

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

Коробкова Екатерина Олеговна

**Метаболомное профилирование у больных артериальной гипертонией с
дисфункцией эндотелия и метаболическим синдромом**

14.01.05 - Кардиология

Диссертация

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор

академик РАН

Беленков Юрий Никитич

Москва – 2021

Оглавление

ВВЕДЕНИЕ	4
Глава 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	9
1.1. Эпидемиологические показатели заболеваемости и смертности, патогенез артериальной гипертонии	9
1.2. Современное понимание метаболического синдрома	11
1.3. Механизмы развития дисфункции эндотелия и подходы к оценке функции эндотелия	12
1.4. Общие вопросы метаболизма.....	16
1.5. Метаболомное профилирование	19
Глава 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	28
2.1. Дизайн исследования и общая характеристика участников исследования.....	28
2.2. Клинико-лабораторная характеристика пациентов группы АГ и МС и контрольной группы.....	34
2.3. Методы исследования	39
2.3.1. Общие клинические методы обследования	39
2.3.2. Комплекс лабораторных исследований.....	40
2.3.3. Электрокардиографическое исследование	40
2.3.4. Эхокардиографическое исследование.....	40
2.3.5. Суточное АД-мониторирование.....	41
2.3.6. Оценка функции эндотелия	41
2.3.7. Дополнительные исследования	42
2.3.8. Исследование метаболомного профиля.....	43
2.3.9. Нецелевое метаболомное профилирование	43
2.3.10. Целевое метаболомное профилирование.	44
2.3.11. Методы статистической обработки	46
Глава 3 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННОГО ИССЛЕДОВАНИЯ.....	47
3.1. Оценка функции эндотелия.....	47
3.2. Оценка нецелевого метаболомного профилирования.....	50
3.3. Оценка целевого метаболомного профилирования.....	53

3.4. Анализ взаимосвязи метаболомного профиля пациентов группы АГ и МС с показателями ДЭ	58
3.5. Анализ взаимосвязи метаболомного профиля пациентов группы АГ и МС с клинико-лабораторными показателями.....	61
ОБСУЖДЕНИЕ.....	69
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	76
ВЫВОДЫ	78
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	79
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	80
СПИСОК ИЛЛЮСТРАТИВНОГО МАТЕРИАЛА	93
СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ, ДОКЛАДЫ НА КОНФЕРЕНЦИЯХ	96
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ	98

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Артериальная гипертензия (АГ) по-прежнему остаётся одним из самых распространённых заболеваний во всем мире и наиболее значимым фактором риска для развития ишемической болезни сердца (ИБС) и мозгового инсульта. Так же, АГ является важной составляющей метаболического синдрома (МС), заболеваемость которым растёт во всем мире. В основе патогенетических механизмов возникновения и прогрессирования данных патологий значимую часть занимает дисфункции эндотелия (ДЭ). Последние годы проводятся работы по поиску дополнительных факторов риска прогрессирования сердечно-сосудистых заболеваний. Интенсивно развивающимся подходом к ранней диагностике заболеваний на сегодняшний день является эпигенетика, а именно ее важная составляющая – метаболомика, наука, изучающая конечные продукты обмена веществ в клетках организма. Метаболомный анализ на основе масспектрометрии позволяет исследовать наиболее полный метаболомный профиль и его нарушения, возникающие под влиянием факторов окружающей среды, изменение экспрессии генов или активности РНК. С помощью метаболомного профилирования в настоящее время решается значимое количество научных и клинических задач. Поэтому изучение метаболических процессов, поиск новых маркеров, объектов терапевтического воздействия и дополнительных индивидуальных факторов риска представляется перспективным направлением.

Цель

Изучить метаболомный профиль больных АГ с МС и ДЭ с помощью метаболомного профилирования.

Задачи

1. Оценить состояние функции эндотелия в обследуемых группах.
2. Выявить спектр метаболитов, наиболее характерных для пациентов АГ с МС и наличием ДЭ на основании проведения нецелевого метаболомного анализа образцов крови.
3. Определить специфические количественные характеристики метаболомного профиля у пациентов АГ с МС и наличием ДЭ с помощью целевого метаболомного анализа.
4. Изучить взаимосвязь метаболомного профиля пациентов с АГ и МС с маркерами ДЭ.
5. Изучить взаимосвязь лабораторно-инструментальных данных с результатами целевого метаболомного профилирования групп.

Научная новизна

Научная новизна данного исследования заключается в том, что впервые получен метаболомный профиль пациентов АГ с МС и ДЭ. Впервые изучена взаимосвязь МС, как совокупности факторов риска, АГ с показателями функции эндотелия, проведено сопоставление метаболомных профилей, а так же выделен ряд метаболитов как дополнительных факторов риска.

Теоретическая и практическая значимость

Результаты проведённого исследования позволяют выделить метаболиты, ассоциированные с прогрессированием АГ при наличии МС, как совокупности факторов риска. Полученные метаболиты могут рассматриваться в качестве дополнительных индивидуальных факторов риска и возможных целей для персонализированного подхода в лекарственной терапии.

Положения, выносимые на защиту

1. Для метаболомного профиля больных АГ с МС характерно повышение уровней холина, асимметричного диметиларгенина (АДМА), серина и ряда коротко - и среднецепочечных карнитинов, что свидетельствует о нарушении в обмене жирных кислот.

2. Показатели ДЭ у больных АГ с МС ассоциированы с повышенными уровнями тирозина, цистеина и ряда среднецепочечных ацилкарнитинов, а так же аминокислот с разветвлёнными боковыми цепями – валина и лейцина, что свидетельствует о нарушении в обмене глутаминовой кислоты.

3. Поражение органов-мишеней, дислипидемия и высокий индекс массы тела (ИМТ) у больных АГ с МС ассоциированы с повышением изолейцина, тирозина и лейцина, и короткоцепочечных карнитинов, что свидетельствует о нарушении катаболизма аминокислот с разветвленными боковыми цепями.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 4 печатные научные работы в отечественных и зарубежных изданиях, из которых все статьи в журналах, входящих в перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий, рекомендованных ВАК РФ и Scopus.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность данных подтверждается объемом выборки пациентов и статистической обработкой полученных результатов.

Апробация диссертационной работы осуществлена 29 марта 2020 г. на заседании кафедры госпитальной терапии № 1 Института клинической медицины имени Н. В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет).

Объем и структура диссертационной работы

Диссертация изложена на 101 странице машинописного текста и состоит из введения, четырёх глав, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений, списка использованной литературы, включающего 20 отечественных и 77 иностранных источников, списка иллюстративного материала, состоящий из 26 рисунков и 10 таблиц, а так же списка опубликованных работ и докладов.

Работа выполнена на кафедре Госпитальной терапии №1 Института клинической медицины имени Н.В. Склифосовского Федеральное

государственное автономное образовательное учреждение высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет).

Работа выполнена в рамках гранта Российского Фонда Фундаментальных Исследований № 18-315-00135 «Разработка алгоритма ранней диагностики и возможного прогнозирования развития дисфункции эндотелия у больных с метаболическим синдромом, основанного на метаболомном профилировании».

Глава 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Эпидемиологические показатели заболеваемости и смертности, патогенез артериальной гипертонии

АГ по-прежнему одной из самых распространённых патологий во всем мире и наиболее значимым фактором риска для развития ИБС. Кроме того, АГ является важным предиктором возникновения тяжёлых сердечно-сосудистых осложнений, таких как острый инфаркт миокарда (ОИМ), острое нарушение мозгового кровообращения (ОНМК), хроническая сердечная недостаточность (ХСН). По последним статистическим данным Министерства здравоохранения России за 2017 год в нашей стране насчитывалось более 4,7 миллионов больных с сердечно-сосудистыми заболеваниями (ССЗ), из которых третью часть составляют больные АГ. С возрастом распространённость АГ увеличивается и достигает 50%–65% среди лиц старше 65 лет [1]. АГ это синдром повышения артериального давления (АД) систолического ≥ 140 мм рт. ст. и/или диастолического ≥ 90 мм рт. ст. [2]. Клинические исследования в области механизмов развития АГ, поражения органов-мишеней и лекарственной терапии проводятся уже в течение многих десятилетий [3-6]. Общеизвестно, что факторы риска, такие как гиперхолестеринемия, избыточная масса тела и другие, а также развитие ДЭ лежат в основе развития АГ, как и всех ССЗ, согласно сердечно-сосудистому континууму (Рисунок 1) [7-8].

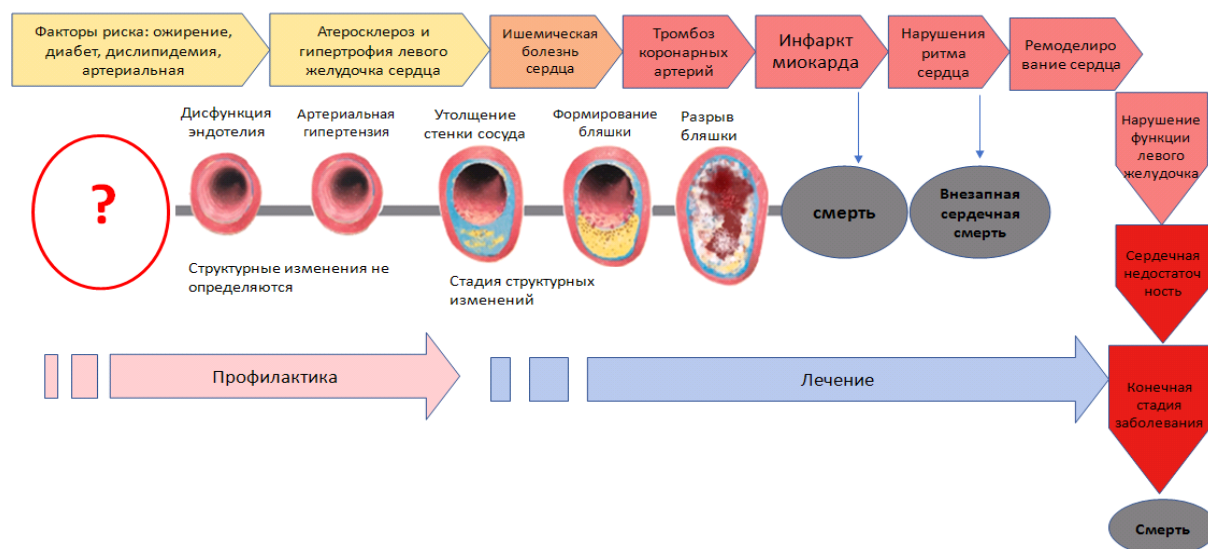


Рисунок 1 — Сердечно-сосудистый континуум [7].

Существуют несколько патогенетических звеньев, лежащих в основе прогрессирования АГ вследствие развития ДЭ. К наиболее значимым механизмам относятся активация симпатoadреналовой системы (САС) за счёт активации ренин-ангиотензин-альдостероновой системы (РААС), воздействия через альфа- и бета-адренорецепторы, нарушение мембранного транспорта натрия, кальция и калия, увеличение реабсорбции натрия в почках. Данные механизмы ведут к нарушению функции эндотелия, при этом начинает преобладать вазоконстрикция за счёт повышения синтеза ангиотензина-II и эндотелина, снижается выработка вазодилататоров, таких, как брадикинин, оксид азота и простациклин. В результате данных изменений происходят структурные нарушения стенок артерий эластического и мышечного (резистивного) типов, снижение плотности капилляров на микроциркуляторном уровне как следствие нарушения микроциркуляции и увеличение жёсткости сосудов [9-12].

1.2. Современное понимание метаболического синдрома

АГ является одним из наиболее значимых компонентов, являющийся совокупностью нарушений липидного, пуринового и углеводного обмена, которые проявляются увеличением массы висцерального жира и инсулинорезистентностью [13].

Термин «метаболический синдром» существует относительно недавно. В 1989 году N.M. Kaplan описал сочетание абдоминального ожирения, АГ, нарушений толерантности к глюкозе и гипертриглицеридемии, как совокупность нескольких факторов риска, объединённых одним патогенезом [14]. По данным метаанализа 87 исследований было показано, что риск развития сердечно-сосудистых событий и смертность от них увеличивается в 2 раза при наличии МС [15,16]. Распространённость МС составляет от 20 до 40% в разных странах. В настоящее время, согласно последним рекомендациям, разработанным по указанию министерства здравоохранения РФ, достоверность наличия МС определяют при выявлении одного основного и двух дополнительных критериев. К основному критерию относят центральный (абдоминальный) тип ожирения (окружность талии (ОТ) у женщин более 80 см, у мужчин - более 94 см). Дополнительные критерии включают в себя повышение уровня АД выше 140/90 мм рт.ст. или прием антигипертензивной терапии, дислипидемию, нарушение гликемии натощак или толерантность к глюкозе, а также их сочетание комбинация [13]. Среди состояний, ассоциированных с МС, выделяют гиперкоагуляционный синдром, микроальбуминурию, апноэ во сне, гиперурикемию, гипертрофию стенок миокарда левого желудочка (ЛЖ) с нарушением диастолической функции, синдром поликистозных яичников, жировую дистрофию печени, остеопороз, преждевременный атеросклероз различной локализации и развитие ИБС [14]. Согласно последним статистическим данным, в Российской Федерации отмечается неуклонный

рост людей, страдающих ожирением. По результатам исследования в 2019 году установлено, что 17,8% мужчин и 24,5% женщин имеют ожирение первой, второй и третьей степени. Избыточная масса тела зафиксирована у 46,9% мужчин и 34,7% женщин [17]. Абдоминальное ожирение, являясь основным компонентом МС, взаимосвязано с ДЭ посредством повышенного количества адипокинов вследствие наличия большого количества жировой ткани и увеличения уровня свободных жирных кислот, а также за счет развития инсулинорезистентности [18]. Жировая ткань в условиях гипоксии секретирует большое количество реактивных форм кислорода, нарушая сигнальные пути передачи NO, который образуется из L-аргинина. Показано, что синтез NO нарушается уже на ранних этапах атеросклероза, однако гомеостаз продолжают поддерживать гиперполяризующий фактор эндотелия [19, 20]. Так, например, при длительной гиперхолестеринемии усиливается вазодилатация за счёт гиперполяризующего фактора эндотелия, компенсируя снижение NO [21, 22].

1.3. Механизмы развития дисфункции эндотелия и подходы к оценке функции эндотелия

За последние годы было проведено множество экспериментальных и клинических исследований по изучению сосудистой стенки и взаимосвязи между АГ, МС и ДЭ [23].

Поверхность любой сосудистой стенки изнутри выстлана эндотелием, представляющим собой монослой клеток, и является барьером между стенкой и циркулирующей кровью. Кроме этого, эндотелий представляет собой ткань, которая продуцирует вазоактивные вещества, медиаторы и ингибиторы, предотвращая повреждения сосудистой стенки за счет баланса этих веществ. Эндотелий так же выполняет функцию регулирования тонуса гладких мышц сосудистой стенки, участвует в процессах воспаления и

ремоделирования, контролирует рост, пролиферацию и миграцию гладкомышечных клеток [24,98]. Помимо этого, эндотелий контролирует свёртывающую активность крови посредством угнетения адгезии тромбоцитов [25]. Таким образом, ДЭ — это дисбаланс между продукцией вазодилататоров, ангиопротекторов и антипролиферативных факторов и вазоконстрикторов, протромботических и пролиферативных [26, 27]. К причинам ДЭ относят: гемодинамические факторы, свободнорадикальное повреждение эндотелия, гипергомоцистинемию, дислипидемию, гипергликемию, а так же различные эндогенные и экзогенные интоксикации [28-31].

Если рассматривать каждый из компонентов метаболического синдрома, то каждый из них вносит свой вклад в ДЭ. В условиях гипергликемии происходит ряд процессов, которые ведут к нарушению проницаемости сосудистой стенки и снижается сосудорасширяющая функция эндотелия: активируются фермент протеинкиназа-С и перекисное окисление. При дислипидемии повышается экспрессия адгезивных молекул на поверхности эндотелиальных клеток. При повышении АД происходит механическое давление на стенки сосудов, и, как следствие, нарушение архитектоники эндотелиальных клеток, повышению их проницаемости, усилению секреции эндотелина-1. Такие нарушения приводят к ремоделированию сосудистой стенки [32].

В настоящий момент существует два основных подхода к оценке функции эндотелия: инвазивный и неинвазивный. К инвазивным методам относят интракоронарное введение вазоактивных веществ, например ацетилхолина, для оценки показателей эндотелий-зависимой вазодилатации коронарных артерий. При данной методике реакцию сосудов на пробу оценивают при помощи коронароангиографии или внутрисосудистого ультразвукового исследования (УЗИ) [33]. Однако такой способ не всегда рационален в силу его дороговизны и применение его для рутинной практике

для отслеживания изменений функции эндотелия нецелесообразно. В связи с этим неинвазивные подходы к оценке функции эндотелия рассматриваются как наиболее перспективные для широкого применения. К ним относятся методы, основанные на ультразвуковой доплерографии, а также различные сфигмоманометрические и пневмо-, фото- или электроплетизмографические методы исследования параметров гемодинамики [33]. При неинвазивных методах вазомоторная функция эндотелия оценивается по состоянию плечевой артерии (в редких случаях применяют поверхностную бедренную артерию), а с роли стимуляция проводится посредством реактивной гиперемии [34]. Наиболее распространённым методом из неинвазивных подходов оценки функции эндотелия является анализ формы объёмной пульсовой волны. Регистрацию объёмной пульсовой волны проводят с помощью фотоплетизмографического датчика, накладываемых на дистальные фаланги пальцев. Самым распространённым методом на настоящий момент является метод периферической артериальной тонометрии (ПАТ). ПАТ может применяться на любых устройствах, позволяющих измерять относительное изменение амплитуды пульса в области пальцев. К таким устройствам относят аппарат EndoPAT сертифицированный Канадской ассоциацией по стандартизации и пользующийся популярностью во всем мире [35]. Основным показателем для оценки функции эндотелия является индекс реактивной гиперемии, показывающий амплитуду сигнала до и после пробы с реактивной гиперемией в окклюзированной руке по отношению к амплитуде на контрольной руке. Российским аналогом EndoPAT является аппарат Ангиоскан, и соответствующий показателю индекса реактивной гиперемии показатель индекса окклюзии (ИО).

Таким образом, определение функции эндотелия предоставляет ценную информацию о состоянии сердечно-сосудистой системы на ранних этапах ССЗ и даёт возможность для поиска новых стратегий терапии в отношении их сосудистых эффектов [36]. В последнее время активно изучается роль ДЭ

в субклиническом повреждении органов мишеней, ремоделировании сердца и сосудов при различной сердечно-сосудистой патологии [37]. Так, в исследовании Nadaud S. ещё в 1998 году показано, что одним из механизмов ДЭ при АГ является изменение в структуре гена эндотелиальной NO-синтазы, что приводит к снижению экспрессии эндотелиальной NO-синтазы и, как следствию, уменьшению синтеза NO [38, 39]. Помимо этого, существуют предположение, что при АГ нарушается сигнальный путь фосфатидилинозитол/ Ca^{2+} , что и является причиной ДЭ [40]. Это происходит в результате увеличения входа кальция в эндотелиальные клетки независимо от активации мембранных рецепторов, что говорит о нарушении в структуре или функциях этих рецепторов или в сигнальных механизмах, активируемых этими рецепторами [38].

Кроме того, под воздействием различных факторов риска эндотелиальные клетки вырабатывают недостаточное количество NO, что приводит к воспалительным реакциям и начальным этапам появления атеросклероза [41].

