisystems approach / L. Lai, T.C. Leone, M.P. Keller, [et al.] // *Circulation. Heart failure*. - 2014. – Vol. 7. - № 6. - P. 1022-31.
68. McGarrah, RW. Branched-chain amino acids in cardiovascular disease / R.W. McGarrah, P.J. White // *Nature reviews. Cardiology*. - 2022. – Vol. 20. - № 2. - P. 77–89.
69. Association of a peripheral blood metabolic profile with coronary artery disease and risk of subsequent cardiovascular events / S.H. Shah, J.R. Bain, M.J. Muehlbauer [et al.] // *Circulation. Cardiovascular genetics*. - 2010. – Vol. 3. - № 2. - P. 207-14.
70. Branched-Chain Amino Acids and Insulin Metabolism: The Insulin Resistance Atherosclerosis Study (IRAS) / C.C. Lee, S.M. Watkins, C. Lorenzo [et al.] // *Diabetes Care*. - 2016. – Vol. 39. - № 4. - P. 582-8.
71. Insulin receptor substrate signaling suppresses neonatal autophagy in the heart / C. Riehle, A.R. Wende, S. Sena, [et al.] // *The Journal of clinical investigation*. - 2013. – Vol. 123. - № 12. - P. 5319-33.
72. Mao, Z. Role of mTOR in Glucose and Lipid Metabolism / Z. Mao, W. Zhang // *International journal of molecular sciences*. - 2018. – Vol. 19. - № 7. - P. 2043.
73. Karwi, Q.G. Branched-Chain Amino Acid Metabolism in the Failing Heart / Q.G. Karwi, G.D. Lopaschuk // *Cardiovascular drugs and therapy*. - 2023. – Vol. 37. - № 2. - P. 413–420.

74. Branched-Chain Amino Acid Catabolism Promotes Thrombosis Risk by Enhancing Tropomodulin-3 Propionylation in Platelets / Y. Xu, H. Jiang, L. Li, [et al.] // *Circulation*. - 2020. – Vol. 142. - № 1. - P. 49-64.
75. Neinast, M. Branched Chain Amino Acids / M. Neinast, D. Murashige, Z. Arany // *Annual review of physiology*. - 2019. – Vol. 81. - P. 139-164.
76. Extra-cardiac BCAA catabolism lowers blood pressure and protects from heart failure / D. Murashige, J.W. Jung, M.D. Neinast, [et al.] // *Cell metabolism*. - 2022. – Vol. 34. - № 11. - P. 1749-1764.e7.
77. Plasma Branched-Chain Amino Acids and Incident Cardiovascular Disease in the PREDIMED Trial / M. Ruiz-Canela, E. Toledo, C.B. Clish [et al.] // *Clinical chemistry*. - 2016. – Vol. 62. - № 4. - P. 582-92.
78. McGarrah, R.W. Cardiovascular Metabolomics / R.W. McGarrah, S.B. Crown, G.F. Zhang // *Circulation research*. - 2018. – Vol. 122. - № 9. - P. 1238-1258.
79. Catabolic Defect of Branched-Chain Amino Acids Promotes Heart Failure / H. Sun, K.C. Olson, C. Gao [et al.] // *Circulation*. - 2016. – Vol. 133. - № 21. - P. 2038-49.
80. Defective branched chain amino acid catabolism contributes to cardiac dysfunction and remodeling following myocardial infarction / W. Wang, F. Zhang, Y. Xia, [et al.] // *American journal of physiology. Heart and circulatory physiology*. - 2016. – Vol. 311. - № 5. - P. H1160-H1169.
81. Comparative proteomic analysis of mouse models of pathological and physiological cardiac hypertrophy, with selection of biomarkers of pathological hypertrophy by integrative Proteogenomics / H.K. Kwon, H. Jeong, D. Hwang, Z.Y. Park // *Biochimica et biophysica acta. Proteins and proteomics*. - 2018. – Vol. 1866. - № 10. P. 1043-1054.
82. Defective Branched-Chain Amino Acid Catabolism Disrupts Glucose Metabolism and Sensitizes the Heart to Ischemia-Reperfusion Injury / T. Li, Z. Zhang, S.C. Jr. Kolwicz [et al.] // *Cell metabolism*. - 2017. – Vol. 25. - № 2. - P. 374-385.
83. The positive association of branched-chain amino acids and metabolic dyslipidemia in Chinese Han population / P. Yang, W. Hu, Z. Fu [et al.] // *Lipids in health and disease*. - 2016. – Vol. 15. - P. 120.

84. A diabetes-predictive amino acid score and future cardiovascular disease / M. Magnusson, G.D. Lewis, U. Ericson [et al.] // *European heart journal*. - 2013. – Vol. 34. - № 26. - P. 1982-9.
85. Metabolite profiles and the risk of developing diabetes / T.J. Wang, M.G. Larson, R.S. Vasan [et al.] // *Nature medicine*. - 2011. – Vol. 17. – № 4. - P. 448-53.
86. Newgard, C.B. Interplay between lipids and branched-chain amino acids in development of insulin resistance / C.B. Newgard / *Cell metabolism*. - 2012. – Vol. 15. - № 5. - P. 606-14.
87. Concentration of Branched-Chain Amino Acids Is a Strong Risk Marker for Incident Hypertension / J.L. Flores-Guerrero, D. Groothof, M.A. Connelly [et al.] // *Hypertension*. - 2019. – Vol. 74. - № 6. - P. 1428-1435.
88. Plasma free amino acid profiles evaluate risk of metabolic syndrome, diabetes, dyslipidemia, and hypertension in a large Asian population / N. Yamaguchi, M.H. Mahbub, H. Takahashi [et al.] // *Environmental health and preventive medicine*. - 2017. – Vol. 22. - № 1. - P. 35.
89. Teymoori, F. Dietary amino acids and incidence of hypertension: A principle component analysis approach / F. Teymoori, G. Asghari, P. Mirmiran, F. Azizi // *Scientific reports*. - 2017. – Vol. 7. - № 1. - P.16838.
90. Molecular Signature of HFpEF: Systems Biology in a Cardiac-Centric Large Animal Model / A.A. Gibb, E.K. Murray, D.M. Eaton [et al.] // *JACC. Basic to translational science*. - 2021. – Vol. 6. - № 8. - P. 650-672.
91. Metabolomic Profiling Identifies Novel Circulating Biomarkers of Mitochondrial Dysfunction Differentially Elevated in Heart Failure With Preserved Versus Reduced Ejection Fraction: Evidence for Shared Metabolic Impairments in Clinical Heart Failure / W.G. Hunter, J.P. Kelly, R.W. 3rd McGarrah [et al.] // *Journal of the American Heart Association*. - 2016. – Vol. 5. - № 8. - P. e003190.
92. Targeted Metabolomic Profiling of Plasma and Survival in Heart Failure Patients / D.E. Lanfear, J.J. Gibbs, J. Li [et al.] // *JACC. Heart failure*. - 2017. – Vol. 5. - № 11. - P. 823-832.

93. Plasma metabolites associated with functional and clinical outcomes in heart failure with reduced ejection fraction with and without type 2 diabetes / J.B. Lerman, S.N. Giamberardino, A.F. Hernandez [et al.] // *Scientific reports*. - 2022. – Vol. 12. - № 1. - P. 9183.
94. Increased branched-chain amino acid levels are associated with long-term adverse cardiovascular events in patients with STEMI and acute heart failure / X. Du, Y. Li, Y. Wang [et al.] // *Life sciences*. - 2018. – Vol. 209. - P. 167-172.
95. Circulating branched-chain amino acids and incident heart failure in type 2 diabetes: The Hong Kong Diabetes Register / L.L. Lim, E.SH. Lau, E. Fung [et al.] // *Diabetes/metabolism research and reviews*. - 2020. – Vol. 36. - № 3. - P. e3253.
96. Relationships between circulating branched chain amino acid concentrations and risk of adverse cardiovascular events in patients with STEMI treated with PCI / X. Du, H. You, Y. Li [et al.] // *Scientific reports*. - 2018. – Vol. 8. - № 1. - P. 15809.