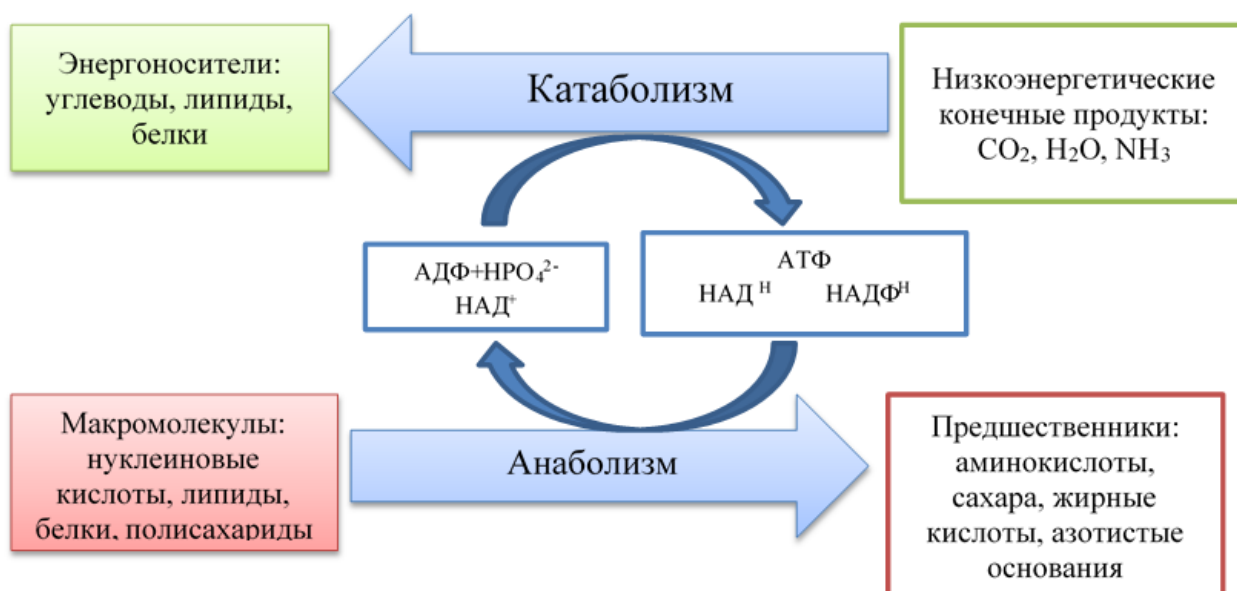
Клинические исследования в области взаимосвязи наличия ДЭ с критериями МС проводятся уже в течение нескольких лет. Так, в 2017 г. Vander Heijden D.J. в своей работе продемонстрировал взаимосвязь ожирения и наличия ДЭ у больных с предположительным диагнозом ИБС. Функция эндотелия оценивалась с использованием ПАТ, лазерной доплеровской флоуметрии и цифровой дистанционной термометрии у 108 пациентов. Была выявлена тесная взаимосвязь повышенного ИМТ со снижением эндотелий-зависимой вазодилатации как при измерении с помощью ПАТ ($r = 0,23$, $p < 0,02$) и лазерной доплеровской флоуметрии ($r = 0,30$, $p < 0,01$), так и цифровой дистанционной термометрии ($r = 0,30$, $p < 0,01$). При этом, такие факторы, как курение, гиперхолестеринемия и сахарный диабет (СД) не оказывали столь существенного влияния на эндотелий-зависимую вазодилатацию [42].

Следует отметить, что в данном исследовании принимали участие пациенты уже с подозрением на ИБС. В какой степени определение эндотелиальной функции и МС на ранних этапах может улучшить прогнозирование сердечно-сосудистого риска в дополнение к точной оценке известных сердечно-сосудистых факторов риска, в настоящее время ещё мало изучено и исследования в данной области только начинаются.

1.4. Общие вопросы метаболизма

На настоящий момент, как фундаментальные, так и клинические исследования показали всю важность глубокого пониманием механизмов развития и прогрессирования ССЗ на молекулярном уровне. Так, например, недавние исследования Zhang L. с соавторами в 2018 году продемонстрировали, что при нарушении метаболизма в кардиомиоцитах, соответствующие изменения происходят в составе циркулирующих метаболитов [43]. Поэтому изучения метаболизма пациентов и циркулирующих метаболитов получило столь широкое распространение.

Метаболизм представляет собой ряд химических реакций, происходящий в организме. Основными функциями метаболизма являются образование энергии, образование необходимых элементов для белков, жиров, углеводов и нуклеиновых кислот, а так же утилизация продуктов обмена. Существует два направления метаболизма. Катаболизм направлен на запасание энергии с расщеплением сложных органических веществ до более простых. При анаболизме происходит обратный процесс создания более сложных веществ с затратой энергии. Метаболизм обычно делят на 2 стадии: катаболизм и анаболизм. На Рисунке 2 представлена общая схема метаболизма.



*АДФ – аденозиндифосфат, АТФ – аденозинтрифосфат, НАД – никотинамидадениндинуклеотид, НАДФ – никотинамидадениндинуклеотидфосфат.

Рисунок 2 — Общая схема метаболизма.

Метаболические реакции, непрерывного превращения одного вещества в другое называют метаболическим путем. Такие метаболические пути состоят из различного набора метаболитов, включающих аминокислоты, нуклеиновые кислоты, жиры, белки, углеводы, а так же необходимые для реакций ферменты и кофакторы. Метаболизм включает широкий спектр реакций, большая часть из которых происходит с участием аденозинтрифосфата (АТФ), как основного источника энергии клеток и одного из центральных коферментов. Все анаболические процессы протекают с затратой АТФ, при катаболических реакциях происходит выделение АТФ (Рисунок 3) [44].

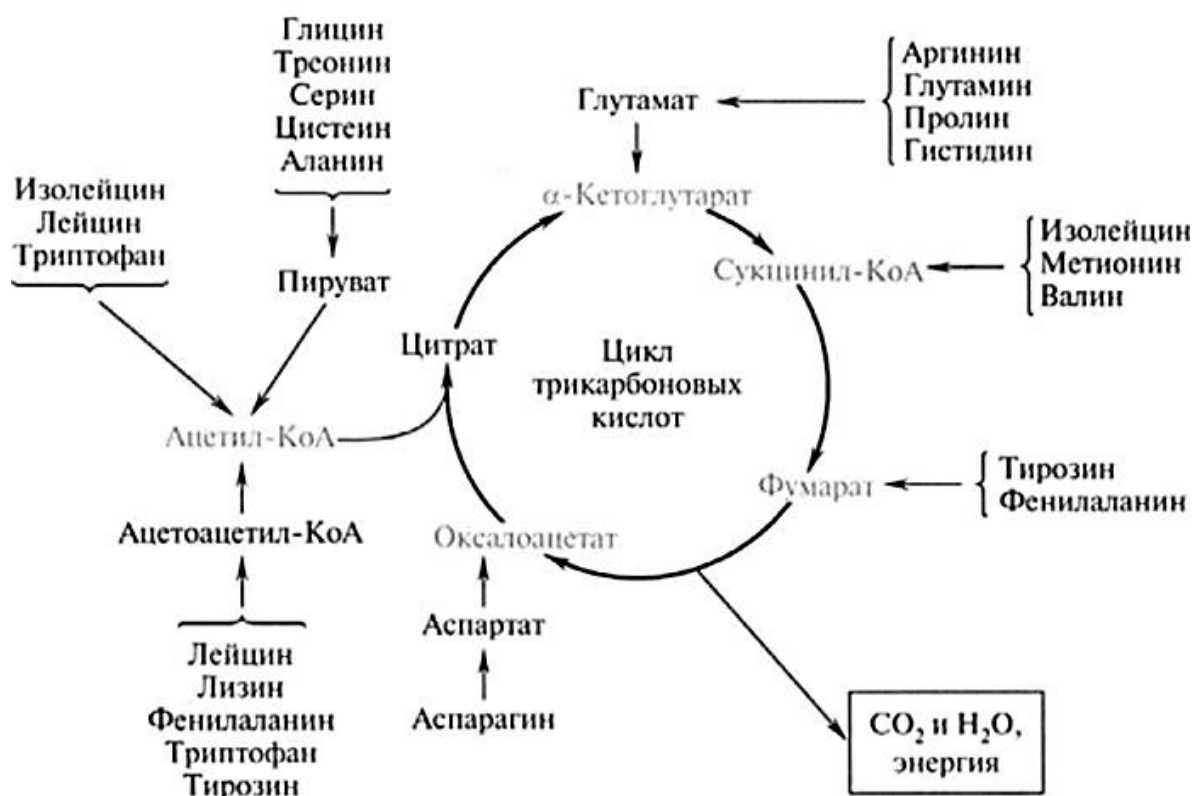


Рисунок 3 — Пример путей катаболизма аминокислот [44].

Помимо этого, различные физиологические и патологические условия могут приводить к изменениям метаболизма на разном уровне. Так, например, при обычной физической нагрузке основным поставщиком АТФ являются свободные жирные кислоты. Однако, при повышенной физической нагрузке относительный вклад свободных жирных кислот уменьшается, а доля лактата возрастает. Так, в условиях гипоксии происходит метаболическое ремоделирование, характеризующееся нарушением использования основных энергетических субстратов, которые могут непосредственно вызывать изменения в клетках организма, усиливать окислительный стресс, что приводит к структурным и функциональным нарушениям клеток. Дисбаланс между энергообразованием и потреблением может приводить к метаболическим нарушениям с последующим развитием различной патологии, таким как, например, ССЗ. В результате изменения основных энергетических субстратов кардиомиоцитов происходят изменения и в метаболических путях.

Исходя из вышесказанного, изучение нарушений метаболизма крайне важно для глубокого понимания механизмов ССЗ на молекулярном уровне. И новой наукой, занимающейся исследованием молекулярного состава биологических жидкостей является метаболомика.

1.5. Метаболомное профилирование

Метаболомика является постгеномной наукой, которая изучает низкомолекулярные конечные продукты обмена веществ [45, 46]. Она входит в группу «омных» наук, занимающихся системным исследованием биологических объектов [47]. При проведении метаболомного анализа, так же называемого метаболомным профилированием, проводят качественное и количественное изучение метаболомного профиля, который представляет собой совокупность метаболитов биологического образца [48]. В медицине целью метаболомного профилирования является поиск новых биомаркеров заболеваний для ранней диагностики патологии или поиск мишеней для терапевтического воздействия. При проведении метаболомного анализа появляется возможность выявить метаболические изменения в периферической крови, тканях или биологических жидкостях на ранних стадиях повреждения органов, предшествующих возникновению болезни. Поэтому, данное направление становится все более широко распространенным и популярным, а так же крайне перспективным, так как помогает выявить пациентов с высоким риском развития патологии и в частности, ССЗ.

К проведению метаболомного анализа предъявляются определенные жесткие требования. Это связано с тем, что метаболомный состав биологической жидкости или ткани варьируется в зависимости от состояния организма, времени суток или потребляемой пищи [49].

Существуют различные технологические подходы [50] для разделения и обнаружения низкомолекулярных соединений. К наиболее распространенным относятся газовая хроматография в сочетании с масс-спектрометрией (ГХ-МС), жидкостная хроматография высокого разрешения («высокоэффективная») в сочетании с спектрометрией (ВЭЖХ-МС/МС), спектроскопия ядерного магнитного резонанса и капиллярный электрофорез (КЭФ) [51- 53] (Таблица 1).

Таблица 1 — Методы применяемые для метаболомного профилирования

Методы разделения	Методы обнаружения
<ul style="list-style-type: none"> • Газовая хроматография • Двухмерная газовая хроматография • Высокого разрешения жидкостная хроматография • Сверхэффективная жидкостная хроматография • Капиллярный электрофорез 	<ul style="list-style-type: none"> • Масс-спектрометрия (времяпролетная, тройной квадрупольный анализатор, ионные ловушки, гибридные анализаторы) • Ядерный магнитный резонанс • Электрохимическая детекция

Приборы для метаболомного профилирования на основе ЯМР позволяют проводить измерения нескольких десятков веществ в образце, не расходуя материала. Так, например, одним из первых исследований по идентификации дифференциальной экспрессии биомаркеров при атеросклерозе с использованием ЯМР спектроскопии стала работа Мауг М и соавторов в 2005г. В ходе исследования были выявлены изменения в 79 видах белков на различных стадиях атерогенеза у мышей с отсутствием гена ApoE. Работа продемонстрировала, что депонирование иммуноглобулинов, окислительно-восстановительный дисбаланс и нарушение энергетического метаболизма предшествовали образованию атеросклеротической бляшки. Уровень окислительного стресса в стенках сосуда отражался на степени окисления 1-Цис пероксиредуксина и коррелировал со степенью поражения атеросклерозом сосудистого русла у 12-месячных мышей с отсутствием гена

АроЕ. Было обнаружено снижение отношения содержания аланина к пирувату и истощение пула аденозиновых нуклеотидов в сосудах 10-недельных мышей, а степень повреждений была связана с изменениями НАДФ, производящей малатдегидрогеназу, которая влияет на интенсивность различных путей синтеза липидов и рециркуляцию глутатиона [54]. В 2015 год было проведено сразу 2 исследования с применением ЯМР представляющие интерес. Одной из работ является исследование M.Deidda с соавторами, в котором проводилась оценка корреляции изменений метаболомного профиля с тяжестью течения сердечной недостаточности (СН). Проводилась оценка метаболомных профилей 9 пациентов с СН с промежуточной фракцией выброса левого желудочка (ФВ ЛЖ), 15 пациентов с СН со сниженной ФВ ЛЖ и в качестве контрольной группы было включено 9 здоровых добровольцев. Обнаружено, что наиболее важными метаболитами для прогнозирования тяжести течения ХСН были 2-гидроксипутират, глицин, метилмалонат и мио-инозитол [55]. Другое исследование было проведено V.N. Zordoky с соавторами, в котором участвовало большее количество пациентов с СН с сохраненной фракцией выброса (n = 24) и сниженной фракцией выброса (n = 20). В качестве контрольной группы принимали участие сопоставимые по возрасту здоровые добровольцы (n = 38). По результатам исследования сыворотки крови на 181 метаболит было выявлено повышенные концентрации группы карнитинов, бетаина и аминокислот и сниженная концентрация фосфатидилхолинов, лизофосфатидилхолинов и сфингомиелинов. Примечательно, что у пациентов с ХСН с сохраненной ФВ ЛЖ отмечалось повышение уровней ацилкарнитинов средней и длинной цепей по сравнению со здоровой группой [56]. Однако, метод ЯМР больше подходит для белковых соединений и обладает достаточно низкой чувствительностью в отношении других соединений, и требует больше затрат времени по сравнению с большинством других методов.

КЭФ несмотря на высокую эффективность разделения, малый расход реактивов, простоту исследования и аппаратного оформления так же не получил популярности. Одно из немногих исследований в области кардиологии с применением КЭФ провел Zinellu A. с соавторами в 2012 году. В исследовании определялся уровень гомоцистеина, связанного с липопротеинами низкой плотности (ЛПНП) у 16 пациентов с ОИМ и 32 здоровых добровольцев. Работа показала значительное повышение уровня апо-В гомоцистеина и цистеина в ЛПНП у пациентов с ОИМ, в связи с чем, авторы предложили использовать S-гомоцистеинилирование ЛПНП в качестве фактора риска развития ССЗ [57].

Наибольшее распространение для анализа метаболомного профиля получают масс-спектрометрия и ВЭЖХ-МС или ГХ-МС, так как они способны охватить наибольшее количество метаболитов – до нескольких тысяч метаболитов в биологическом образце за один анализ [58].

Учитывая преимущества и недостатки каждого из методов, при проведении метаболомного анализа, вышеописанные методы совмещают и комбинируют. Выбирают методы для проведения профилирования по химическим и физическим свойствам веществ, которые планируют выявить. [59].

Жидкостную хроматографию используют для разделения метаболитов перед масс-спектрометрическим анализом. Она увеличивает динамический диапазон обнаружения метаболитов [60, 61]. Для повышения эффективности выделения веществ их сложных биологических смесей используют различные модификации обратнофазовой ВЭЖХ. Так, например, при сверхэффективной жидкостной хроматографии (СЭЖХ) уменьшают размеры частиц носителя неподвижной фазы менее 2 мкм [62 - 74].

В зависимости от цели исследования так же существуют различные подходы к изучению метаболома – целевого (таргетный), полуцелевой и нецелевого (нетаргетный) анализы (Рисунок 4).

Нецелевой подход применяется в исследованиях по созданию гипотез и является наиболее подходящим для обнаружения максимального количества метаболитов и идентификации новых соединений. Обычно можно измерить от сотен до тысяч метаболитов. Основное преимущество метода заключается в определении взаимосвязи значимых метаболитов между собой и построении метаболических путей. Полуцелевой подход используется для выявления от десятков до сотен метаболитов. При данном подходе можно идентифицировать и количественно подсчитать уже известные метаболиты [75, 76]. Полуцелевой подход позволяет получать данные о сотнях отдельных биохимических реакций, характеризовать свойства метаболитов или выявлять пути. Несмотря на то, что список метаболитов определен, гипотезы может и не быть.

Таргетный анализ используется для подтверждения новых открытий, сделанных в исследованиях по созданию гипотез. При этом подходе анализируют относительно небольшое и специфическое количество метаболитов с известной массой, строением и временем удержания. Целевым методом скринируют несколько десятков метаболитов; он обладает большей, чем нецелевой и полуцелевой методы, специфичностью и чувствительностью, и используется для подтверждения гипотез [78].

В настоящее время как фундаментальные, так и клинические исследования показали значение метаболомного профилирования для понимания патофизиологических механизмов развития различных ССЗ.

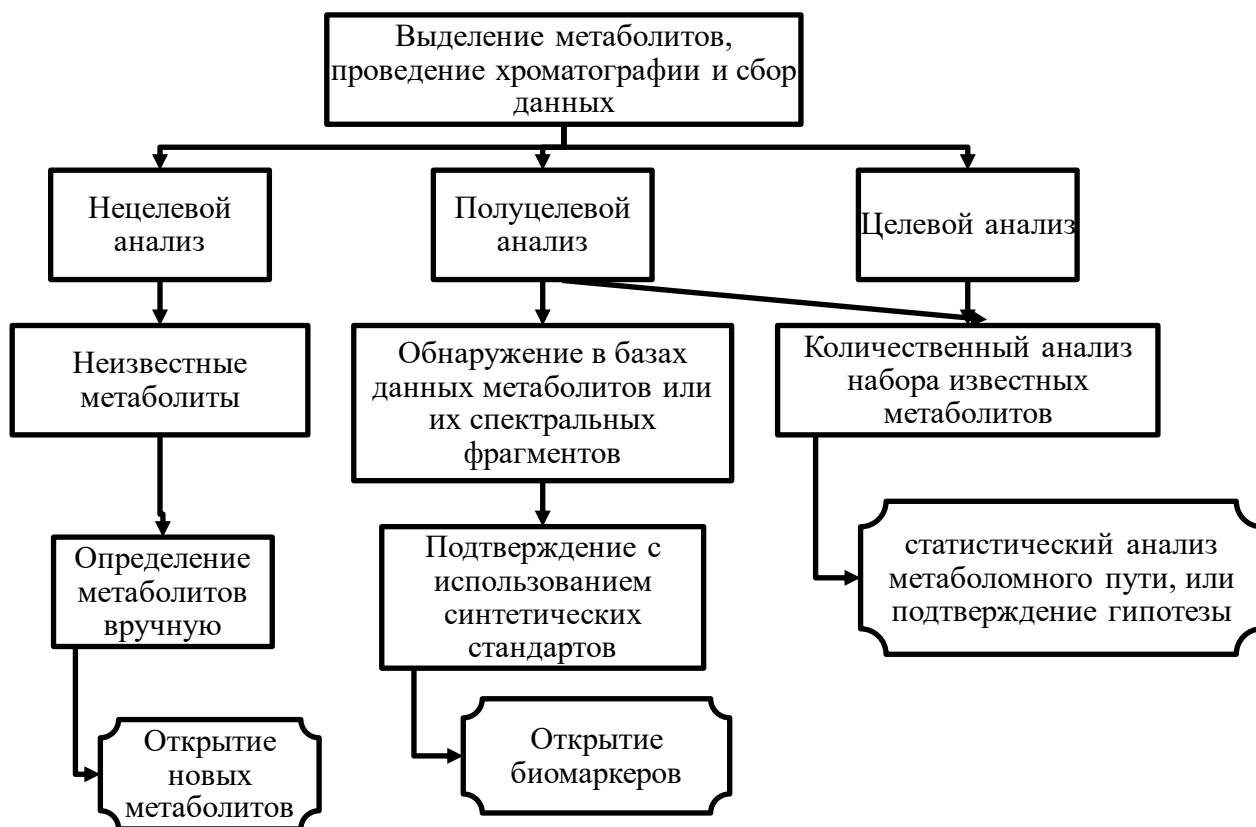


Рисунок 4 — Общая схема различных рабочих процессов, доступных для исследований в области метаболомики [77].

При анализе масс-спектрометрических данных, из-за большего объёма информации, применяется выравнивание и нормализация интенсивностей масс-спектрометрических пиков. Выравнивание необходимо для соотнесения между собой пиков одних и тех же метаболитов в разных спектрах из-за погрешности в измерении масс веществ [79 - 81]. Нормализацию масс-спектрометрических данных проводят путем деления интенсивности (или площади) каждого масс-спектрометрического пика на сумму интенсивностей (или площадей) всех детектируемых в масс-спектре пиков.

Дополнительно для улучшения качества масс-спектрометрических данных рекомендовано деление интенсивностей масс-спектрометрических пиков на интенсивность внесенного в каждую анализируемую пробу стандартного вещества в постоянной концентрации.

Для анализа полученных метаболомных данных используются иерархический кластерный анализ, метод главных (principal component analysis, PCA) или независимых компонент (independent component analysis, ICA), метод наименьших квадратов (partial least squares, PLS) и формальное независимое моделирование аналогии классов (softindependent method of class analogy, SIMCA) [82, 83]. Наиболее эффективным способом обнаружения метаболомных биомаркеров является совместное применение статистических методов. Например, для поиска биомаркера в пробах известных групп метаболитов применяют дисперсионный анализ (ANOVA) или дисперсионный анализ с одновременным анализом компонент – ASCA (ANOVA – simultaneous component analysis) [84,85,86].

Для идентификации метаболитов используют различные базы данных. К наиболее крупным относятся KEGG Pathway Database (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes), Human Metabolome Database (HMDB), Golm Metabolome Database (GMD), MetaCyc, PubChem, Protein Data Bank, Chemical Entities of Biological Interest, Swiss-Prot и GenBank. Все эти базы данных представляют собой различные электронные библиотеки, с возможностью определения метаболитов, фрагментов метаболитов и метаболомных путей, что повышает доступность и скорость пополнения данных со всего мира.

В течение последних нескольких десятилетий метаболомное профилирование стало набирать популярность, как метод, дающим возможность поиска новых маркеров, ассоциированных с оценкой риска прогрессирования ССЗ. Несмотря на то, что подобных работ еще немного и в них используются различные методологические подходы, полученные данные представляются многообещающими.

В настоящее время описаны только единичные работы по метаболомному профилированию у пациентов с МС. Так, например, в исследовании Petri K Wiklund [87] с соавторами в 2014 году при помощи ЯРМ спектроскопии анализировался метаболомный профиль 78 женщин с

избыточной массой тела или ожирением, из них 36 пациенток с МС, авторы обнаружили взаимосвязь аминокислот с разветвленными боковыми цепями (ВСАА), ароматических аминокислот (ААА) и оросомукоида с наличием МС, не зависимо от ИМТ, ОТ, массы жира. Такие результаты, очевидно, связаны с тем, что ВСАА участвуют в синтезе промежуточных соединений цикла трикарбоновых кислот и глюконеогенеза, а также секреции инсулина. Еще одно исследование в этой области провел Chen H. С соавторами в 2015 году. В работе проводился анализ данных метаболомного профиля 2-х групп участников – пациентов с обычным ожирением, гипергликемии, АГ или дислипидемии, и людей с МС. Используя жидкостную хроматографию-масс-спектрометрию и газовую хроматографию-масс-спектрометрию, анализировали метаболомный профиль 34 участников исследования сопоставимых по возрасту, полу и ИМТ. Условная логистическая регрессия и частичный дискриминантный анализ методом наименьших квадратов применялись для выявления значимых метаболитов между двумя группами. Обогащение путей и анализ топологии проводились для оценки регулируемых путей [88]. По результатам исследования профили двух групп пациентов значительно различались по ряду метаболитов: L-кинуренину, глицерофосфохолину глицерол-1-фосфату, гликолевой кислоте, метилпальмитату и мочевой кислоте. Так же различия были выявлены в нескольких метаболических путях, включая биосинтез жирных кислот, метаболизм фенилаланина и пропаноата, так же сниженную концентрацию валина, лейцина и изолейцина в группе пациентов с МС.

В 2018 году завершилось аналогичное исследование Minoо Bagheri и соавторов. В данной работе анализировался ацилкарнитиновый профиль, холинсодержащие фосфолипиды и некоторые аминокислоты у 107 пациентов с обычным ожирением, 100 пациентов с МС, с сопоставимыми по полу и возрасту 78 участниками с нормальным весом без метаболических нарушений. Для профилирования был использован целевой метаболомный анализ с использованием жидкостной хроматографии в сочетании масс-

спектрометрией с тройным квадрупольным анализатором. Исследование показало, что в группе пациентов с ожирением отмечалась повышенная концентрация ВСАА, тирозина, глутаминовой кислоты, ацилкарнитинов С32:1 и С38:3, а так же снижение концентраций ацилкарнитинов С18:2, С18:1 и С18:2. Схожие изменения метаболомного профиля были характерны и для группы пациентов с МС, за исключением повышения концентрации ацилкарнитина С3:0 и С16:1, и сниженная концентраций ацилкарнитинов С18:1 и С18:2. Данная работа показала, что пролин и ацилкарнитинов С32:2 и С34:2 положительно коррелировали с кардиометаболическими факторами, а серин, аспарагин и ацилкарнитина С34:3 показали обратную корреляцию с кардиометаболическими факторами [89].

Как видно из представленного анализа литературы, на сегодня большое внимание уделяется метаболомному профилированию при различной сердечно-сосудистой патологии и поиску новых биомаркеров ССЗ. Однако, в настоящий момент недостаточно освещены вопросы поиска доклинических биомаркеров поражения сердечно-сосудистой системы на ранних этапах.

Глава 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Дизайн исследования и общая характеристика участников исследования

В проспективном нерандомизированном сравнительном исследовании приняли участие 60 человек: из них 30 пациентов АГ и МС (основная группа) и 30 человек (контрольная группа). В основную группу вошли 16 мужчины (53,3%) и 14 женщин (46,7%). Средний возраст больных в группе АГ и МС составил — $58,62 \pm 12,71$ лет. В контрольную группу было включено 13 мужчин (43,3%) и 17 женщин (56,7%) средний возраст которых составил $48,7 \pm 8,89$, у которых отсутствовали клинические и лабораторные признаки поражения сердечно-сосудистой системы. Общие характеристики пациентов исследуемых групп представлены в таблице 2.

Таблица 2 — Общая характеристика участников исследования

Показатель	Группа АГ и МС (n = 30) M ± SD	Контрольная группа (n =30) M ± SD	Значимость различий
Мужчины, N (%)	16 (51, 2%)	13 (47, 1 %)	p>0,05
Женщины, N (%)	14 (47, 8%)	17 (52, 9%)	p>0,05
Возраст, лет	58,71±12,20	48,7 ± 8,89	p<0,05
ИМТ (мужчины), кг/м ²	32,68±5,89	27,06±2,42	p<0,05
ИМТ (женщины), кг/м ²	31,39±3,62	26,99±4,50	p<0,05

*Значения возраста и ИМТ рассчитаны как среднее значение ± стандартное отклонение (M ± SD), p – статистическая значимость.

От всех участников исследования получено информированное согласие на участие в исследовании. При отборе участников исследования были учтены критерии включения и исключения.

Критерии включения в группу АГ и МС:

- Наличие письменного информированного согласия на участие в исследовании;

- Мужчины и женщины в возрасте старше 18 лет;
- Наличие МС согласно рекомендациям по ведению больных с МС, разработанным по поручению Минздрава России и утвержденным Российским медицинским обществом по АГ и профильной комиссией по кардиологии в 2013 года;
- Наличие АГ согласно меморандуму экспертов Российского кардиологического общества по рекомендациям Европейского кардиологического общества/Европейского общества по лечению АГ.

Критерии не включения в группу АГ и МС:

- ИБС, ХСН, вторичная АГ;
- Цереброваскулярные расстройства (деменция, ОНМК давностью менее 6 месяцев);
- Острая почечная недостаточность, хроническая болезнь почек 4–5 стадии;
- Хроническое легочное сердце;
- Тяжелые нарушения функции печени (без синдрома цитолиза и явлений печеночно-клеточной недостаточности);
- Портальная гипертензия;
- Бронхиальная астма, хроническая обструктивная болезнь легких;
- Язвенная болезнь желудка или двенадцатиперстной кишки в стадии обострения;
- Хронический панкреатит в стадии 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;
- Аутоиммунные заболевания;
- Психическое заболевание или недееспособность;
- Алкоголизм, наркомания, токсикомания;
- Беременность, кормление грудью.

Критерии исключения из группы АГ и МС:

- Отказ пациента от дальнейшего участия в исследовании;
- Отсутствие достаточной готовности к сотрудничеству;
- Снижение скорости клубочковой фильтрации ниже 30 мл/мин;
- Тяжелые нарушения функции печени (повышение печеночных трансаминаз в 2 раза и более);
- Впервые выявленные: бронхиальная астма, хроническая обструктивная болезнь легких, хроническое легочное сердце, язвенная болезнь желудка или двенадцатиперстной кишки в стадии обострения, портальная гипертензия, хронический панкреатит в стадии обострения, злокачественные новообразования, гипотиреоз и гипертиреоз, синдром Иценко-Кушинга, СД 1 типа, аутоиммунные заболевания, психические заболевания или недееспособность, алкоголизм, наркомания, токсикомания;
- Беременность.

Критерии включения в контрольную группу:

- Наличие письменного информированного согласия на участие в исследовании;
- Мужчины и женщины в возрасте старше 18 лет.

Критерии не включения в контрольную группу:

- Наличие патологии сердечно-сосудистой системы: АГ, ИБС, врожденные и приобретенные пороки сердца, гипертрофия стенок миокарда ЛЖ любого генеза, кардиомиопатии, инфильтративные заболевания сердца, ХСН, нарушения ритма (фибрилляция или трепетание предсердий, желудочковые нарушения ритма), и проводимости сердца;
- Цереброваскулярные расстройства (деменция, ОНМК, транзиторная ишемическая атака);
- Острая почечная недостаточность, хроническая болезнь почек 3–5 стадии;
- Бронхиальная астма, хроническая обструктивная болезнь легких;
- Хроническое легочное сердце;
- Язвенная болезнь желудка или двенадцатиперстной кишки в стадии обострения;
- Тяжелые нарушения функции печени (без синдрома цитолиза и явлений печеночно-клеточной недостаточности);
- Портальная гипертензия;
- Хронический панкреатит в стадии обострения;
- Злокачественные новообразования;
- Заболевания щитовидной железы (гипотиреоз и гипертиреоз);
- Синдром Иценко-Кушинга, СД 1 и 2 типов;
- Тромбоцитопении любого генеза; геморрагический синдром;
- Аутоиммунные заболевания;
- Психическое заболевание или недееспособность;
- Алкоголизм, наркомания, токсикомания;
- Беременность, кормление грудью.

Критерии исключения из контрольной группы:

- Отказ пациента от дальнейшего участия в исследовании;
- Отсутствие достаточной готовности к сотрудничеству;
- Повышение уровня глюкозы натощак выше 7,5 ммоль/л, и постпрандиальной гликемии более 11,1 ммоль/л;
- Впервые выявленные: заболевания сердечно-сосудистой системы, цереброваскулярные расстройства, острая почечная недостаточность, хроническая болезнь почек 3 – 5 стадии, бронхиальная астма, хроническая обструктивная болезнь легких, хроническое легочное сердце, язвенная болезнь желудка или двенадцатиперстной кишки в стадии обострения, тяжелые нарушения функции печени (без синдрома цитолиза и явлений печеночно-клеточной недостаточности), портальная гипертензия, хронический панкреатит в стадии обострения, злокачественные новообразования, заболевания щитовидной железы (гипотиреоз и гипертиреоз), синдром Иценко-Кушинга, СД 1 и 2 типов, аутоиммунные заболевания, психические заболевания или недееспособность, алкоголизм, наркомания, токсикомания;
- Беременность.

План исследования

1. Отбор участников исследования согласно критериям включения, не включения.
2. Получение информированного согласия на участие в исследовании
3. Общеклиническое обследование участников исследования: сбор анамнеза, опрос для выявления скрытых нарушений дыхания во время сна, анализ предоставленной медицинской документации, физикальное обследование, взвешивание и измерение роста для вычисления ИМТ,

антропометрическое измерение ОТ, измерение уровня АД методом Короткова, выполнение общего анализа крови (ОАК), определение показателей липидного обмена (общего холестерина, ЛПНП, липопротеидов высокой плотности (ЛПВП), липопротеидов очень низкой плотности (ЛПОНП) и триглицеридов (ТГ)), углеводного обмена, при необходимости проведение теста толерантности к глюкозе или определение уровня гликозилированного гемоглобина, уровня мочевой кислоты, печеночных трансаминаз, анализ уровней гормонов щитовидной железы, определение состояния органов-мишеней – сердца: проведение электрокардиографии (ЭКГ), эхокардиографии (ЭХО-КГ) с доплеровским анализом; и почек: проведение УЗИ почек, определение уровня креатинина, расчет скорости клубочковой фильтрации (СКФ); при необходимости проведение УЗИ сосудов с доплеровским анализом, выполнение суточного мониторинга АД (СМАД).

4. Проведение дополнительных исследований:

- Проведение фотоплетизмографии для неинвазивной оценки функции эндотелия у всех групп участников исследования с помощью на аппарате «Ангиоскан-01».

- Проведение нецелевого метаболомного профилирования образцов крови всех участников исследования с использованием сверхпроизводительной жидкостной хроматографии (СВЭЖХ) системы Waters Acquity UPLC в сочетании с масс-спектрометром высокого разрешения (Q-TOF, Xevo G2-XS, Waters, США)

- Проведение целевого метаболомного профилирования крови всех участников исследования с применением СВЭЖХ системы Waters Acquity UPLC в сочетании с тройным квадрупольным анализатором (TSQ, Xevo TQ-S micro, Waters, США).

5. Анализ и интерпретация полученных данных метаболомных профилей с применением комплексных программ интеллектуального анализа

с привлечением мультивариантной статистики и специализированного программного обеспечения, для описания узлов и сетей метаболических процессов.

6. Статистическая обработка полученных данных
7. Формулировка выводов

2.2. Клинико-лабораторная характеристика пациентов группы АГ и МС и контрольной группы

В основную группу вошло 30 пациентов с АГ с достоверным МС, основные характеристики которой продемонстрированы в таблице 3.

Согласно рекомендациям по лечению больных АГ за 2018 год, АГ диагностировалась, если офисное значение систолического артериального давления (САД) больше или равно 140 мм рт.ст. и/или диастолическое артериальное давление (ДАД) больше или равно 90 мм рт.ст. Так же МС считался достоверным при наличии одного основного и как минимум двух дополнительных критериев согласно рекомендациям по ведению больных с МС, разработанным по поручению Минздрава России и утвержденным Российским медицинским обществом по АГ и профильной комиссией по кардиологии в 2013 года, представленным в таблице 4.

Таблица 3 — Характеристика пациентов группы АГ и МС в сравнении с контрольной группой

	Пациенты АГ и МС Мужчины (n=16) M ± SD	Пациенты АГ и МС Женщины (n=14) M ± SD	Контрольная группа Мужчины (n=13) M ± SD	Контрольная группа Женщины (n=17) M ± SD	Статистическая значимость
Окружность талии, см	108,5 ± 13,39	98,85 ± 9,28	90,09 ± 9,45	83,76 ± 11,33	p ¹⁻² = 0,0005 p ³⁻⁴ = 0,0001 p* < 0,0001
САД, мм рт.ст.	137,25 ± 10,20	133,92 ± 9,73	125,7 ± 8,21	120,11 ± 8,99	p ¹⁻² = 0,0003 p ³⁻⁴ = 0,0019 p* < 0,0001
ДАД, мм рт.ст.	90,68 ± 7,15	75,2 ± 9,33	80,0 ± 7,2	74,41 ± 9,02	p ¹⁻² = 0,7493 p ³⁻⁴ = 0,0002 p* = 0,0126
Триглицериды, ммоль/л	1,78 ± 1,56	1,41 ± 0,64	1,44 ± 0,67	1,3 ± 0,61	p ¹⁻² = 0,5540 p ³⁻⁴ = 0,5680 p* = 0,3861
ЛПВП, ммоль/л	1,28 ± 0,28	1,51 ± 0,30	1,61 ± 0,44	1,76 ± 0,49	p ¹⁻² = 0,1137 p ³⁻⁴ = 0,0289 p* = 0,0076
ЛПНП, ммоль/л	3,08 ± 1,27	3,45 ± 1,04	3,26 ± 1,6	2,9 ± 0,74	p ¹⁻² = 0,2517 p ³⁻⁴ = 0,9093 p* = 0,5960
Креатинин, мг/дл	104,59 ± 18,82	84,52 ± 6,17	99,92 ± 11,08	88,80 ± 14,55	p ¹⁻² = 0,3031 p ³⁻⁴ = 0,3581 p* = 0,6803
Глюкоза, ммоль/л	5,63 ± 0,97	5,4 ± 0,65	5,1 ± 0,50	4,49 ± 0,56	p ¹⁻² = 0,0756 p ³⁻⁴ = 0,1455 p* = 0,0187
Диастолическая функция, E/A	1,13 ± 0,16	1,27 ± 0,16	0,82 ± 0,18	0,87 ± 0,26	p ¹⁻² = 0,0002 p ³⁻⁴ = 0,0002 p* = 0,0187
ТЗС ЛЖ, мм	11,44 ± 0,96	10,2 ± 1,25	10,00 ± 0,53	8,72 ± 1,00	p ¹⁻² = 0,0078 p ³⁻⁴ = 0,0002 p* < 0,0001
ТМЖП, мм	11,38 ± 1,02	10,07 ± 1,14	9,87 ± 0,67	8,45 ± 1,03	p ¹⁻² = 0,0025 p ³⁻⁴ = 0,0003 p* < 0,0001

P¹⁻² – различия между мужчинами группы АГ и МС и контрольной группы, P³⁻⁴ различия между женщинами группы АГ и МС, P* - различия между группами пациентов с АГ и МС и контрольной группой. ТЗС ЛЖ - толщина задней стенки левого желудочка, ТМЖП - Толщина межжелудочковой перегородки.

Таблица 4 — Критерии МС согласно рекомендациям по ведению больных с МС, разработанным по поручению Минздрава России и утвержденным Российским медицинским обществом по АГ и профильной комиссией по кардиологии в 2013 года

Основной критерий	Дополнительные критерии
<p>центральный (абдоминальный) тип ожирения – ОТ более 80 см у женщин и более 94 см у мужчин</p>	<p>уровень АД >140 или 90 мм рт.ст. или лечение АГ препаратами</p>
	<p>повышение уровня ТГ ($\geq 1,7$ ммоль/л)</p>
	<p>снижение уровня ЛПВП ($<1,0$ ммоль/л у мужчин; $<1,2$ ммоль/л у женщин)</p>
	<p>повышение уровня ЛПНП $> 3,0$ ммоль/л</p>
	<p>нарушенная толерантность к глюкозе (НТГ) - повышенный уровень глюкозы плазмы через 2 ч после нагрузки 75 г безводной глюкозы при ПГТТ ≥ 7.8 и <11.1 ммоль/л, при условии, что уровень глюкозы плазмы натощак составляет менее 7.0 ммоль/л</p>
	<p>нарушенная гликемия натощак (НГН) - повышенный уровень глюкозы плазмы натощак ≥ 6.1 и <7.0 ммоль/л, при условии, что глюкоза плазмы через 2 ч при ПГТТ составляет менее 7.8 ммоль/л</p>
	<p>комбинированное нарушение НГН/НТГ - повышенный уровень глюкозы плазмы натощак ≥ 6.1 и <7.0 ммоль/л в сочетании с глюкозой плазмы через 2 ч при ПГТТ ≥ 7.8 и <11.1 ммоль/л</p>

Большая доля наблюдаемых в группе АГ и МС страдала ожирением 1 степени и избыточной массой тела (11 и 10 больных, соответственно). Нормальная масса тела была только у 1 пациента, ожирением 3 степени страдало 2 человека, ожирение 2 степени выявлено у 6 больных. Структура распределения пациентов по ИМТ представлена на диаграмме (Рисунок 5).

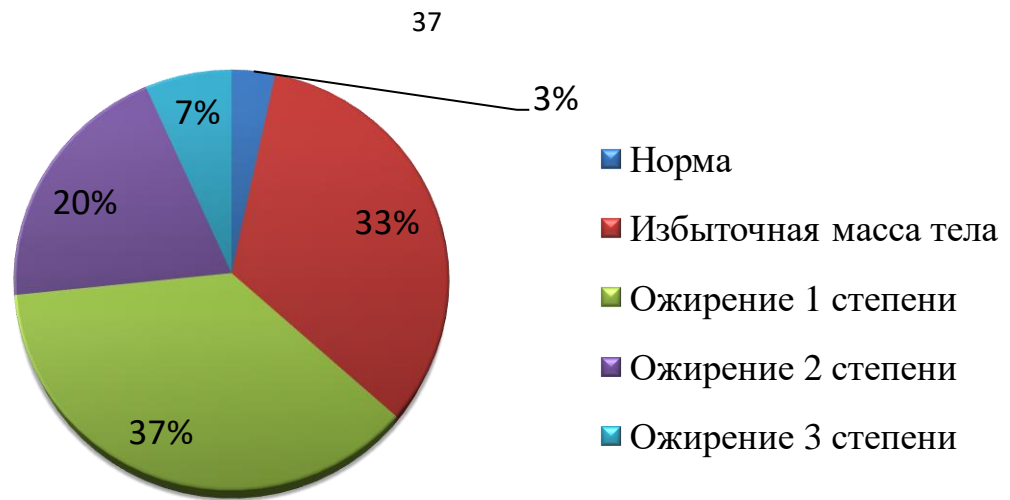


Рисунок 5 — Распределение пациентов из группы АГ и МС по ИМТ.