97. Rapid and precise measurement of serum branched-chain and aromatic amino acids by isotope dilution liquid chromatography tandem mass spectrometry / R. Yang, J. Dong, H. Guo [et al.] // *PLoS One*. - 2013. – Vol. 8. - № 12. - P. e81144.
98. Mitchell, B.M. Phenylalanine improves dilation and blood pressure in GTP cyclohydrolase inhibition-induced hypertensive rats / B.M. Mitchell, A.M. Dorrance, R.C. Webb // *Journal of cardiovascular pharmacology*. - 2004. – Vol. 43. - № 6. - P. 758-63.
99. Immune activation and inflammation in patients with cardiovascular disease are associated with higher phenylalanine to tyrosine ratios: the ludwigshafen risk and cardiovascular health study / C. Murr, T.B. Grammer, A. Meinitzer [et al.] // *Journal of amino acids*. - 2014. – Vol. 2014. -P. 783730.
100. Factors associated with elevated plasma phenylalanine in patients with heart failure / C.W. Cheng, M.H. Liu, H.Y. Tang [et al.] // *Amino Acids*. - 2021. – Vol. 53. - № 2. - P. 149-157.
101. Sved, A.F. Tyrosine administration reduces blood pressure and enhances brain norepinephrine release in spontaneously hypertensive rats / A.F. Sved, J.D. Fernstrom,

- R.J. Wurtman // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. - 1979. – Vol. 76. - № 7. - P. 3511-3514.
102. The hypotensive effect of centrally administered tyrosine / Y. Yamori, M. Fujiwara, R. Horie [et al.] // European journal of pharmacology. - 1980. – Vol. 68. - № 2. - P. 201-204.
103. Chronic dietary tyrosine supplements do not affect mild essential hypertension / M.J. Sole, C.R. Benedict, M.G. Myers [et al.] // Hypertension. - 1985. – Vol. 7. - № 4. - P. 593-596.
104. Dietary amino acids and the risk of hypertension in a Dutch older population: the Rotterdam Study / W. Altorf-van der Kuil, M.F. Engberink, M. De Neve [et al.] // The American journal of clinical nutrition. - 2013. – Vol. 97. - № 2. - P. 403-410.
105. High dietary intake of aromatic amino acids increases risk of hypertension / F. Teymoori, G. Asghari, P. Mirmiran [et al.] // Journal of the American Society of Hypertension: JASH. - 2018. – Vol. 12. - № 1. - P. 25-33.
106. Do dietary amino acid ratios predict risk of incident hypertension among adults? / F. Teymoori, G. Asghari, H. Farhadnejad [et al.] // International journal of food sciences and nutrition. - 2019. – Vol. 70. - № 4. - P. 387-95.
107. Plasma Branched-Chain and Aromatic Amino Acids in Relation to Hypertension / M.H. Mahbub, N. Yamaguchi, R. Hase [et al.] // Nutrients. - 2020. – Vol. 12. - № 12. -P. 3791.
108. Metabolic disturbances identified in plasma are associated with outcomes in patients with heart failure: diagnostic and prognostic value of metabolomics / M.L. Cheng, C.H. Wang, M.S. Shiao [et al.] // Journal of the American College of Cardiology. - 2015. – Vol. 65. - № 15) - P. 1509-20.
109. Factors associated with elevated plasma phenylalanine in patients with heart failure / C.W. Cheng, M.H. Liu, H.Y. Tang [et al.] // Amino Acids. - 2021. – Vol. 53. - № 2. - P. 149-157.
110. Prognostic value of leucine/phenylalanine ratio as an amino acid profile of heart failure / H. Hiraiwa, T. Okumura, T. Kondo [et al.] // Heart and vessels. - 2021. – Vol. 36. - № 7. - P. 965-977.

111. Usefulness of the plasma branched-chain amino acid/aromatic amino acid ratio for predicting future cardiac events in patients with heart failure / H. Hiraiwa, T. Okumura, T. Kondo [et al.] // *Journal of cardiology*. - 2020. – Vol. 75. - № 6. - P. 689-696.
112. Ying, W. NAD⁺/NADH and NADP⁺/NADPH in cellular functions and cell death: regulation and biological consequences / W. Ying // *Antioxidants & redox signaling*. - 2008. – Vol. 10. - № 2. - P. 179-206.