Среди участников контрольной группы большую долю составляют люди с избыточной массой тела (16 человек). Нормальной массой тела обладают 9 пациентов, и только 5 человек страдают ожирением 1 степени. Структура распределения участников контрольной группы по ИМТ представлена на диаграмме (Рисунок 6).

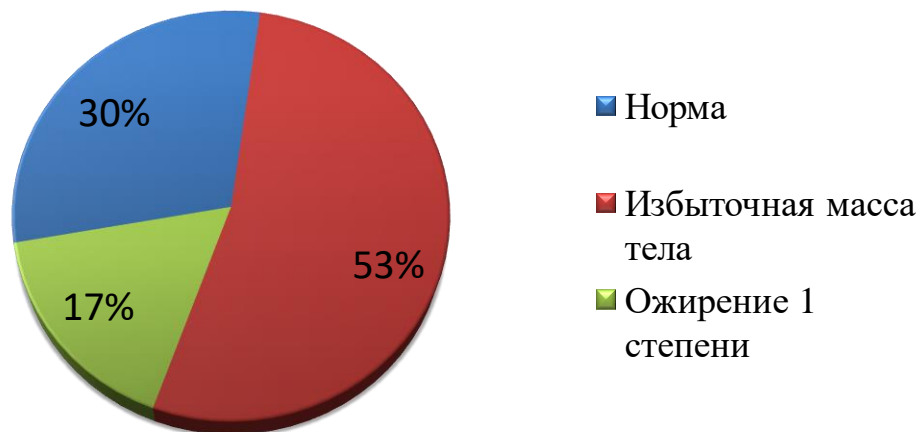
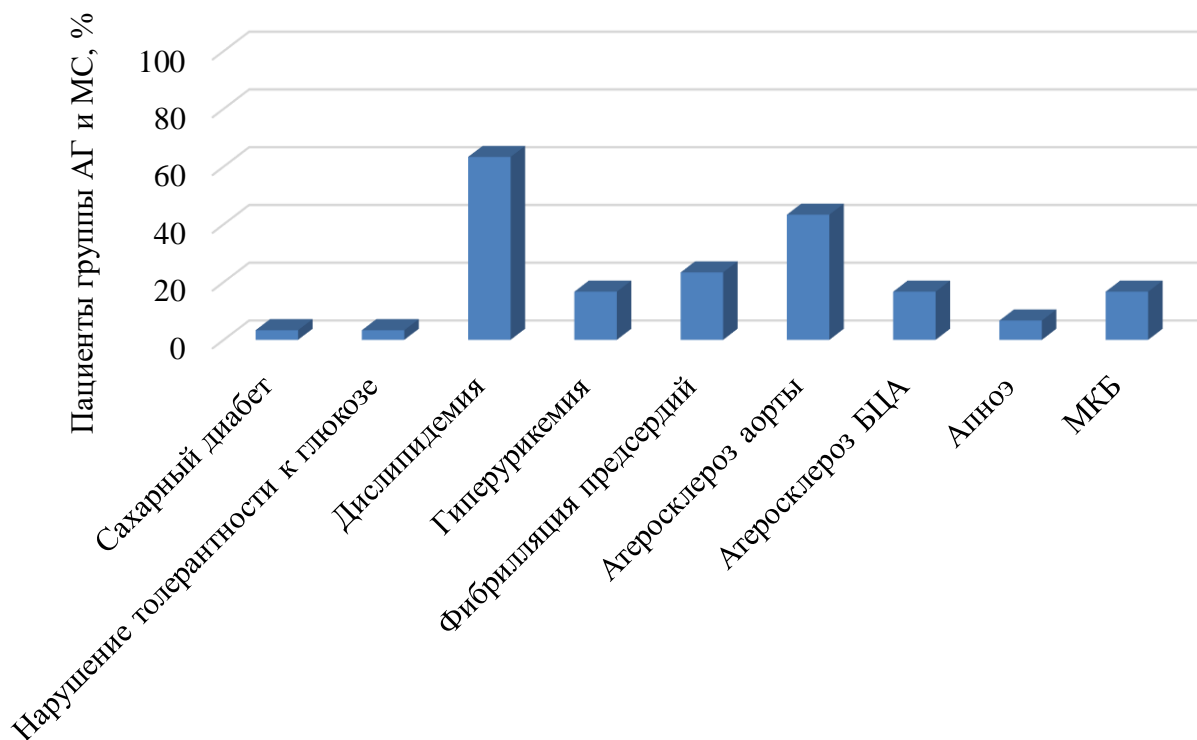


Рисунок 6 — Распределение участников контрольной группы по ИМТ.

В структуре сопутствующей патологии преобладали дислипидемия, на момент обследования скоррегированная гиполипидемической терапией - 63,3% случаев, атеросклеротическое поражение аорты выявлено в 13 (43,3%) и магистральных артерий головы в 5 (16,6%) случаях; мочекаменная болезнь (МКБ) была у 5 пациентов (16,6%), гиперурикемия

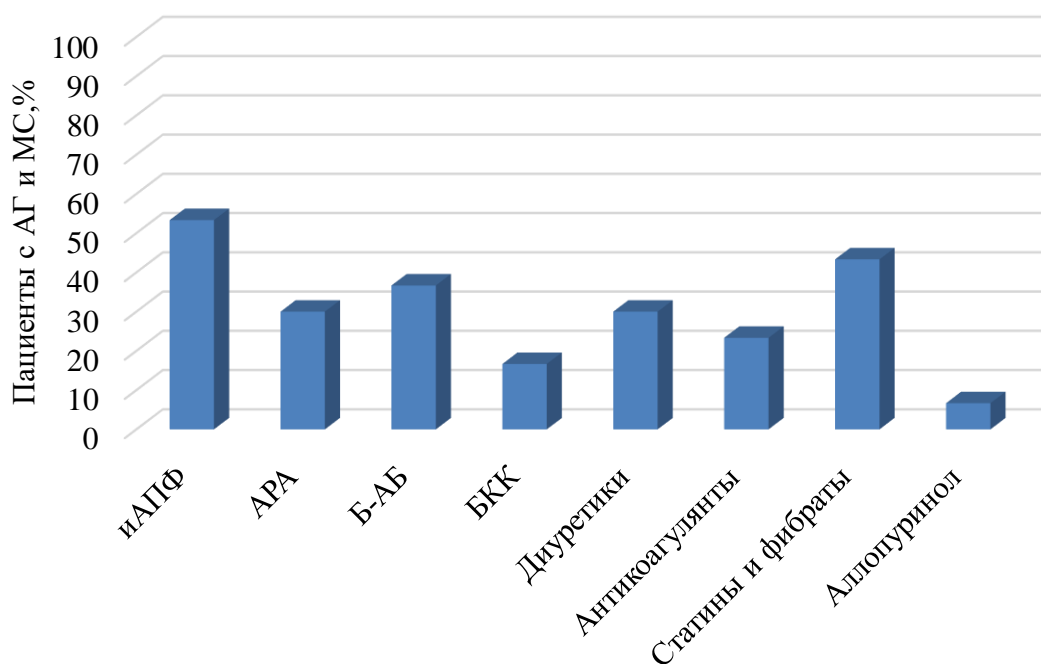
так же отмечалась у 16,6% пациентов. Фибрилляцией предсердий страдало 23,3% больных (Рисунок 7).



*БЦА – брахиоцефальные артерии головы.

Рисунок 7 — Сопутствующая патология группы АГ и МС.

В связи с тем, что все больные находились на гипотензивной лекарственной терапии (Рисунок 8), средние уровни АД определялись в пределах нормальных значений. Так же гиполипидемическую терапию принимали 13 человек (43,3%).



*иАПФ – ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента; АРА – антагонисты рецепторов ангиотензина II; Б-АБ - Бета-адреноблокаторы; БКК – блокаторы кальциевых каналов.

Рисунок 8 — Лекарственная терапия пациентов группы АГ и МС.

Стоит отметить, что практически половина всех пациентов группы АГ и МС получали терапию статинами, однако целевые уровни ЛПНП в 90% случаев достигнуты не были.

2.3. Методы исследования

2.3.1. Общие клинические методы обследования

Всем участникам исследования проводилось стандартное общеклиническое обследование, включающее сбор жалоб, анамнеза заболевания, включая документы из стационаров и амбулаторные (поликлинические карты), анамнеза жизни, физикальное обследование, антропометрические измерения (масса тела, рост, ОТ), расчет ИМТ как отношение массы тела (кг) к росту² (м), измерение офисного АД.

2.3.2. Комплекс лабораторных исследований

Всем участникам исследования проводился ОАК с определением уровня лейкоцитов, эритроцитов, тромбоцитов, гемоглобина, скорость оседания эритроцитов (СОЭ); биохимический анализ крови с определением общего белка, альбумина, уровня креатинина, мочевой кислоты, глюкозы, гликозилированного гемоглобина, общего холестерина, ЛПВП, ЛПНП, ЛПОНП, ТГ; и гормональный анализ крови с определением уровня тиреотропного гормона.

2.3.3. Электрокардиографическое исследование

Всем участникам исследования вне зависимости от группы выполнялось электрокардиографическое исследование на электрокардиографе «Shiller» (Австрия), Hewlett Packard, Page Writer 200, mod-M 1771 А. Анализировались частота сердечных сокращений (ЧСС) в покое, амплитуды зубцов P, R, интервалов PQ, QRS, QT, наличие нарушений ритма сердца, а так же проводимости сердца, изменения конечной части желудочкового комплекса, рассчитывался индекс Соколова–Лайона по стандартной формуле $SV1+RV5, V6 > 30-35$ мм.

2.3.4. Эхокардиографическое исследование

Всем участникам исследования все зависимости от группы проводилось ЭХО-КГ аппарате Vivid7 Dimension/Vivid 7 PRO версия 6.0.x, Германия, в М и В режимах и с доплеровском режиме. Для уточнения наличия или отсутствия ремоделирования миокарда анализировались следующие показатели: степень гипертрофии миокарда уточнялась по

толщине задней стенки ЛЖ (ТЗС ЛЖ, $N < 1,0$ см) и толщине межжелудочковой перегородки ЛЖ (ТМЖП, $N < 0,6-1,0$ см); наличие диастолической дисфункции уточнялась по показателям объема левого предсердия (ЛП, $N = 18-58$ мл для мужчин, $N = 22-52$ мл для женщин) и отношению между наполнением ЛЖ в диастолу (пик E) и систолу предсердий (пик A) (E/A, $N > 1$). Так же при ЭХО-КГ выявлялось наличие участков нарушений локальной сократимости ЛЖ, определялись конечно-систолический (КСО ЛЖ, $N = 33-68$ мл для мужчин, $N = 18-65$ мл для женщин) мл и конечно-диастолический (КДО ЛЖ, $N = 96 - 157$ мл для мужчин, $N = 59 - 138$ мл для женщин) мл объемы ЛЖ, вычислялась фракция выброса ЛЖ (ФВЛЖ, $N \geq 50\%$).

2.3.5. Суточное АД-мониторирование

СМАД проводилось при помощи монитора ВРLab (Россия), прошедший испытания точности по международному протоколу ESH-2001. Автоматическое измерение АД проводилось в течение суток, согласно заданной программе (стандартно каждые 15 минут днем и 30 минут ночью). После окончания мониторинга по полученным данным рассчитывались среднесуточные показатели САД и ДАД, средние значения САД и ДАД в дневное и ночное часы, вариабельность АД и пульса в течение суток.

2.3.6. Оценка функции эндотелия

Для определения функции эндотелия выполнялась фотоплетизмография на аппарате «Ангиоскан-01» (Россия), проводимая натошак. Перед исследованием пациент воздерживался от употребления чая, кофе, алкоголя, курения. Проводилась регистрация пульсовой волны в покое

и при проведении функциональной пробы с реактивной гиперемией. Оценивались структурные и функциональные показатели: индекс аугментации как отношение разности кровенаполнения периферических капилляров в поздней и средней систоле к амплитуде пульсовой волны (Alp , N для возраста 20-29 лет от -23,27 до 16,87, N для возраста 30-39 лет от -15,57 до 24,57, N для возраста 40-49 лет от -7,87 до 32,27, N для возраста 50-59 лет от -0,17 до 39,97, N для возраста 60-69 лет от 7,53 до 47,67, N для возраста 70-79 лет от 15,23 до 55,37, N для возраста 80-89 лет от 22,93 до 63,07) %, индекс аугментации в пересчете на пульс 75 ударов в минуту (Alp_{75})%. При проведении окклюзионной пробы, с помощью манжеты установленной на плече, анализировалась информация о состоянии эндотелиальной функции в области мелких резистивных артерий (системе микроциркуляции) и крупных артерий мышечного типа: индекс окклюзии по амплитуде определялся как прирост кровенаполнения капилляров руки с поправкой на изменение амплитуды сигнала в референсном канале (ИО, $N > 1.8$), сдвиг фаз между каналами как время отставания пульсовой волны на руке где проводится окклюзия (СФ, $N > 10$) мс.

Все исследования выполнялись в отделении кардиологии №1 и отделении функциональной диагностики университетской клинической больнице №1 ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И. М. Сеченова Министерства Здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет).

2.3.7. Дополнительные исследования

Кроме того, по необходимости или больным с сопутствующими заболеваниями проводились дополнительные обследования такие как, рентгенография органов грудной клетки; УЗИ магистральных артерий головы, УЗИ щитовидной железы, исследование функции внешнего дыхания.

2.3.8. Исследование метаболомного профиля

Для определения метаболомного профиля группы АГ и МС и контрольной группы проводился дополнительный забор крови из вены локтевого сгиба в пробирку с калиевой солью этилендиаминтетраацетата (ЭДТА) объемом 9 мл. Исключался прием всех витаминов, минералов, биологически активных добавок, аминокислот и, спортивных и энергетических напитков, карнитина, альфа-кетоглутарата, добавок, содержащих яблочную кислоту, соли лимонной кислоты, малеиновой, или любые соли оротовой кислоты. За 24 часа до дополнительного забора по возможности исключался прием пищи или питья любой продукции, содержащей сахарозаменители (аспарат, NutraSweet и т. д.) глутаматмононатрия. После дополнительного забора крови проводилось отделение плазмы при 2000 оборотов в минуту в течение 15 минут. Аликвоты хранились при температуре -80°C до транспортировки с сохранением холодового режима в лабораторию фармакокинетики и метаболомного анализа Института трансляционной медицины и биотехнологии Сеченовского Университета для проведения нецелевого метаболомного профилирование с использованием высокоэффективной жидкостной хроматографии в сочетании с масс-спектрометром высокого разрешения и целевого метаболомного анализа образцов с применением ВЭЖХ-МС/МС.

2.3.9. Нецелевое метаболомное профилирование

Панорамное нецелевое профилирование методом ГХ-МС выполнялось в лаборатории для обнаружения наиболее полного спектра метаболитов: органических кислот, аминокислот, углеводов.

Для получения метаболомного профиля образец после соответствующей подготовки анализировали на газовом хромато-масс-спектрометре Маэстро (Россия) с квадрупольным анализатором Agilent 5977 (США). Первичная информация об интенсивностях пиков, их времени удерживания и масс-спектральных характеристиках была получена после обработки хроматограмм при помощи программного обеспечения XCMS (Scripps, США). Проведена статистическая обработка массива данных с помощью программ Statistica 8,0 (Statsoft, Inc.); SIMCA 13,0 (Umetrics, Sweden) и Metaboanalyst 4.0 (Канада). Идентификация метаболитов проводилась при помощи библиотеки масс-спектральной информации GMD.

2.3.10. Целевое метаболомное профилирование.

Количественный целевой анализ значимых метаболитов выполнен методом ВЭЖХ-МС/МС. По разработанным методикам в пробах были измерены стероиды, водорастворимые витамины, аминокислоты, ацилкарнитины.

Для получения метаболомного профиля образец после специальной подготовки анализировали на газовом хромато-масс-спектрометре Маэстро (Россия) с квадрупольным анализатором Agilent 5977 (США). Метаболиты определялись с помощью Mass Chrome и Non Derivatized 57000 Kit (Chromsystems, Германия). Пять мкл аликвоты каждого образца плазмы смешивали с 50 мкл изотопно маркированного раствора внутренних стандартов (МКВС) в метаноле в микротитровальной пластине для осаждения белка. Раствор был изготовлен в соответствии с инструкциями по подготовке проб комплекта в метаноле. После 10 минут инкубации микротитровальная пластина центрифугировалась в течение 5 минут при 100xg. Впоследствии 40 мкл сверхнагнетателя было перенесено на микротитровальную пластину для анализа впрыска потока в сочетании с

тандемным масс-спектрометром. Анализ проводился в положительном режиме ионизации методом электрораспыления с помощью микросистемы Waters TQ—S, оснащенной источником ионизации электрораспылением (ESI) и соединенной с насосом Waters Acquity I UPLC (Waters Corp, Milford, USA). Идентификация и количественная оценка были достигнуты путем мониторинга множественных реакций. Анализ нагнетания потока проводили с использованием смеси из 50% воды ацетонитрила с добавлением муравьиной кислоты 0,1% при изократической скорости потока 200 мкл/мин. Масс-спектрометрия проводилась в следующих условиях: время выдержки 0,019-0,025 сек; капиллярное напряжение 2 кВ; в качестве среды столкновения использовался азот, температура источника при 150 °С. Этапы импорта и предварительной обработки данных для целевых МС-данных были выполнены с помощью программного обеспечения TargetLynx (Waters, MA, USA). Концентрации метаболитов рассчитывались в соответствии с интенсивностью сигнала аналитов и соответствующими внутренними стандартами.

Первичная информация об интенсивностях пиков, их времени удерживания и масс-спектральных характеристиках была получена после обработки хроматограмм при помощи программного обеспечения XCMS (Scripps, США). Идентификация метаболитов проводилась при помощи библиотеки масс-спектральной информации GMD. Все определение метаболомного профиля проводилось в лаборатории фармакокинетики и метаболомного анализа Института фармации и трансляционной медицины ФГАУО ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова (Сеченовский Университет).

2.3.11. Методы статистической обработки

Статистическая обработка данных проводилась с использованием компьютерных программ Statistica 10,0 и IBM SPSS. В описательной статистике с помощью критериев Колмогорова-Смирнова и Лиллиефорса, Шапиро – Уилка определялась нормальность/ненормальность распределения. При нормальном распределении использовался t-критерий Стьюдента для независимых выборок, данные представлялись в виде среднего значения \pm стандартное отклонение ($M \pm SD$). При ненормальном распределении использовался U-критерий Манна-Уитни, данные представлялись в виде медианы и значений 25 и 75-го перцентилей ($Me [Q1;Q3]$). Наличие статистической значимости различий считались при $p < 0,05$. Обработка массива данных метаболомного профиля проводилась с помощью программ Statistica 8,0 (Statsoft, Inc.); SIMCA 13,0 (Umetrics, Sweden) и Metaboanalyst 4.0 (Канада). Распределение переменных было проверено с помощью теста Шапиро-Вилка. Результаты так же обрабатывались при помощи программного обеспечения Statistica 8,0 (Statsoft, Inc.).

Глава 3 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1. Оценка функции эндотелия

По результатам оценки структурных и функциональных изменений эндотелия по показателям данных фотоплетизмографии ИО, СФ, Alp и Alp 75 проведен анализ с использованием t-критерия Стьюдента. Для контрольной группа ИО в среднем составлял $1,72 \pm 0,33$, для пациентов группы АГ и МС $1,43 \pm 0,36$ ($p > 0,05$), что свидетельствует о нарушении функции эндотелия на уровне мелких резистивных артерий и артериол (Рисунок 9).

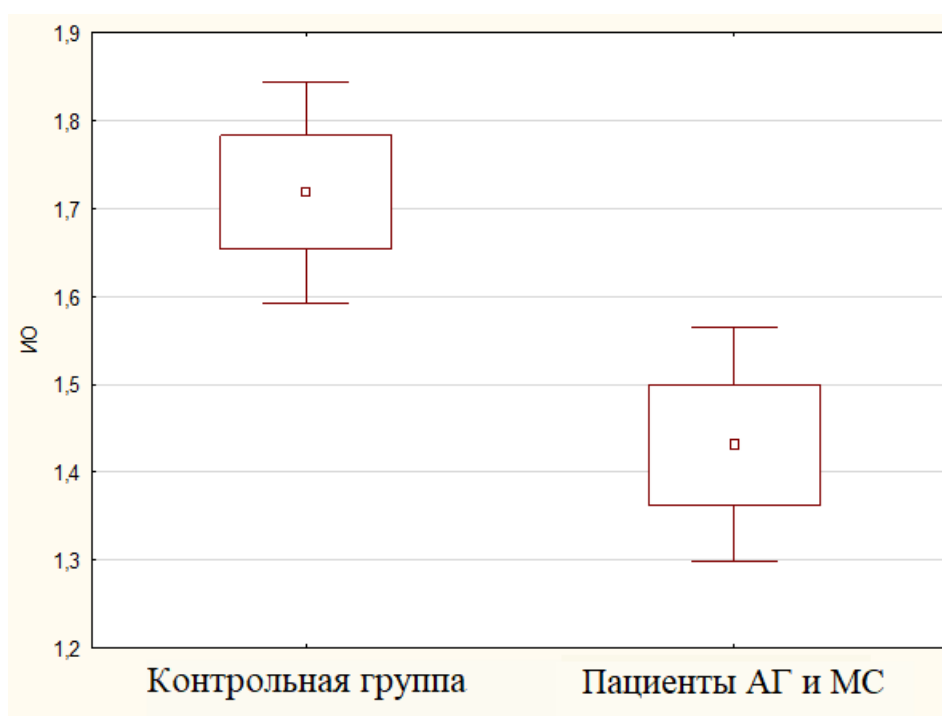


Рисунок 9 — Распределение ИО по исследуемым группам.

Несмотря на то, что отмечается статистически значимые различия по показателям ДЭ, среди участников контрольной группы отмечается снижение показателей функции эндотелия ниже нормальных показателей. Так же среди некоторых участников группы АГ и МС отмечаются

нормальные показатели функции эндотелия, что, вероятнее всего, обусловлено длительной терапией иАПФ.

При сравнении показателей Alp и $Alp75$ контрольной группы, которые составили в среднем $0,91 \pm 13,65$ и $1,53 \pm 12,67$ соответственно, с показателями в основной группе $Alp = 10,23 \pm 15,13$ и $Alp75 = 7,24 \pm 13,64$ выявлены значимые различия по показателям Alp ($p > 0,05$) и отсутствие различий по показателям $Alp75$ ($p < 0,05$) (Рисунки 10 и 11). Такие результаты свидетельствуют о повышенной жесткости артериальной стенки в группе пациентов с АГ и МС. Однако стоит отметить, что нормальные значения показателей Alp и $Alp75$ увеличиваются с возрастом, и данный показатель стоит рассматривать с осторожностью, так как пациенты основной группы с АГ и МС относятся к более старшей возрастной когорте.

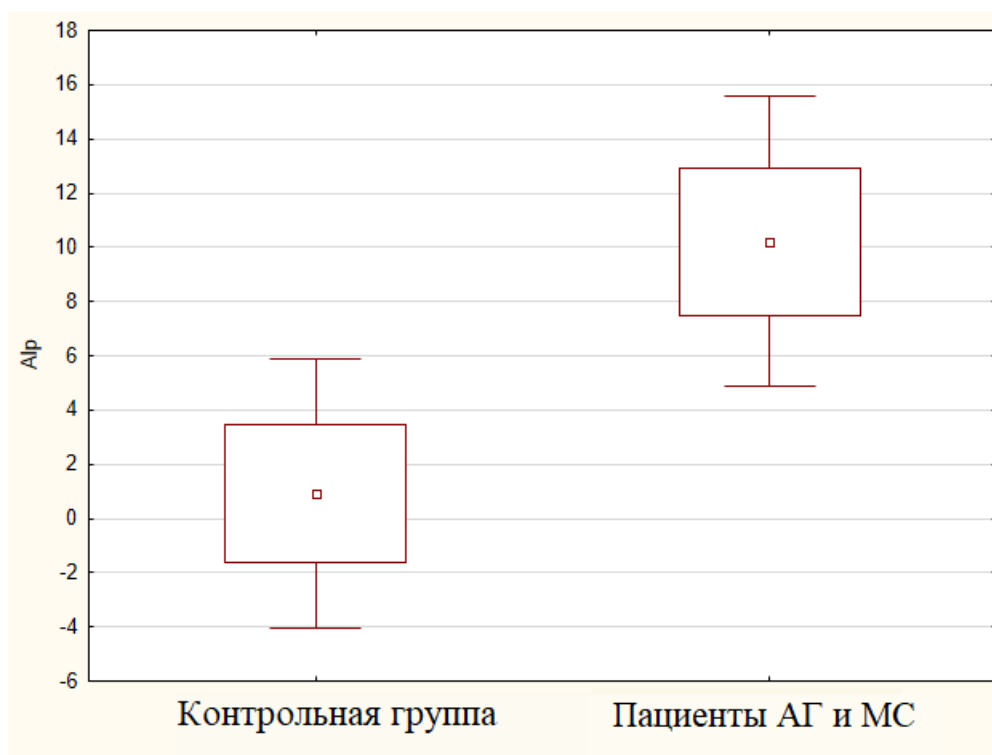


Рисунок 10 — Распределение показателей Alp по исследуемым группам.

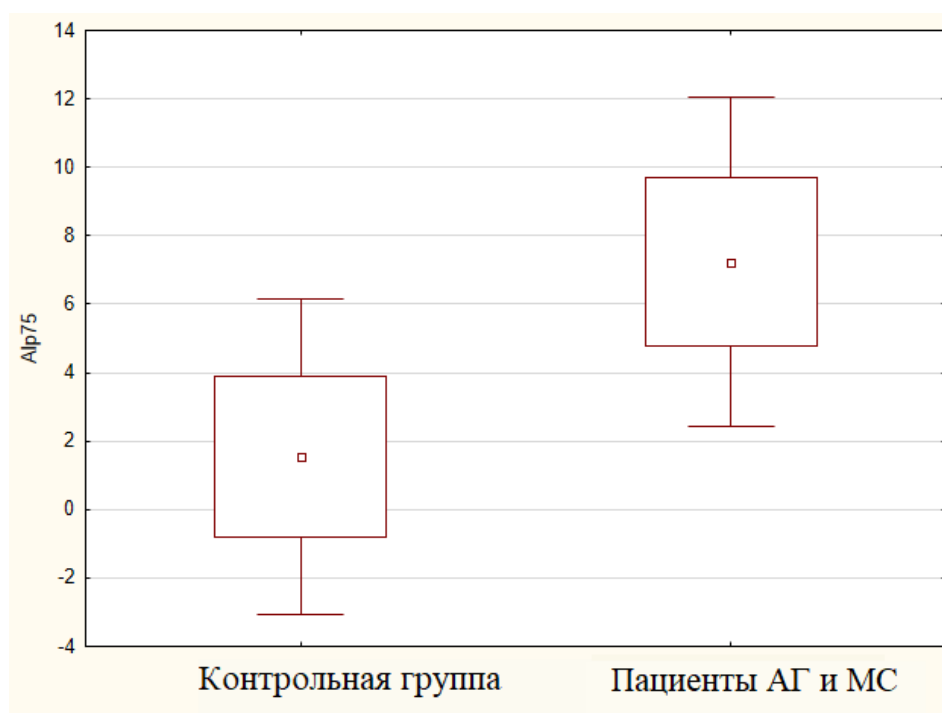


Рисунок 11 — Распределение показателей AIP75 по исследуемым группам.

При сравнении показателей СФ контрольной группы ($-2,41 \pm 7,35$) и основной группы ($-5,94 \pm 6,61$) так же значимых расхождений не выявлено ($p < 0,05$) (Рисунок 12). Таким образом, различий по функции эндотелия в крупных артериях не установлено.

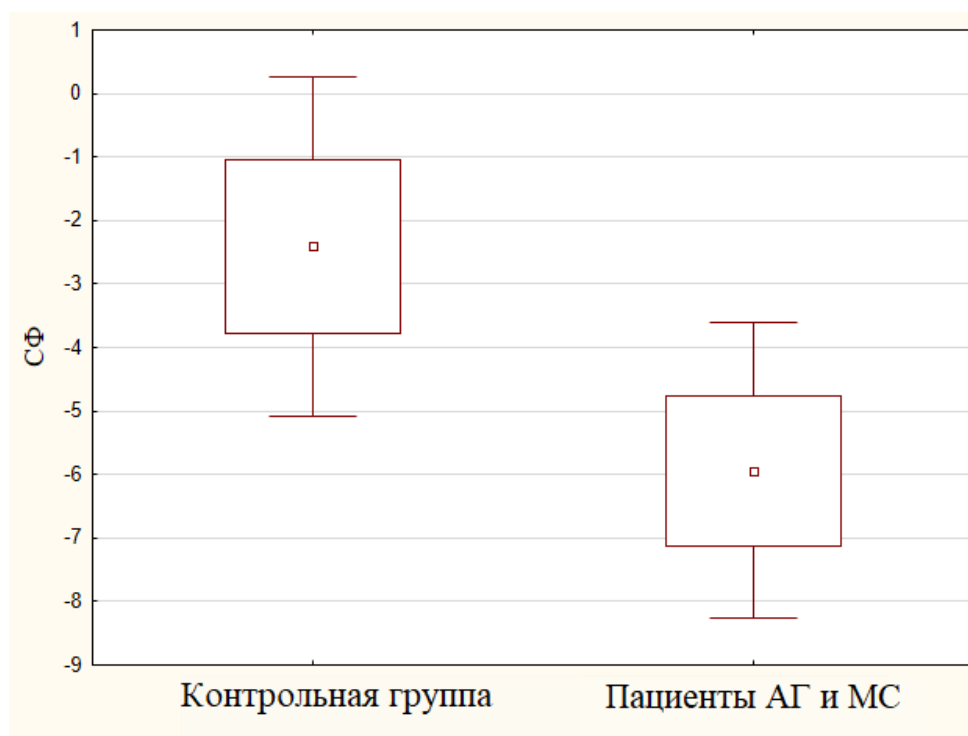


Рисунок 12 — Распределение показателей СФ в исследуемых группах.

3.2. Оценка нецелевого метаболомного профилирования

В исследовании было проведено метаболомное профилирование пациентов с АГ и МС ($n=27$) и контрольной группы ($n=17$) (Рисунок 13). При нецелевом метаболомном анализе исследовалось 1356 метаболитов, включая 593 известных химических соединений. Эти метаболиты принадлежали к классам веществ, связанных с аминокислотами ($n=150$), липидами ($n=250$), жирными кислотами ($n=100$), нуклеотидами ($n=15$), углеводами ($n=25$), кофакторами и витаминами ($n=30$).

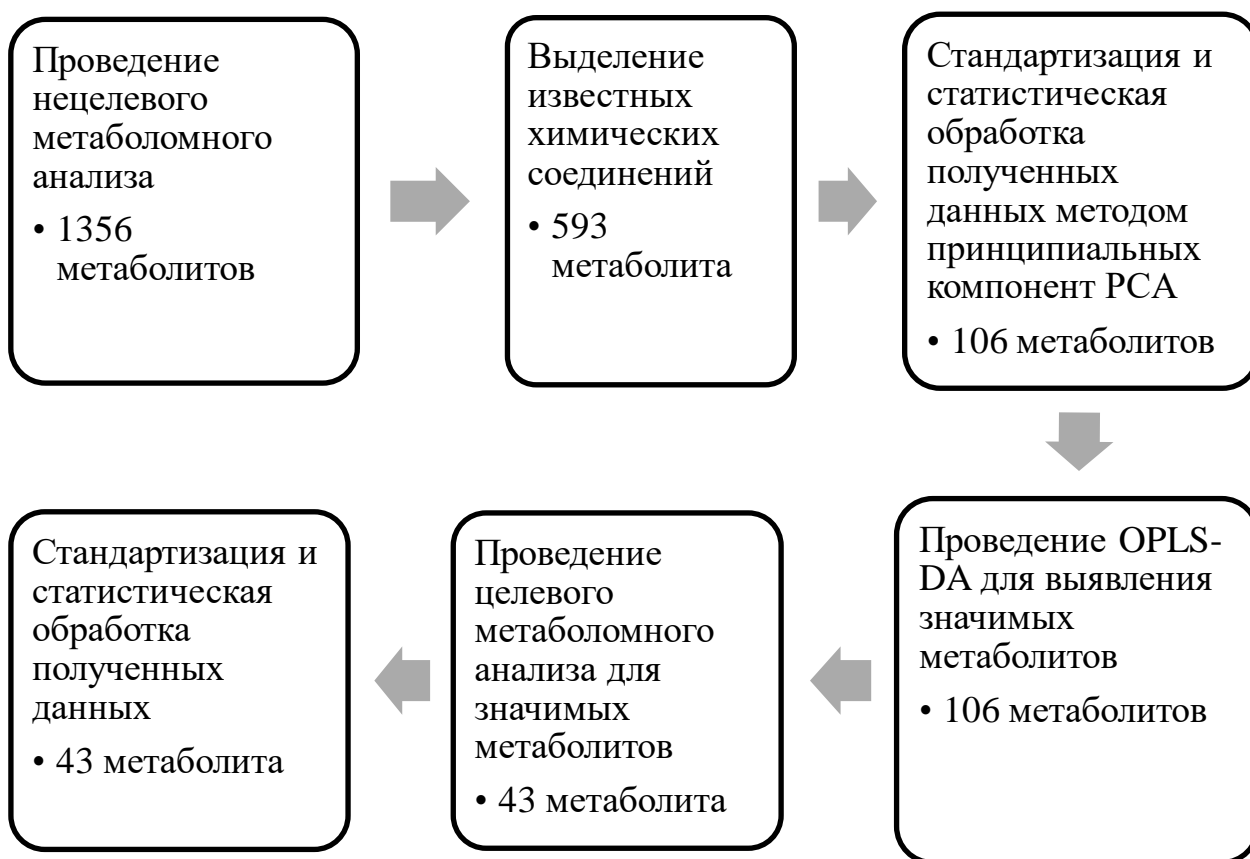


Рисунок 13 — Схема проведение метаболомного профилирования.

С использованием нецелевого подхода были идентифицировано более 1356 метаболитов. Идентификация метаболитов проводилась при помощи

библиотеки масс-спектральной информации Golm Metabolome Database (Германия) и базы данных HMDB, Обработанные данные были преобразованы в \log_2 для нормализации распределения, центрированы по медиане и масштабированы (Рисунок 14). Это позволило продолжить дальнейшую статистическую обработку данных, использовать метод главных компонент и проведение дискриминантного ортогонального анализа.

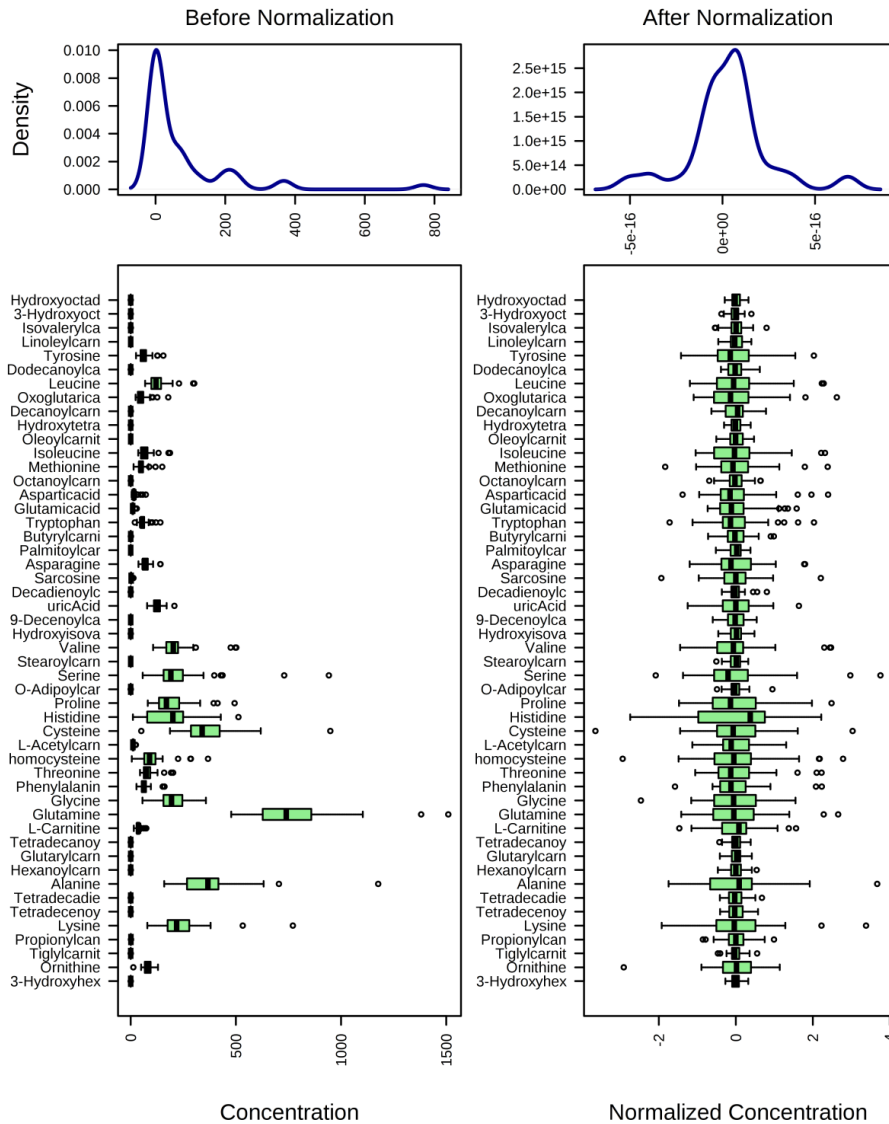
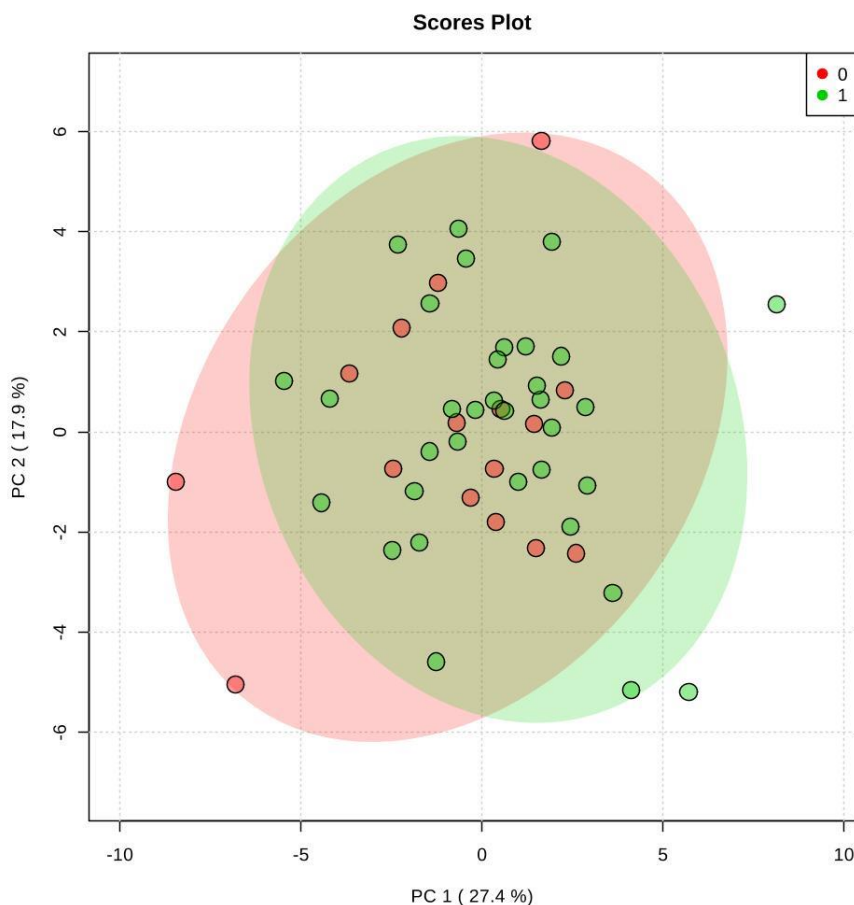


Рисунок 14 — Нормализация распределения и центрирование при помощи программы Metaboanalyst 4.0.