113. Vasorelaxing Action of the Kynurenine Metabolite, Xanthurenic Acid: The Missing Link in Endotoxin-Induced Hypotension? / F. Fazio, A. Carrizzo, L. Lionetto [et al.] // *Frontiers in pharmacology*. - 2017. – Vol. 8. - P. 214.
114. Indoleamine 2,3-dioxygenase enzyme activity correlates with risk factors for atherosclerosis: the Cardiovascular Risk in Young Finns Study / M. Pertovaara, A. Raitala, M. Juonala [et al.] // *Clinical and Experimental Immunology*. - 2007. – Vol. 148. - № 1. - P. 106–11.
115. Increases in Plasma Tryptophan Are Inversely Associated with Incident Cardiovascular Disease in the Prevención con Dieta Mediterránea (PREDIMED) Study / E. Yu, M. Ruiz-Canela, M. Guasch-Ferré [et al.] // *The Journal of Nutrition*. - 2017. – Vol. 47. - № 3. - P. 314–22.
116. Polyzos, K.A. The role of the kynurenine pathway of tryptophan metabolism in cardiovascular disease: An emerging field / K.A. Polyzos, D.F.J. Ketelhuth // *Hämostaseologie*. - 2015. – Vol. 35. - № 2. - P. 128–36.
117. Low serum tryptophan predicts higher mortality in cardiovascular disease / C. Murr, T.B. Grammer, M.E. Kleber [et al.] // *European Journal of Clinical Investigation*. - 2015. – Vol. 45. - № 3. - P. 247–54.
118. Boros, F.A. Immunomodulatory Effects of Genetic Alterations Affecting the Kynurenine Pathway / F.A. Boros, L. Vécsei // *Frontiers in immunology*. - 2019. – Vol. 10. - P. 2570.
119. The tryptophan metabolite 3-hydroxyanthranilic acid suppresses T cell responses by inhibiting dendritic cell activation / W.S. Lee, S.M. Lee, M.K. Kim [et al.] // *International immunopharmacology*. - 2013. – Vol. 17. - № 3. - P. 721-6.

120. The Opposite Effects of Kynurenic Acid and Different Kynurenic Acid Analogs on Tumor Necrosis Factor- α (TNF- α) Production and Tumor Necrosis Factor-Stimulated Gene-6 (TSG-6) Expression / Y. Mándi, V. Endrész, T. Mosolygó [et al.]. // *Frontiers in immunology*. - 2019. – Vol. 10. - P. 1406.
121. Cervenka, I. Kynurenines: Tryptophan's metabolites in exercise, inflammation, and mental health / I. Cervenka, L.Z. Agudelo, J.L. Ruas // *Science*. - 2017. – Vol. 357. - № 6349.
122. Шилов, Ю.Е. Кинуренины в патогенезе эндогенных психических заболеваний / Ю.Е. Шилов, М.В. Безруков // *Вестник Российской академии медицинских наук*. - 2013. - № 68. - № 1. - С. 35-41.
123. Development and validation of a liquid chromatography method using UV/fluorescence detection for the quantitative determination of metabolites of the kynurenine pathway in human urine: Application to patients with heart failure / A. Sousa, C. Ribeiro, V.M.F. Gonçalves [et al.] // *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*. - 2021. – Vol. 198. - P. 113997.
124. Correction: Plasma kynurenines and prognosis in patients with heart failure / A. Lund, J.E. Nordrehaug, G. Slettom [et al.] // *PLoS One*. - 2020. – Vol. 15. - № 2. - P. e0230056.
125. Metabolomics of the tryptophan-kynurenine degradation pathway and risk of atrial fibrillation and heart failure: potential modification effect of Mediterranean diet / C. Razquin, M. Ruiz-Canela, E. Toledo, [et al.] // *The American journal of clinical nutrition*. - 2021. – Vol. 114. - № 5. - P. 1646-1654.
126. Plasma Kynurenine Predicts Severity and Complications of Heart Failure and Associates with Established Biochemical and Clinical Markers of Disease / T.B. Dschietzig, K.H. Kellner, K. Sasse [et al.] // *Kidney & blood pressure research*. - 2019. – Vol. 44. - № 4. - P. 765-776.