При использовании метода PCA образцов, сильно отличающихся по своим характеристикам от основных групп, не выявлено. Незначительные

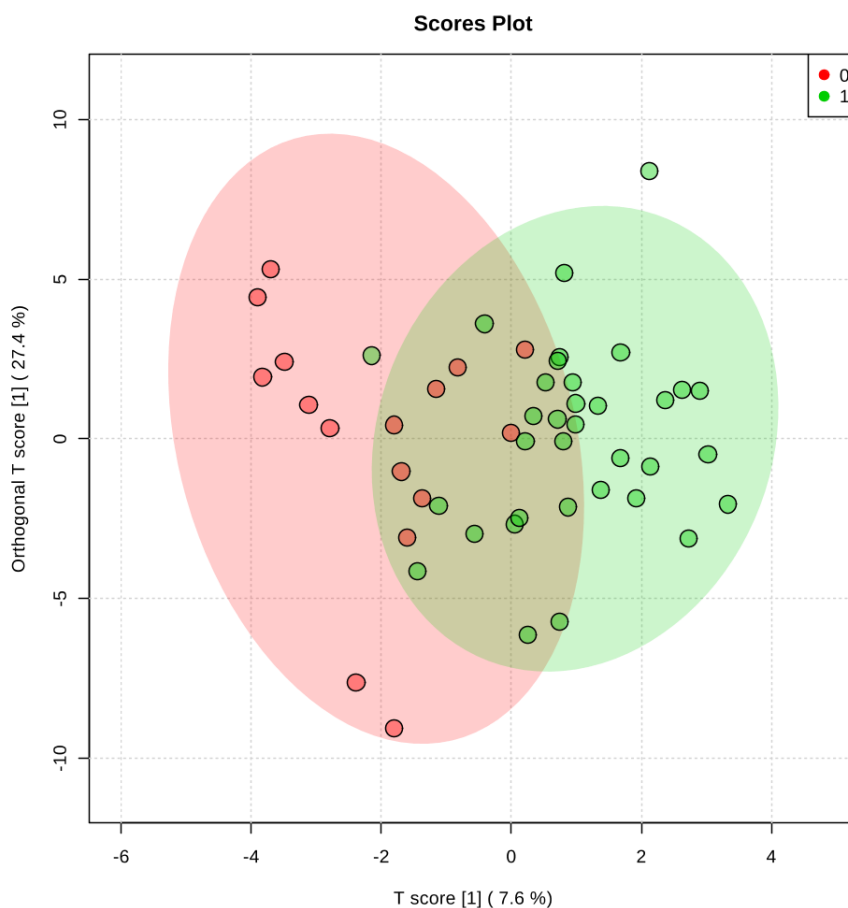
отличия, вероятнее всего, связаны с сопутствующей патологией конкретного пациента или принимаемыми им препаратами (Рисунок 15).



*«0» – контрольная группа, «1» - группа АГ и МС. Красная область показывает набор метаболитов, выявленных в группе пациентов с АГ и МС (n=27), зеленая область показывает набор метаболитов, выявленных в контрольной группе (n=17). Пересечение областей показывает возможность сравнения исследуемых групп для дальнейшего анализа.

Рисунок 15 — Распределение групп пациентов с помощью PCA.

При дальнейшем проведении дискриминантного ортогонального анализа (OPLS-DA) всех данных метаболитов удалось обнаружить компоненты, позволяющие разделить исследуемых на две группы, и продемонстрировать различия метаболомных профилей группы пациентов АГ и МС и контрольной группы, что так же позволила продолжить анализ исследуемых метаболитов (Рисунок 16). Из выявленных классов соединений преобладали аминокислоты, сахара, жирные кислоты.



*«0» – контрольная группа, «1» - группа АГ и МС. Красная область показывает набор метаболитов, выявленных в группе пациентов с АГ и МС (n=27), зеленая область показывает набор метаболитов, выявленных в контрольной группе (n=17). Расхождение областей показывает значимые метаболиты, различающиеся между исследуемыми группами. Пересечение областей показывает метаболиты, концентрации которых сопоставимы в обеих группах.

Рисунок 16 — Распределение групп пациентов с помощью OPLS-DA по группам.

3.3. Оценка целевого метаболомного профилирования

По результатам целевого метаболомного анализа были выявлены статистически значимые различия ($p < 0,05$) между метаболомными профилями значимых метаболитов групп пациентов с АГ и МС и контрольной группой по 11 соединениям: ацилкарнитинам, представленным в таблице 5, и аминокислотам, представленным в таблице 6. Статистически

значимых различий в других классах соединений из значимых метаболитов выявлено не было, что показано в таблице 7. Это, вероятнее всего, связано с тем, что в контрольной группе половина участников имела повышенный ИМТ, с другой стороны все пациенты группы АГ и МС находились на длительной лекарственной терапии. Было проведено сравнение вариабельности значения средних концентраций метаболитов по группам и составлена карта отношений средних значений концентрации метаболитов (Heatmap) (Рисунок 17).

Как видно из карты отношений, повышенная концентрация большинства выбранных метаболитов преобладает в группе АГ и МС. Однако стоит отметить, что в группе АГ и МС выявлены и образцы с пониженной концентрацией ряда метаболитов, что, вероятнее всего, было связано с приемом лекарственной терапии, которая скорректировала метаболомный профиль по данным метаболитам.

Таблица 5 — Концентрации значимых ацилкарнитинов в группе пациентов с АГ и МС и контрольной группе

	Условное обозначение	Класс	Группа АГ и МС	Контрольная группа	Статистическая значимость, p
			М ± SD	М ± SD	
-Ацетилкарнитин, мкм	C2	Short-chain	12,6116± 3,8193	9,6153± 3,71001	0,003276
Адепоилкарнитин, мкм	C6-DC	Medium-chain	0,0168 ± 0,0081	0,0184± 0,02330	0,210070
Бутирилкарнитин, мкм	C4	Short-chain	0,2504± 0,1387	0,1876± 0,08994	0,066974
Декадиенилкарнитин, мкм	C10:2	Medium-chain	0,0127± 0,0069	0,0157± 0,01430	0,828263
Деканоилкарнитин, мкм	C10	Medium-chain	0,2852± 0,1297	0,2303± 0,08383	0,228139
Декеноилкарнитин, мкм	C10:1	Medium-chain	0,2494± 0,0902	0,1827± 0,06201	0,023469
Додеканоилкарнитин, мкм	C12	Medium-chain	0,0771± 0,0340	0,0639± 0,02231	0,210070
Додекеноилкарнитин, мкм	C12:1	Medium-chain	0,0966± 0,0394	0,0650± 0,01934	0,003823
Глутарилкарнитин, мкм	C5-DC	Short-chain	0,0284± 0,0101	0,0221± 0,00768	0,063460
Гексадекадиеноилкарнитин, мкм	C16:2	Long-chain	0,0676± 0,0213	0,0544± 0,02052	0,035995
Гексаноилкарнитин, мкм	C6	Medium-chain	0,0638± 0,0216	0,0429± 0,01344	0,000880
3-гидрокси-9-гексадекеноилкарнитин, мкм	C10	Medium-chain	0,0068± 0,0026	0,0054± 0,00176	0,070646
3-Гидроксигексадекадиеноилкарнитин, мкм	C14-OH	Long-chain	0,0034± 0,0016	0,0027± 0,00082	0,148121

Продолжение таблицы 5

	Условное обозначение	Класс	Группа АГ и МС	Контрольная группа	Статистическая значимость, р
			М ± SD	М ± SD	
3-Гидроксигексадеканойлкарнитин, мкм	C16-OH	Long-chain	0,0030± 0,0013	0,0023± 0,0007	0,0784
2-Гидроксиизовалеройлкарнитин, мкм	C5-OH-I	Short-chain	0,0298± 0,0131	0,0241± 0,0108	0,2189
2-Гидроксимиристоилкарнитин, мкм	C21	Long-chain	0,0060± 0,0028	0,0041± 0,0015	0,0234
Изовалеройлкарнитин, мкм	C5-I	Short-chain	0,1389± 0,0604	0,1056± 0,0487	0,1012
L-Октаноилкарнитин, мкм	C8	Medium-chain	0,2064± 0,0766	0,1648± 0,0509	0,0784
2-Октеноилкарнитин, мкм	C8	Medium-chain	0,0485± 0,0187	0,0388± 0,0158	0,0634
Олеойлкарнитин, мкм	C18:1	Long-chain	0,1128± 0,0294	0,0981± 0,0297	0,1171
L-Палмитоилкарнитин, мкм	C16	Long-chain	0,1014± 0,0230	0,0893± 0,0181	0,0826
Пропионилкарнитин, мкм	C3	Short-chain	0,5255± 0,1930	0,4390± 0,2763	0,0282
3,5-Тетрадекадиенкарнитин, мкм	C14:2	Long-chain	0,0479± 0,0227	0,0347± 0,0125	0,0359
Тетрадеканойлкарнитин, мкм	C14	Long-chain	0,0258± 0,0075	0,0219± 0,0083	0,0915

Short-chain- Аминокислота с короткой цепью, Medium-chain – аминокислота со средней цепью, Long-chain – аминокислота с длинной цепью. Статистическая значимость различий оценивалась с использованием t-критерия Стьюдента

Таблица 6 — Концентрации значимых аминокислот в группе пациентов с АГ и МС и контрольной группе

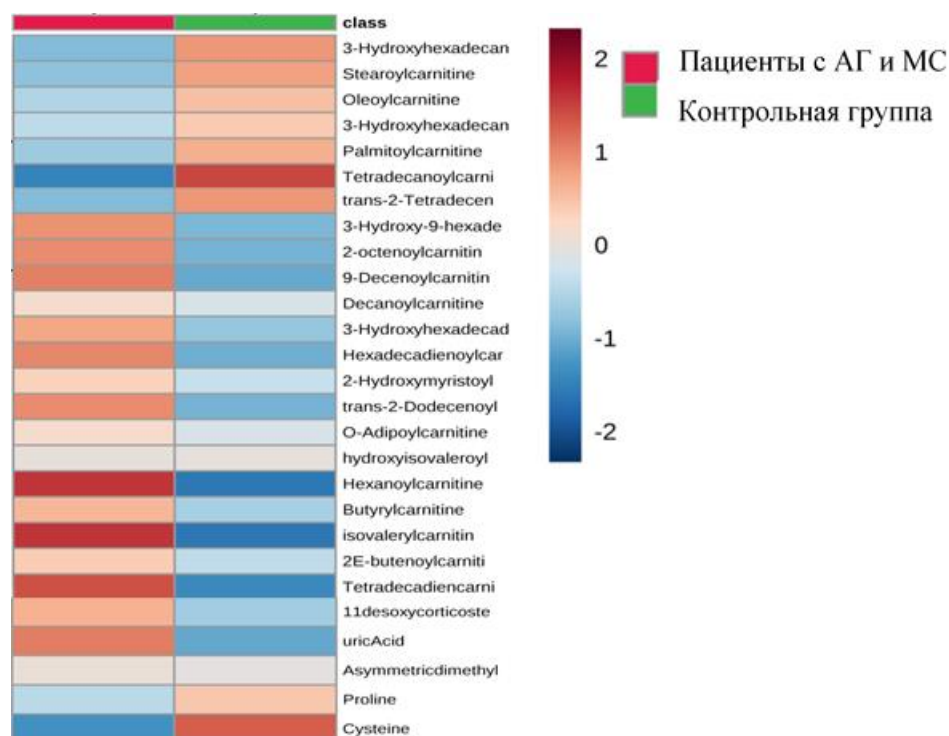
	Группа АГ и МС	Контрольная группа	Статистическая значимость, р
	М ± SD	М ± SD	
Аланин, мкм	396,8747± 198,3453	314,8754± 82,3751	0,2014
АДМА, мкм	0,0031± 0,0006	0,0028± 0,0004	0,0441
Аспарагин, мкм	69,8317± 25,2436	65,9007± 13,0234	0,5629
Валин, мкм	215,3972± 88,9507	201,2833± 85,0673	0,3349
Изолейцин, мкм	69,8089± 32,1196	64,3410± 32,0925	0,3597
Лейцин, мкм	128,4460± 57,6784	116,3188± 36,2081	0,6469
Пролин, мкм	197,4248± 95,5252	158,6893± 48,4605	0,2780
Серин, мкм	268,6424± 184,2927	172,3568± 68,0033	0,0092
Тирозин, мкм	67,5184± 31,0518	56,4436± 16,8883	0,6127
Треонин, мкм	81,7610± 32,9520	74,7754± 35,4688	0,2999
Холин, мкм	12,6450± 3,2331	10,3317± 1,6503	0,0193
Цистеин, мкм	374,9919± 143,5923	306,1453± 97,3545	0,0601

р — статистическая значимость различий оценена с использованием критерия Ньюмана-Кейлса

Таблица 7 Концентрации других классов соединений из значимых метаболитов в группе пациентов с АГ и МС и контрольной группе

	Группа АГ и МС	Контрольная группа	Статистическая значимость,
	М ± SD	М ± SD	
11 дезоксикортикостерон, мкм	0,4905 0,3493	0,7794 0,7318	0,1200
Глутаминовая кислота, мкм	10,9186 5,3573	10,5911 5,3926	0,5151
Перидоксильфосфат, мкм	0,1826 0,3499	0,0470 0,0329	0,0848

р — Статистическая значимость различий оценена с использованием критерия Ньюмана-Кейлса



*«Healthy» – контрольная группа, «ETD» - основная группа МС. Красным цветом обозначено увеличение концентрации метаболита в выделенной группе. Синим обозначено уменьшение концентрации соответственно. Интенсивность цвета отражает степень различия концентраций метаболита между собой.

Рисунок 17 — Карта отношений средних значений концентрации метаболитов между группами пациентов АГ и контрольной группой.

3.4. Анализ взаимосвязи метаболомного профиля пациентов группы АГ и МС с показателями ДЭ

Далее был проведен корреляционный анализ взаимосвязей показателей функции эндотелия, различающихся между исследуемыми группами с метаболомным профилем, полученным при целевом профилировании. Корреляционный анализ показал взаимосвязь ряда аминокислот и ацилкарнитинов с показателями функции эндотелия (таблица 8).

Таблица 8 — Корреляционный анализ показателей ДЭ у пациентов группы АГ и МС с метаболомным профилем, полученным при целевом метаболомном анализе. Приведены только статистически значимо различающиеся метаболиты

Метаболиты	Показатели функции эндотелия	
	АІр	ІО
Валин	r = - 0,419478 p<0,05	r = - 0,062159 p>0,05
Лейцин	r = - 0,426500 p < 0,05	r = - 0,026702 p>0,05
Изолейцин	r = - 0,412151 p<0,05	r = 0,075292 p>0,05
Цистеин	r = - 0,041527 p>0,05	r = - 0,474075 p<0,05
Тирозин	r = - 0,381011 p<0,05	r = - 0,010944 p>0,05
Бутеноилкарнитин	r = - 0,393222 p<0,05	r = 0,038521 p>0,05
Глутарилкарнитин	r = - 0,399939 p<0,05	r = - 0,123006 p>0,05
Адипоилкарнитин	r = -0,058006 p>0,05	r = - 0,436429 p<0,05
Додеканоилкарнитин С12	r = - 0,403603 p<0,05	r = - 0,278404 p>0,05
Додеканоилкарнитин С12:1	r = - 0,221340 p>0,05	r = - 0,417169 p<0,05
3-Гидроксигексадекадиеноилкарнитин	r = - 0,116623 p>0,05	r = - 0,512159 p<0,05

* р — Статистическая значимость различий оценена с использованием критерия Ньюмана-Кейлса, r - степень зависимости двух переменных с использованием коэффициента корреляции Пирсона.

Наиболее сильная взаимосвязь выявлена между уровнями цистеина (r=-0,4740, p<0,05) и 3-гидроксигексадекадиеноилкарнитина (r=-0,5121, p<0,05) с показателем ІО (Рисунок 18).

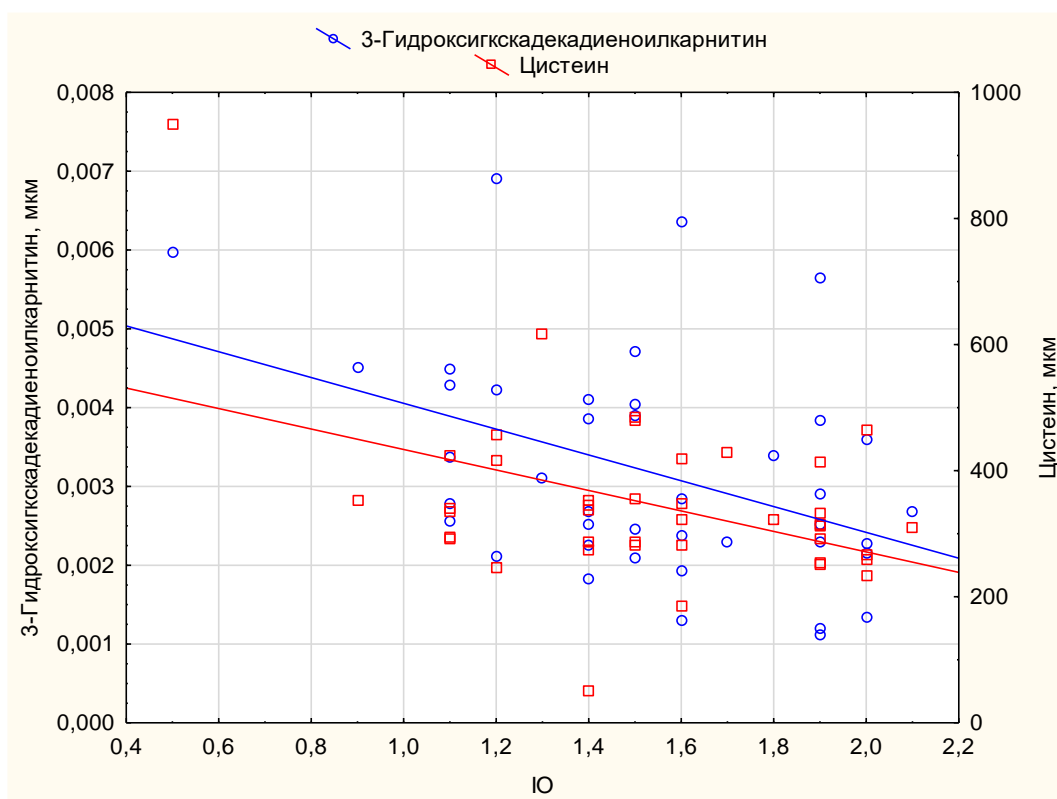


Рисунок 18 — Диаграмма рассеяния уровней цистеина и 3-гидроксигексадекадиеноилкарнитина и их взаимосвязь с показателем Ю.

Так же, наблюдалась обратная корреляционная взаимосвязь показателей Alp с додеканоилкарнитином C12 ($r = -0,4036$, $p < 0,05$) на рисунке 19.

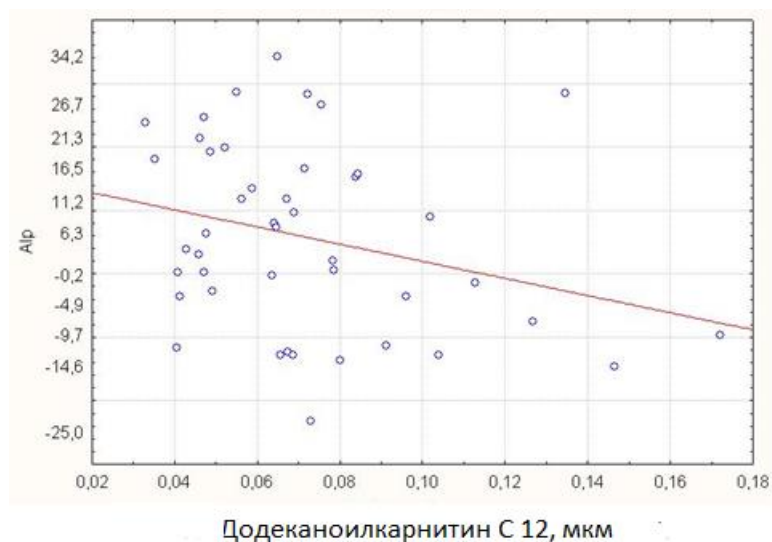


Рисунок 19 — Взаимосвязь показателя Alp с уровнем додеканоилкарнитина C 12.

3.5. Анализ взаимосвязи метаболомного профиля пациентов группы АГ и МС с клинико-лабораторными показателями

Проводился корреляционный анализ, представленный в таблице 9, клинико-лабораторных показателей пациентов с АГ и МС с наиболее значимыми метаболитами, взаимосвязанными с показателями функции эндотелия. Выявлена наиболее сильная взаимосвязь уровней лейцина и изолейцина с ТЗС ЛЖ ($r = 0,4930$ и $r = 0,4907$, соответственно, $p < 0,05$, Рисунок 20).