127. Impact of Plasma Kynurenine Level on Functional Capacity and Outcome in Heart Failure - Results From Studies Investigating Co-morbidities Aggravating Heart Failure (SICA-HF) / M. Konishi, N. Ebner, J. Springer [et al.] // *Circulation journal: official journal of the Japanese Circulation Society*. - 2016. – Vol. 81. - № 1. - P. 52-61.

128. The role of asymmetric dimethylarginine and arginine in the failing heart and its vasculature / M. Visser, W.J. Paulus, M.A. Vermeulen [et al.] // *European journal of heart failure*. - 2010. – Vol. 12. - № 12. - P. 1274-81.
129. Paulus, W.J. A novel paradigm for heart failure with preserved ejection fraction: comorbidities drive myocardial dysfunction and remodeling through coronary microvascular endothelial inflammation / W.J. Paulus, C. Tschöpe // *Journal of the American College of Cardiology*. - 2013. – Vol. 62. - № 4. - P. 263–271.
130. The Arginine/ADMA Ratio Is Related to the Prevention of Atherosclerotic Plaques in Hypercholesterolemic Rabbits When Giving a Combined Therapy with Atorvastatine and Arginine / S.J. Brinkmann, E.A. Wörner, N. Buijs [et al.]. // *International journal of molecular sciences*. - 2015. – Vol. 16. - № 6. - P. 12230-42.
131. Arginine and Endothelial Function / J. Gambardella, W. Khondkar, M.B. Morelli [et al.] // *Biomedicines*. - 2020. – Vol. 8. - № 8. - P. 277.
132. Differences in demographics and complementary and alternative medicine use between patients attending integrative kampo versus biomedical clinics in Japan / M.K. Melby, T. Yoshino, D. Tonob [et al.]. // *Complementary therapies in medicine*. - 2019. – Vol. 46. - P. 202-209.
133. L-аргинин и его метилированные производные в крови спортсменов / М.А. Гишинский, С.Г. Кривошеков, Т.В. Латышева [и др.]. // *Физиология человека*. - 2018. – Т. 44. - № 6. - С. 86-92.
134. Asymmetric dimethylarginine predicts clinical outcomes in ischemic chronic heart failure / C.P. Hsu, S.J. Lin, M.Y. Chung, T.M. Lu // *Atherosclerosis*. - 2012. – Vol. 225. - № 2. - P. 504-510.
135. Relationship between exercise intervention and NO pathway in patients with heart failure with preserved ejection fraction / F. Baldassarri, E. Schwedhelm, D. Atzler [et al.] // *Biomarkers*. - 2018. – Vol. 23. - № 6. - P. 540-550.
136. Differential effects of arginine methylation on diastolic dysfunction and disease progression in patients with chronic systolic heart failure / W.H. Tang, W. Tong, K. Shrestha [et al.] // *European heart journal*. - 2008. – Vol. 29. - № 20. - P. 2506-2513.

137. Myeloperoxidase and related biomarkers are suggestive footprints of endothelial microvascular inflammation in HFpEF patients / C. Hage, E. Michaëlsson, B. Kull [et al.] // ESC heart failure. - 2020. – Vol. 7. - № 4. - P. 1534-1546.
138. Alterations in plasma L-arginine and methylarginines in heart failure and after heart transplantation / J. Lundgren, A. Sandqvist, M. Hedeland, [et al.] // Scandinavian cardiovascular journal: SCJ. - 2018. – Vol. 52. - № 4. - P. 196-204.
139. Differential effects of arginine methylation on diastolic dysfunction and disease progression in patients with chronic systolic heart failure / W.H. Tang, W. Tong, K. Shrestha [et al.] // European heart journal. - 2008. – Vol. 29. - № 20. - P. 2506-2513.
140. Effect of asymmetric dimethylarginine (ADMA) on heart failure development. / X. Liu, L. Hou, D. Xu [et al.] // Nitric oxide: biology and chemistry. - 2016. – Vol. 54. - P. 73–81.
141. Liu, X. Asymmetric dimethylarginine (ADMA) as an important risk factor for the increased cardiovascular diseases and heart failure in chronic kidney disease. / X. Liu, X. Xu, R. Shang, Y. Chen // Nitric oxide: biology and chemistry. - 2018. – Vol. 78. - P. 113–120.
142. L-arginine and Its Derivatives Correlate with Exercise Capacity in Patients with Advanced Heart Failure / A. Drohomirecka, J. Waś, N. Wiligórska [et al.] // Biomolecules. - 2023. – Vol. 13. - № 3. - P. 423.
143. The effect of pharmacological treatment on ADMA in patients with heart failure / G. Riccioni, L. Speranza, L. Scotti [et al.] // Frontiers in bioscience (Elite edition). - 2011. – Vol. 3. - № 4. - P. 1310–1314.
144. HMDB 5.0: the Human Metabolome Database for 2022 / D.S. Wishart, A. Guo, E. Oler [et al.] // Nucleic acids research. - 2022. – Vol. 50. - № D1. - P. D622-31.
145. Подгорский, В.В. Метаболомика: анализ биохимического ответа живых систем вчера, сегодня, завтра. Глава 1. / В.В. Подгорский; - 2019. - С. 352.
146. Data analysis strategies for targeted and untargeted LC-MS metabolomic studies: overview and workflow / E. Gorrochategui, J. Jaumot, S. Lacorte, R. Tauler // TrAC - Trends in analytical chemistry. - 2016. – Vol. 82. - P. 425-442.

147. Normalization of cardiac substrate utilization and left ventricular hypertrophy precede functional recovery in heart failure regression / N.J. Byrne, J. Levasseur, M.M. Sung [et al.] // *Cardiovascular research*. - 2016. – Vol. 110. - № 2. - P. 249–257.
148. Rosano, G.M. Metabolic Modulation of Cardiac Metabolism in Heart Failure / G.M. Rosano, C. Vitale // *Cardiac failure review*. - 2018. – Vol. 4. - № 2. - P. 99-103.
149. Onuh, J.O. Metabolomics profiling in hypertension and blood pressure regulation: a review / J.O. Onuh, M. Aliani // *Clinical hypertension*. - 2020. – Vol. 26. – № 1. - P. 23.
150. Branched chain amino acids are novel biomarkers for discrimination of metabolic wellness / B.C. Batch, S.H. Shah, C.B. Newgard [et al.] // *Metabolism*. - 2013. – Vol. 62. - № 7. - P. 961-969.
151. Metabolomic analysis of pressure-overloaded and infarcted mouse hearts / B.E. Sansbury, A.M. DeMartino, Z. Xie [et al.] // *Circulation. Heart failure*. - 2014. – Vol. 7. - № 4. - P. 634-642.
152. Nuclear magnetic resonance-based metabolomics identifies phenylalanine as a novel predictor of incident heart failure hospitalisation: results from PROSPER and FINRISK 1997 / C. Delles, N.J. Rankin, C. Boachie [et al.] // *European journal of heart failure*. - 2018. – Vol. 20. - № 4. - P. 663-673.
153. Wang, C.H. Amino Acid-Based Metabolic Panel Provides Robust Prognostic Value Additive to B-Natriuretic Peptide and Traditional Risk Factors in Heart Failure / C.H. Wang, M.L. Cheng, M.H. Liu // *Disease markers*. - 2018.
154. Metabolomic Profile in HFpEF vs HFrEF Patients / C. Hage, L. Löfgren, F. Michopoulos [et al.] // *Journal of cardiac failure*. - 2020. – Vol. 26. - № 12. - P. 1050-1059.
155. Metabolomic Profiling in Patients with Heart Failure and Exercise Intolerance: Kynurenine as a Potential Biomarker / T. Bekfani, M. Bekhite, S. Neugebauer [et al.] // *Cells*. - 2022. – Vol. 11. - № 10. - P. 1674.
156. Exhaled breath mass spectrometry in heart failure diagnostics / L. Malinovskaya, A. Bykova, P. Chomakhidze [et al.] // *International Journal of Nanotechnology*. - 2019. – Vol. 16. - № 1-3. - P. 147-161.