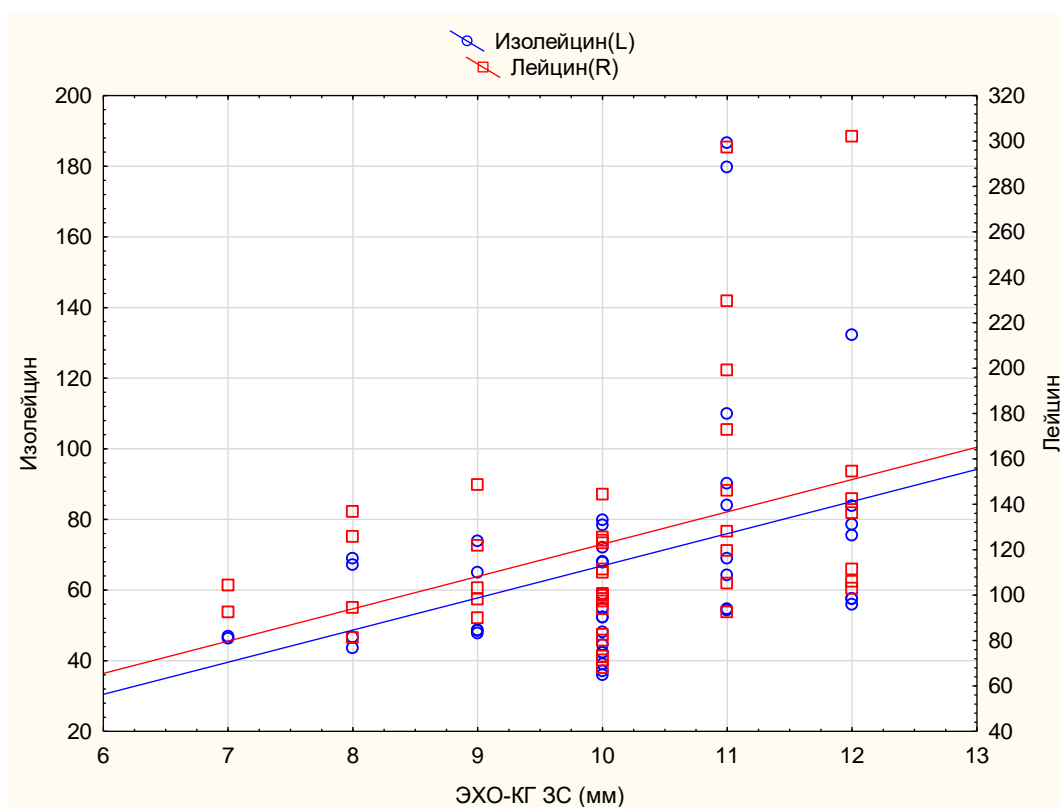


Рисунок 20 — Диаграмма рассеяния уровней лейцина и изолейцина и их взаимосвязь с ТЗС ЛЖ.

Так же была установлена положительная прямая корреляция уровней лейцина и валина с уровнями ТГ ($r=0,3050$ и $r= 0,3404$ соответственно, $p < 0,05$, рисунок 21)

Таблица 9 — Корреляционный анализ показателей МС и поражения органов – мишеней при АГ с уровнем метаболитов, ассоциированных с ДЭ. Приведены только статистически значимо различающиеся метаболиты

Метаболиты	Показатели							
	ОТ, см	ЭХО-КГ ЗС, мм	ЭХО-КГ МЖП, мм	ЭХО-КГ Е/А	Глюкоза, ммоль/л	ЛПНП, ммоль/л	ТГ, ммоль/л	ЛПВП (ммоль/л)
Валин	r = 0,3428 p<0,05	r = 0,3922 p<0,05	r = 0,4038 p<0,05	r = - 0,2715 p>0,05	r = 0,3476 p<0,05	r = - 0,0337 p>0,05	r = 0,3404 p<0,05	r = - 0,1652 p>0,05
Лейцин	r = 0,3197 p<0,05	r = 0,4235 p<0,05	r = 0,4102 p<0,05	r = - 0,2045 p>0,05	r = 0,2993 p<0,05	r = - 0,1872 p>0,05	r = 0,3050 p<0,05	r = - 0,1740 p>0,05
Изолейцин	r = 0,3576 p<0,05	r = 0,4930 p<0,05	r = 0,4907 p<0,05	r = - 0,2460 p>0,05	r = 0,3267 p<0,05	r = - 0,1390 p>0,05	r = 0,2741 p>0,05	r = - 0,1247 p>0,05
Цистеин	r = 0,2584 p>0,05	r = 0,3394 p<0,05	r = 0,3137 p<0,05	r = - 0,2669 p>0,05	r = 0,3149 p<0,05	r = - 0,0814 p>0,05	r = 0,1153 p>0,05	r = - 0,1120 p>0,05
Тирозин	r = 0,2245 p>0,05	r = 0,2681 p>0,05	r = 0,2703 p>0,05	r = - 0,3645 p<0,05	r = 0,3603 p<0,05	r = - 0,2576 p>0,05	r = 0,1696 p>0,05	r = - 0,1117 p>0,05
Глутарилкарнитин	r = 0,3215 p<0,05	r = 0,3409 p<0,05	r = 0,2782 p>0,05	r = - 0,3598 p<0,05	r = 0,1296 p>0,05	r = - 0,1346 p>0,05	r = 0,0466 p>0,05	r = - 0,3572 p<0,05
Додеканойлкарнитин C12:1	r = 0,3218 p<0,05	r = 0,2087 p>0,05	r = 0,1573 p>0,05	r = - 0,2768 p>0,05	r = 0,2688 p>0,05	r = 0,0125 p>0,05	r = 0,1119 p>0,05	r = - 0,2066 p>0,05

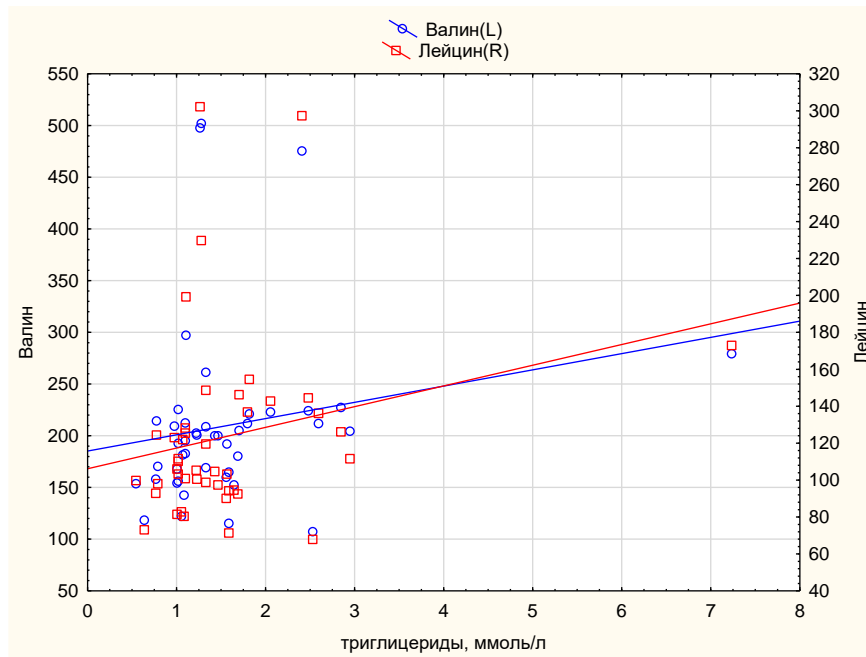


Рисунок 21 — Диаграмма рассеяния уровней лейцина и валина и их взаимосвязь с уровнем ТГ.

Зафиксирована отрицательная корреляционная связь уровней тирозина и глутарилкарнитина с показателем диастолической функцией ЛЖ ($r = -0,3645$ и $r = -0,3598$ соответственно, $p < 0,05$, рисунок 22).

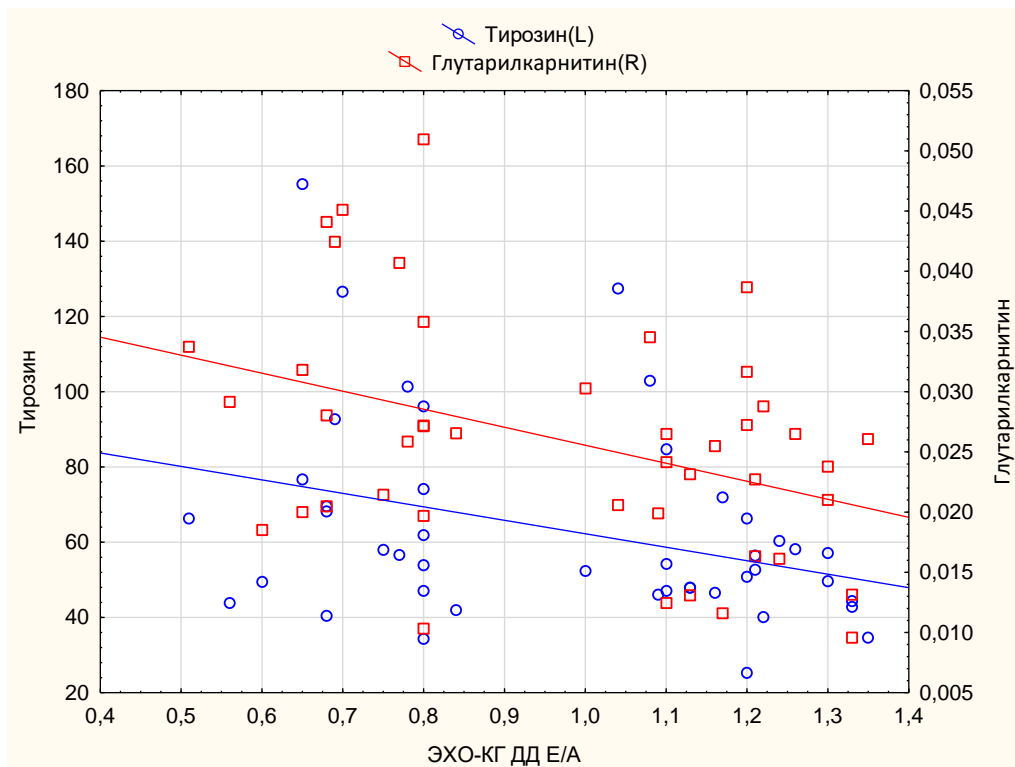


Рисунок 22 — Взаимосвязь уровней тирозина и глутарилкарнитина с показателем диастолической функцией ЛЖ E/A.

Наиболее сильная положительная корреляционная взаимосвязь обнаружена между ОТ и уровнями ВСАА - изолейцином и валином ($r = 0,3050$ и $r = 0,3576$ соответственно, $p < 0,05$, рисунок 23).

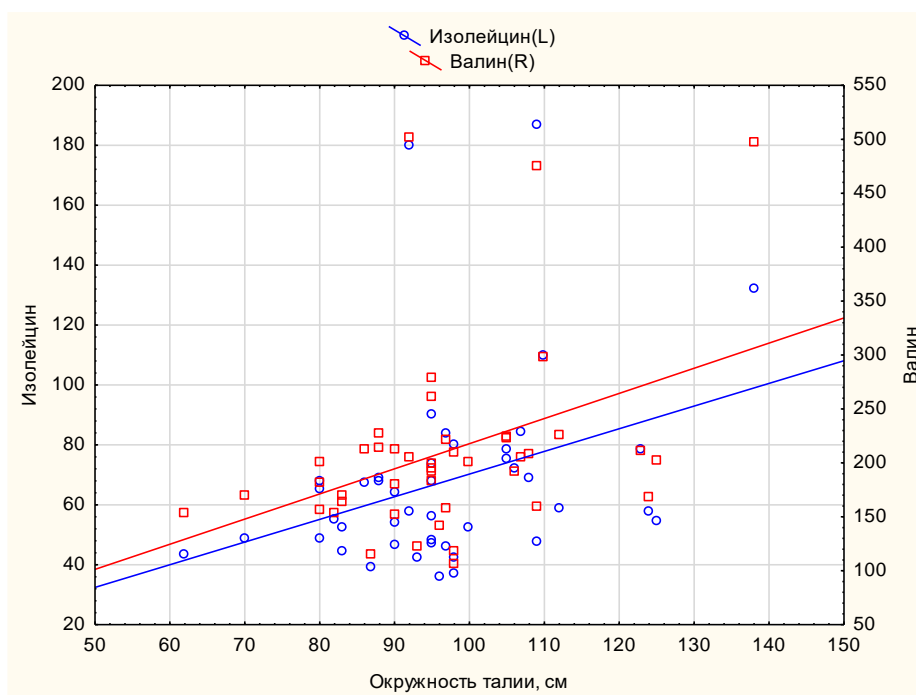


Рисунок 23 — Диаграмма рассеяния уровней изолейцина и валина и их взаимосвязь с ОТ.

Единственная корреляционная взаимосвязь уровня ЛПВП установлена с уровнем глутарилкарнитинов ($r = - 0,3572$, $p < 0,05$, рисунок 24).

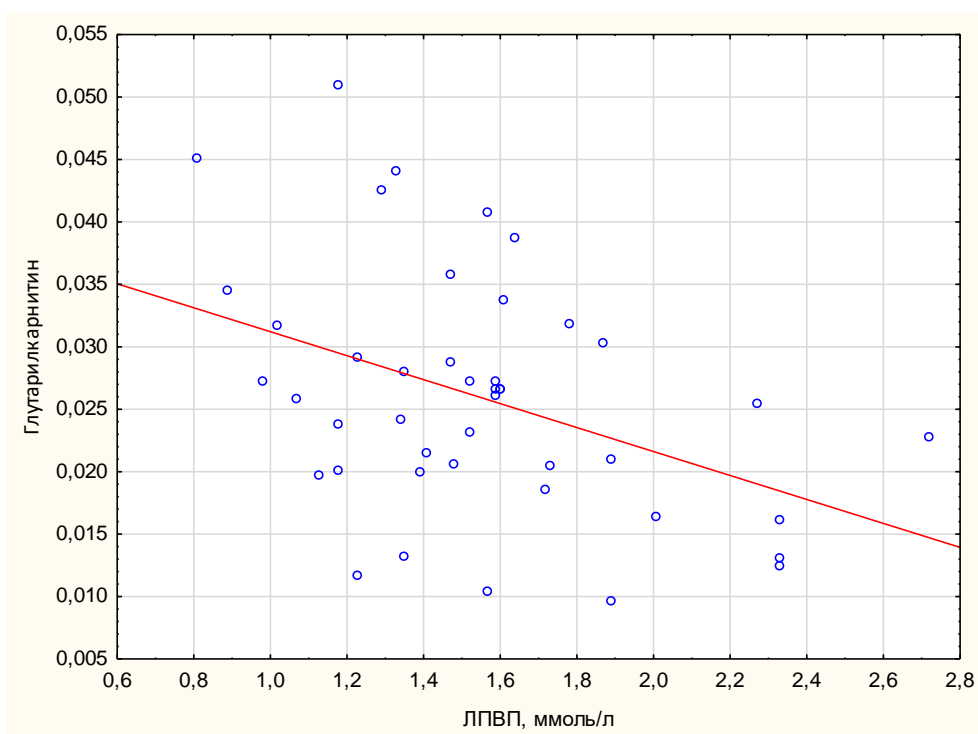


Рисунок 24 — Взаимосвязь уровня глутарилкарнитина с уровнем ЛПВП.

Стоит отметить, что не было обнаружено значимых ассоциаций уровней ЛПНП ни с одним из уровней метаболитов.

Таким образом, наиболее значимыми метаболитами в полученном метаболомном профиле пациентов с АГ и МС оказались группа ацилкарнитинов в основном с короткой и средней цепью. Была продемонстрирована их тесная взаимосвязь с ДЭ у пациентов с АГ и МС, а так же со степенью ожирения и поражением сердца при АГ (гипертрофией стенок ЛЖ и нарушением диастолической функцией ЛЖ). Выявлена сильная корреляционная связь 3-гидроксигексадекадиеноилкарнитина, как единственного представителя длинноцепочечных ацилкарнитинов, с нарушением функции эндотелия в артериях малого калибра. Продемонстрирована взаимосвязь уровней аминокислот с разветвленными боковыми цепями (валин, лейцин, изолейцин) с показателями жесткости сосудистого русла у пациентов с ожирением, гипергликемией и ремоделированием сердца при АГ. Установлена взаимосвязь уровней тирозина и цистеина со степенью гипертрофии миокарда, снижением диастолической функции ЛЖ и уровнем гликемии (Рисунок 25)

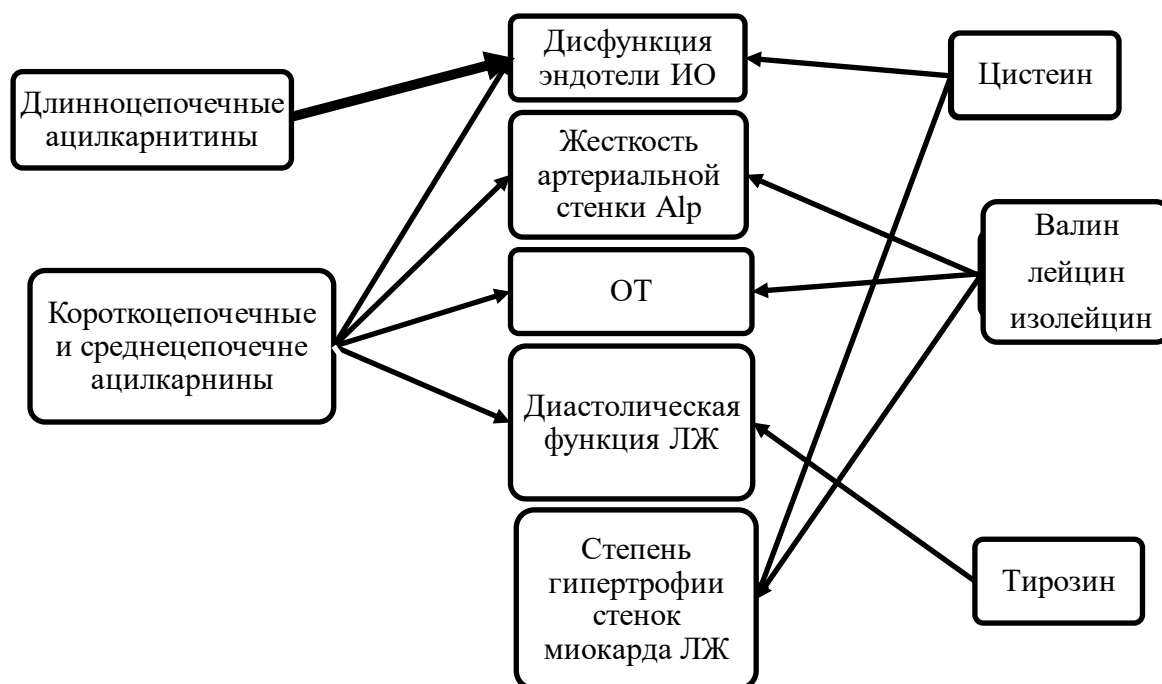


Рисунок 25 — Схема взаимосвязей значимых метаболитов с показателями ДЭ, компонентами МС и параметрами поражения сердца при АГ.

Клинический пример

Больной И. 41 года, наблюдается в отделение кардиологии №1 университетской клинической больницы №1 в течение 2х лет. Впервые обратился с жалобами на повышение АД максимально до 160/100 мм рт.ст., сопровождающиеся головной болью, общей слабостью.

История заболевания. Впервые повышение АД стал отмечать с 2016 года на фоне эмоционального напряжения, однако не обследовался, постоянной терапии не получал. В мае 2018 году отметил ухудшение самочувствия, когда стал отмечать ежедневные эпизоды повышения АД, стал беспокоить шум в ушах. Обратился на консультацию к кардиологу, был госпитализирован в отделение кардиологии № 1 для обследования и подбора терапии.

При осмотре: Гиперстенического телосложения, рост 178 см, вес 94 кг. ИМТ 29,67. ОТ 98 см. Температура тела 36,60С. Перкуторно расширена левая граница сердца. Тоны сердца приглушены, шумов нет. Ритм правильный с ЧСС 88 в мин. АД 165/90 мм рт.ст.