157. Plasma acylcarnitines and risk of incident heart failure and atrial fibrillation: the Prevención con dieta mediterránea study / M. Ruiz-Canela, M. Guasch-Ferré, C. Razquin [et al.]. // *Revista española de cardiología (English ed.)*. - 2022. – Vol. 75. - № 8. - P. 649-658.
158. Фармакология спорта. / Н.А. Горчакова, Я.С. Гудивок, Л.М. Гунина [и др.]; под общ. редакцией С.А. Олейника, Л.М. Гуниной, Р.Д. Сейдуллы. - К.: Олимпийская лит-ра, 2010. – 640 с. - ISBN 978-966-8708-21-3.
159. Physiological Roles of Carnosine in Myocardial Function and Health / J.V. Creighton, L. de Souza Gonçalves, G.G. Artioli [et al.] // *Advances in nutrition (Bethesda, Md.)*. - 2022. – Vol. 13. - № 5. - P. 1914-1929.
160. Zashchita karnozinom transporta Ca^{2+} ot povrezhdeniĭ, vyzyvaemykh perekisnym okisleniem lipidov [Carnosine protection of Ca^{2+} transport against damage induced by lipid peroxidation] / A.M. Dupin, A.A. Boldyrev, Iu.V. Arkhipenko, V.E. Kagan VE // *Biulleten' eksperimental'noi biologii i meditsiny*. - 1984. – Vol. 98. - № 8. - P.186-8.
161. Prokopieva, V.D. Use of Carnosine for Oxidative Stress Reduction in Different Pathologies / V.D. Prokopieva, E.G. Yarygina, N.A. Bokhan, S.A. Ivanova // *Oxidative medicine and cellular longevity*. - 2016. - P. 1-8.
162. Carnosine: a versatile antioxidant and antiglycating agent / V.P. Reddy, M.R. Garrett, G. Perry, M.A. Smith // *Science of aging knowledge environment: SAGE KE*. - 2005. – Vol. 2005. - № 18. - P. 12.
163. β -Alanine and l-histidine supplementation associated with combined training increased functional capacity and maximum strength in heart failure rats / G.P. Stefani, L. Capalunga, L.R. da Silva, P. Dal Lago // *Experimental physiology*. - 2020. – Vol. 105. - № 5. - P. 831-841.
164. Effects of oral administration of orodispersible levo-carnosine on quality of life and exercise performance in patients with chronic heart failure / C. Lombardi, V. Carubelli, V. Lazzarini [et al.] // *Nutrition*. - 2015. – Vol. 31. - № 1. - P. 72-78.
165. Arginine catabolism metabolites and atrial fibrillation or heart failure risk: 2 case-control studies within the Prevención con Dieta Mediterránea (PREDIMED) trial / L.

- Goni, C. Razquin, E. Toledo [et al.] // *The American journal of clinical nutrition*. - 2022. – Vol. 116. - № 3) - P. 653-662.
166. Nitric oxide metabolites: associations with cardiovascular biomarkers and clinical parameters in patients with HFpEF / K. Piatek, A. Feuerstein, V. Zach [et al.] // *ESC heart failure*. - 2022. – Vol. 9. -№ 6. - P. 3961-3972.
167. Short-term evaluation of renal markers in overweight adult cats / L. Pérez-López, M. Boronat, C. Melián [et al.] // *Veterinary medicine and science*. - 2023. – Vol. 9. - № 2. - P. 572–578.
168. TMAO: how gut microbiota contributes to heart failure / Y. Zhang, Y. Wang, B. Ke, J. Du // *Translational research: the journal of laboratory and clinical medicine*. - 2021. – Vol. 228. - P. 109-125.
169. Gut microbe-derived metabolite trimethylamine N-oxide induces cardiac hypertrophy and fibrosis / Z. Li, Z. Wu, J. Yan [et al.]. // *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology*. - 2019. – Vol. 99. - № 3. - P. 346-357.
170. Choline Diet and Its Gut Microbe-Derived Metabolite, Trimethylamine N-Oxide, Exacerbate Pressure Overload-Induced Heart Failure / C.L. Organ, H. Otsuka, S. Bhushan [et al.] // *Circulation. Heart failure*. - 2016. – Vol. 9. - № 1. - P. e002314.
171. Trimethylamine N-oxide impairs pyruvate and fatty acid oxidation in cardiac mitochondria / M. Makrecka-Kuka, K. Volska, U. Antone [et al.] // *Toxicology letters*. - 2017. – Vol. 267. - P. 32-38.
172. Trimethylamine-N-oxide and Heart Failure With Reduced Versus Preserved Ejection Fraction / K. Schuett, M.E. Kleber, H. Scharnagl, [et al.] // *Journal of the American College of Cardiology*. - 2017. – Vol. 70. - № 25. - P. 3202-3204.
173. Combined use of trimethylamine N-oxide with BNP for risk stratification in heart failure with preserved ejection fraction: findings from the DIAMONDHFpEF study / A. Salzano, M.Z. Israr, Y. Yazaki [et al.] // *European journal of preventive cardiology*. - 2020. – Vol. 27. - № 19. - P. 2159-2162.
174. Acetylcholine Reduces L-Type Calcium Current without Major Changes in Repolarization of Canine and Human Purkinje and Ventricular Tissue / A.O. Verkerk, I.J. Duszpod, I. Mengarelli [et al.] // *Biomedicines*. - 2022. – Vol. 10. - № 11. - P. 2987.

175. The GABAA Receptor Influences Pressure Overload-Induced Heart Failure by Modulating Macrophages in Mice / J. Bu, S. Huang, J. Wang [et al.] // *Frontiers in immunology*. - 2021. – Vol. 12. - P. 670153.
176. GABA tea attenuates cardiac apoptosis in spontaneously hypertensive rats (SHR) by enhancing PI3K/Akt-mediated survival pathway and suppressing Bax/Bak dependent apoptotic pathway / B.C. Chen, M.Y. Hung, H.F. Wang [et al.]. // *Environmental toxicology*. - 2018. – Vol. 33. - № 7. - P. 789-797.
177. Модуляция активности различных синтаз оксида азота в качестве подхода к терапии эндотелиальной дисфункции / Д.В. Куркин, Е.Е. Абросимова, Д.А. Бакулин [и др.] // *Фармация и фармакология*. - 2022. – Т. 10. - № 2. - С. 130-153.
178. Kynurenine Pathway Metabolites as Potential Clinical Biomarkers in Coronary Artery Disease / R. Gáspár, D. Halmi, V. Demján [et al.] // *Frontiers in immunology*. - 2022. – Vol. 12.
179. Abnormal kynurenine pathway of tryptophan catabolism in cardiovascular diseases / P. Song, T. Ramprasath, H. Wang, M.H. Zou // *Cellular and molecular life sciences: CMLS*. - 2017. – Vol. 74. - № 16. - P. 2899-2916.
180. Savitz, J. The kynurenine pathway: a finger in every pie / J. Savitz // *Molecular psychiatry*. - 2020. – Vol. 25. - № 1. - P. 131-147.
181. Сравнительный анализ содержания триптофана и метаболитов кинуренинового и серотонинового путей у пациентов с артериальной гипертензией и ишемической болезнью сердца / М.В. Кожевникова, А.В. Кривова, Е.О. Коробкова [и др.] // *Кардиология*. - 2022. – Т. 62. - № 11. - С. 40-48.
182. Ароматические аминокислоты: фенилаланин и тирозин у пациентов с артериальной гипертензией и ишемической болезнью сердца / А.В. Кривова, М.В. Кожевникова, Е.О. Коробкова [и др.] // *Рациональная Фармакотерапия в Кардиологии*. - 2022. – Т. 18. - № 3. - С. 297-305.
183. Концентрации аминокислот с разветвленной цепью в плазме крови у лиц без сердечно-сосудистых заболеваний в сравнении с пациентами с гипертонической болезнью и ишемической болезнью сердца / М.В. Кожевникова, Е.О. Коробкова,

А.В. Кривова [и др.] // Рациональная Фармакотерапия в Кардиологии. - 2023. – Т. 19. - № 3. - С. 230-239.

184. Antihypertensive drug valsartan as a novel BDK inhibitor / Y. Kitaura, D. Shindo, T. Ogawa [et al.]. // Pharmacological research. - 2021. – Vol. 167.