По результатам проведенного обследования: В биохимическом анализе крови обращало на себя внимание гипергликемия (глюкозе - 8,0 ммоль/л), гиперурикемия (мочевая кислота – 533 мкмоль/л), а так же нарушение липидного спектра - ТГ 7,24 ммоль/л, ЛПОНП 3,29 ммоль/л, ЛПНП 2,88 ммоль/л, ЛПВП 0,89 ммоль/л. При эхокардиографии выявлено незначительное увеличение толщины миокарда стенок ЛЖ до 1,1 см, а так же незначительное уплотнение стенок аорты. Стоит отметить, что диастолическая функция была не нарушена. При СМАД без терапии выявлена стойкая систоло-диастолическая гипертония в течение суток: среднее дневное САД 148 мм.рт.ст., среднее дневное ДАД 107 мм.рт.ст., индекс САД 89%, индекс ДАД 100%, среднее ночное САД 133 мм.рт.ст., среднее ночное ДАД 95 мм.рт.ст., индекс САД 92%, индекс ДАД 100%. Был так же отмечен максимальный подъем АД до 200/115 мм.рт.ст. на фоне физической нагрузки. Далее пациенту была пальцевая фотоплетизмография, которая показала нарушение функции эндотелия на уровне крупных сосудов и микроциркуляторного русла: Alp -12,9%, $Alp75$ - 13,3%; ИМ 1,2; СФ 5,6 м/с. В качестве дополнительного обследования пациенту проведено исследование концентраций сывороточных метаболитов с помощью метаболомного анализа, представленных в таблице 10.

Таблица 10 — Концентрация некоторых метаболитов в крови у больного

Метаболиты	Концентрация метаболитов больного	Средняя концентрация метаболитов группе пациентов с АГ и МС	Средняя концентрация метаболитов в контрольной группе
3- Гидроксигексадеканойлкарнитин, мкм	0,0059	0,0030	0,0023
АДМА, мкм	0,0030	0,0031	0,0028
Холин, мкм	16,519	12,6450	10,3317
Пропионалкарнитин, мкм	0,6530	0,5255	0,4390
L-ацетилкарнитин, мкм	13,8337	12,6116	9,6153
Гексаноилкарнитин, мкм	0,0777	0,0638	0,0429
Октаноилкарнитин, мкм	0,2884	0,2064	0,1648
Деканоилкарнитин, мкм	0,4119	0,2852	0,2303
Тетрадекадиенкарнитин, мкм	0,06229	0,0258	0,0219
Олеоилкарнитин, мкм	0,1269	0,1128	0,0981
Валин, мкм	278,8130	215,3972	201,2833
Лейцин, мкм	172,8360	128,4460	116,3188
Изолейцин, мкм	90,0907	69,8089	64,3410
Трионин, мкм	107,7760	81,7610	74,7754
Серин, мкм	264,6480	268,6424	172,3568
Цистеин, мкм	457,4820	374,9919	306,1453

Диагноз: Гипертоническая болезнь 3 ст, 2 ст, риск ССО 3. Сопутствующее заболевание: Дислипидемия IV типа. Атеросклероз аорты. Гиперурикемия.

Заключение: представленное клиническое наблюдение пациентв демонстрирует применение метаболомного анализа на практике. Следует отметить, что большинство метаболитов пациента превышают средние концентрации у пациентов с АГ и МС. Таким образом, данного пациента стоит рассматривать в группе больных с очень высоким риском развития сердечно-сосудистых осложнений, и подходить к назначению терапии и достигаемых целевых уровней холестирина именно с данной позиции.

ОБСУЖДЕНИЕ

С развитием персонализированной медицины большое внимание уделяется пониманию механизмов возникновения ССЗ и индивидуальному подходу к диагностике и лечению, в связи с чем метаболомика занимает особое место. Метаболомные исследования становятся все более актуальными, так как помогают найти новые биомаркеры возникновения и прогрессирования сердечно-сосудистой патологии на самых ранних этапах развития заболевания.

При сравнении метаболомных профилей пациентов с АГ и МС по сравнению со здоровыми добровольцами выявлены различия по группе коротко-, средне- и длинно- цепочечных ацилкарнитинов, АДМА, серину и холину.

Одним из наиболее изученных метаболитов, которые в нашем исследовании значимо различались между группами является АДМА. Это метаболический побочный продукт процессов непрерывной модификации белка в цитоплазме всех клеток человека. Он тесно связан с L-аргинином, условно незаменимой аминокислотой. АДМА ингибируя активность NOS, влияет на L-аргинин в производстве NO, ключевого химического вещества для эндотелия и, следовательно, сердечно-сосудистой системы [89]. Метильные группы, перенесенные для создания АДМА, происходят от донора метильной группы S-аденозилметионина, промежуточного соединения в метаболизме гомоцистеина, который уже давно показал себя как один из факторов риска развития и прогрессирования ССЗ, и, следовательно, маркером ССЗ [90].

Аналогичные данные получены в отношении холина. Он является важным предшественником ацетилхолина, а также является донором метильной группы в различных метаболических процессах и в липидном

обмене. Холин считается условно заменимой аминокислотой. Несмотря на то, что он может синтезироваться в небольшом количестве путем преобразования фосфатидилэтаноламина в фосфатидилхолин, достаточное его количество поступает только с пищей. Большая часть холина содержится в фосфолипидах - в фосфатидилхолине или лецитине. Холин участвует в процессе превращения гомоцистеина в метионин с образованием бетаина. В нашем исследовании выявлен статистически значимо более высокий уровень холина в группе пациентов с АГ и МС по сравнению с контрольной группой. Такие данные, вероятнее всего, свидетельствуют о нарушении в пути обмена метионина. Наши данные подтверждают исследование Schartum-Hansen H. с соавторами в 2014 году. Schartum-Hansen H проанализировал метаболомный профиль 2568 пациентов, которые поступали в клинику для ангиографии [91]. В исследовании было продемонстрировано, что повышенные концентрации холина в плазме крови ассоциированы с метаболическими нарушениями и ИБС. Однако, стоит отметить, что в нашем исследовании принимали участие пациенты на более ранней стадии развития ССЗ, и, следовательно, полученные нами данные свидетельствуют о нарушениях пути обмена метионина и повышении уровня холина уже на ранних стадиях развития сердечно-сосудистой патологии. Из вышесказанного следует, что определение уровня холина, в комплексе с рядом других метаболитов, может быть использовано для модификации шкалы риска развития ССЗ и осложнений.

Метаболомный профиль пациентов с АГ и МС так же различался по серину, наименее изученной в отношении сердечно-сосудистой патологии аминокислоте. Серин является незаменимой аминокислотой, и может быть получен из четырех возможных источников: потребление пищи, биосинтез из гликолитического промежуточного 3-фосфоглицерата, из глицина, и путем анаболизма белков и фосфолипидов. В процессе биосинтеза гликолитический промежуточный 3-фосфоглицерат превращается в фосфогидроксипируват в реакции, катализируемой 3-

фосфоглицератдегидрогеназой. Фосфогидроксипироват метаболизируется до фосфосерина с помощью фосфогидроксипироват аминотрансферазы и, наконец, фосфосерин превращается в серин с помощью фосфатерина фосфатаза. В тканях печени путь биосинтеза серина регулируется в ответ на изменения характера питания и гормональные нарушения. Так же серин играет центральную роль в клеточной пролиферации и является источником одноуглеродных групп для синтеза пуриновых нуклеотидов и дезокситимидинмонофосфата *de novo*. В нашем исследовании уровень концентрации серина у пациентов с АГ и МС был значимо выше по сравнению с контрольной группой, что вероятно, обусловлено усилением клеточной пролиферации при развитии АГ.

В ходы выполнения нашей работы, при анализе взаимосвязи полученного метаболомного профиля значимых метаболитов пациентов группы АГ и МС с показателями ДЭ выявлена положительная корреляция аминокислот с разветвленными боковыми цепями, тирозина и ряда коротко- и средне - цепочечных ацилкарнитинов со структурными нарушениями микроциркуляции. Эти же метаболиты продемонстрировали взаимозависимость с компонентами МС и параметрами поражения сердца при АГ. Обращает на себя внимание тот факт, что в нашем исследовании повышение уровней ВСАА было стойко ассоциировано с увеличением ОТ и уровнем гликемии. Такие результаты, очевидно, связаны с тем, что ВСАА участвуют в синтезе промежуточных соединений цикла трикарбоновых кислот и глюконеогенеза, а также секреции инсулина. В 2014 году Petri K Wiklund [90] с соавторами проанализировал метаболомный профиль 78 женщин с повышенным избыточной массой тела или ожирением, и так же обнаружил взаимосвязь ВСАА, ароматических аминокислот и оросомукоида с наличием МС, не зависимо от ИМТ. Стоит отметить, что в нашем исследовании получены данные о взаимосвязи изолейцина, лейцина и валина не только с критериями МС, но и с увеличением жесткости сосудистого русла и наличием ремоделирования сердца при АГ. Однако, Chen H. с

соавторами [88] в 2015 году провел исследование, по результатам которого профили групп пациентов с МС и пациентов с изолированным ожирением значительно различались по ряду метаболитов: L-кинуренину, глицерофосфохолину глицерол-1-фосфату, гликолевой кислоте, метилпальмитату и мочевой кислоте. Помимо этого, авторами было установлено снижение концентрации уровней валина, лейцина и изолейцина в группе пациентов с МС. Эти данные кардинально расходятся с результатами, полученными в нашем исследовании. Следует отметить, что в нашем исследовании проводился более жесткий отбор пациентов в группы АГ и МС и контрольную группу, а так же относительно небольшая выборка позволила осуществлять контроль за принимаемыми участниками исследования лекарственными препаратами. Однако такие противоречащие результаты дают повод продолжить исследования в данном направлении.

Большое клиническое значение в понимании механизмов прогрессирования ССЗ отводится исследованиям ДЭ. В настоящем исследовании получены данные об ассоциации показателей ДЭ, не только с аминокислотами, но также с ацилкарнитами. Наши данные полностью согласуются с результатами Li С., который в 2019 году провел нецелевое метаболомное профилирование в рамках исследования Bogalusa Heart Study [92]. В своей работе Li С. проводил оценку функции эндотелия у 1239 пациентов с повышенным ИМТ, половина получала гипотензивную терапию. В результате была выявлена ассоциация показателей функции эндотелия - А_{1р} и скорости пульсовой волны, с нарушением в метаболизме ВСАА и глицеролипидов. Стоит отметить, что в отличие от Li С., в нашем исследовании проводилось не только нецелевое профилирование, но и более точный целевой метаболомный анализ, что повышает качество и значимость полученных результатов. По нашим данным отмечается повышение концентрации ацилкарнитиннов, играющих роль в снижении передачи оксида азота опосредовано влияя на ДЭ. Об этом свидетельствует повышенный уровень циркулирующих короткоцепочечных и длинноцепочечных

ацилкарнитинов, что может быть следствием нарушения в метаболизме жирных кислот.

Исследования в области взаимосвязи факторов риска ССЗ с метаболомным профилем проводятся уже в течение последнего десятилетия. Интересно, что полученные нами данные свидетельствуют о наличии ассоциации ряда метаболитов из группы коротко- и среднецепочечных ацилкарнитинов и ВСАА с критериями МС, как совокупности факторов риска. Еще в 2008 году Konstantinova S. провела исследование о взаимосвязи уровней холина и бетаина в плазме с курением, физической активности, ИМТ, процентному содержанию жира в организме, ОТ, АД, липидам в сыворотке крови и глюкозе, проанализировав метаболомный профиль 7074 мужчин и женщин в возрасте 47–49 и 71–74 лет [93]. В исследовании было показано, что уровень концентрации холина был положительно связан с уровнем триглицеридов, глюкозы, ИМТ, ОТ и отрицательно взаимосвязан с ЛПНП. Схожие данные были получены в 2017 году Roe A.J., который описал метаболомный профиль 296 пациентов в исследовании the NAME и проанализировал его взаимосвязь факторами риска ССЗ [94]. Работа продемонстрировала, что более высокие концентрации холина в плазме были ассоциированы с высоким уровнем ЛПНП, сниженным уровнем ЛПВП, высокими цифрами АД и повышенным ИМТ. Результаты исследования Roe A.J. согласуются с полученными в настоящей работе, так как холин значительно отличался в группах пациентов с АГ и МС в сопоставлении с контрольной группой, однако четкой взаимосвязи с ОТ, гипергликемией и дислипидемией не обнаружено. Это, вероятнее всего, связано с тем, что в исследовании NAME включены только пациенты старшей возрастной когорты (более 60 лет). Так же, в 2018 году завершилось исследование Minoo Bagheri и соавторов, результаты которого сходны с полученными в нашем исследовании [95]. В работе Minoo было продемонстрировано повышенные концентрации аминокислот с ВСАА, тирозина, глутаминовой кислоты и снижение концентрации ацилкарнитина C18: 2, ацил-лизифосфатидилхолина

C18: 1 и C18: 2 в группе пациентов с МС, по сравнению с пациентами с изолированным ожирением. В нашей работе была выявлена ассоциация ВСАА с критериями МС, однако уровни длинноцепочечных ацилкарнитинов положительно коррелировали только с показателями ДЭ и взаимосвязи ни с одним из критериев МС или поражением органов мишеней выявлено не было. Такие результаты можно объяснить тем, что в исследовании Minoо сравнивались только пациенты, страдающие ожирением. В нашем же исследовании только 17% из контрольной группы страдали ожирением. В 2006 году Fuentes с соавторами исследовал метаболомный профиль 13 пациентов с гипертрофией миокарда при АГ и сопоставлял его с профилем 42 здоровых добровольцев [96]. Результаты продемонстрировали взаимосвязь нарушения синтеза жирных кислот со степенью гипертрофии миокарда и снижением его диастолической функции. Полученные данные в нашем исследовании так же свидетельствуют о нарушении обмена жирных кислот у пациентов с МС и АГ. Однако, стоит отметить, что в нашем исследовании помимо большего размера выборки выявлены ассоциации данных метаболитов с дисфункцией эндотелия, что ранее проводилось только в экспериментальных работах.

Так, в 2019 году исследования Li J. на модели гипертензивных мышей, продемонстрировали, что повышение уровня АД приводит к изменению метаболомного профиля сердечной мышца еще до появления ремоделирования миокарда [97]. В этой работе было обнаружено повышение концентраций метаболитов, таких как пирувата, длинноцепочечные ацилкарнитины и ВСАА. В исследовании Li было отмечено повышение длинноцепочечных ацилкарнитинов, таких как гексадекадиеноилкарнитин и 3,5-тетрадекадиенкарнитин. В нашем исследовании выявлено повышение концентрации циркулирующих длинноцепочечных ацилкарнитинов у пациентов с АГ и МС и дисфункцией эндотелия, что подтверждает значимость полученных метаболитов в патогенезе развития ССЗ и указывают на

возможность рассмотрения совокупности этих метаболитов в качестве возможных дополнительных факторов риска.

Таким образом, по известным нам данным, настоящее исследование впервые описывает наиболее полный метаболомный профиль пациентов с дисфункцией эндотелия при АГ в сочетании МС.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Резюмируя данные, полученные в ходе проведённого исследования, можно предположить, что сочетание гиперхолестеринемии, гипергликемии, ожирения, повышенного АД приводит не только к ДЭ, но так же повышает уровень оксидативного стресса. Такие изменения приводят к нарушениям окисления жирных кислот, дисфункции митохондрий, и, как следствие, повышению циркулирующих метаболитов. (Рисунок 26)



Рисунок 26 — Схема нарушения метаболизма под влиянием ожирения, гиперхолестеринемии и гипергликемии.

По результатам нашей работы выявлены изменения в путях обмена жирных кислот и фосфолипидов. О нарушениях в данных путях могут говорить повышенные уровни циркулирующих ацилкарнитинов - производных жирных кислот, а также холина и серина, являющихся одними из основных составляющих фосфолипидов.

Таким образом, по известным нам данным, настоящее исследование впервые описывает наиболее полный метаболомный профиль пациентов с ДЭ при АГ в сочетании МС.

Дальнейшие исследования в этой области позволят расширить понимание патогенетических механизмов прогрессирования ССЗ и помогут сформировать концепцию ранней диагностики пациентов с факторами риска развития сердечно-сосудистых осложнений. Изменения в метаболических путях следует рассматривать в совокупности.

ВЫВОДЫ

- В группе пациентов АГ и МС выявлены нарушения функции эндотелия на микроциркуляторном уровне в виде снижения ИО ($1,41 \pm 0,34$), а так же увеличения жесткости сосудов ($Alp = 10,56 \pm 15,26$ и $Alp75 = 7,66 \pm 13,66$).
- К спектру метаболитов, наиболее характерных для пациентов с АГ, МС и наличием ДЭ выявляемых на основании проведения нецелевого метаболомного анализа относятся 26 метаболитов из группы ацилкарнитинов короткой, средней и длинной цепи, а так же 15 аминокислот.
- Установлено повышение концентрации в плазме крови серина, холина, АДМА и коротко-, средне- и длинноцепочечных ацилкарнитинов у пациентов с АГ и МС.
- Выявлены обратные взаимосвязи уровней концентрации валина, лейцина, изолейцина, бутеноилкарнитина, глутарилкарнитина и додеканоилкарнитина с показателем повышенной жёсткости сосудистой стенки - Alp , и концентраций цистеина, адипоилкарнитина, додеканоилкарнитина (C12:1) и 3-гидроксигексадекадиеноилкарнитина с ИО как показателем ДЭ микроциркуляторного русла у пациентов с АГ, МС.
- Выявлены корреляции уровней аминокислот с разветвленными боковыми цепями, цистеина, тирозина, коротко- и среднецепочечных ацилкарнитинов с компонентами МС и морфо-функциональными изменениями сердца (гипертрофией миокарда ЛЖ, диастолической дисфункцией) при АГ с МС и ДЭ.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

- Результаты проведенного исследования позволяют выделить метаболиты, ассоциированные с прогрессированием АГ при наличии МС, как совокупности факторов риска. Полученные метаболиты могут рассматриваться в качестве дополнительных индивидуальных факторов риска и возможных целей для персонализированного подхода в лекарственной терапии.
- Выявленные среднедипочечные адипоилкарнитин и додеканоилкарнитин, а также длинноцепочечный 3-гидроксигексадекадиеноилкарнитин в сочетании с определением концентрации цистеина могут быть предложены в совокупности в качестве лабораторного маркера ДЭ.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. URL:<https://www.rosminzdrav.ru/ministry/61/22/stranitsa-979/statisticheskie-i-informatsionnye-materialy/statisticheskiy-sbornik-2017-god>
2. Министерство здравоохранения Российской Федерации. Клинические рекомендации. Артериальная гипертензия у взрослых. Год утверждения 2018.
3. Малютина С. К. Проспективное изучение вклада артериальной гипертензии в риск развития сердечно-сосудистых событий. / Малютина С. К., Симонова Г. И., Гафаров В. В., Вережкин Е. Г. // Сибирский научный медицинский журнал. 2003.
4. Neaton J.D. Serum cholesterol, blood pressure, cigarette smoking, and death from coronary heart disease. Overall findings and differences by age for 316 099 white men. Multiple Risk Factor Intervention Trial research group / Neaton J.D., Wentworth D. // Arch. Intern. Med. 1992. Vol. 152. P. 56–64.
5. Psaty B.M. Health outcomes associated with antihypertensive therapies used as first-line agents: a systemic review and meta-analysis / Psaty B.M., Smith N.L. and Siscovick D.S // JAMA. 1997. Vol. 277. 739–745.
6. Stamler J. Blood pressure systolic and diastolic, and cardiovascular risks / Stamler J., Stamler R. Neaton J.D. // Arch Intern Med. 1993;153(5):598-615.
7. Беленков Ю. Н. Метаболическое профилирование больных с сердечно-сосудистыми заболеваниями. / Беленков Ю. Н., Привалова Е. В., Кожевникова М. В., Коробкова Е. О., Ильгисонинс И. С., Каплунова В.Ю., Шакарьянц Г. А., Апполонова С. А., Кухаренко А. В., Ларцова Е. В., Месонжик Н. В. // Кардиология. 2018;58(9):59-62.
8. Dzau V. Resolved and unresolved issues in the prevention and treatment of coronary artery disease: a workshop consensus statement. / Dzau V, Braunwald E.// Am Heart J 1991; 121: 1244–63.

9. Агеев Ф.Т. Роль эндотелиальной дисфункции в развитии и прогрессировании сердечно-сосудистых заболеваний // Сердечная недостаточность. – 2004. – Т. 4, № 1. – С. 22–23.
10. Беленков Ю.Н. Эндотелиальная дисфункция при сердечной недостаточности: возможности терапии ингибиторами ангиотензинпревращающего фермента / Беленков Ю.Н., Мареев В.Ю., Агеев Ф.Т. // Кардиология. – 2001. – Т. 41, № 5. – С. 100–104.
11. Корякина Л.Б. Дисфункция сосудистого эндотелия при артериальной гипертензии и ишемической болезни сердца (обзор литературы) / Л.Б. Корякина, Ю.И. Пивоваров, Т.Е. Курильская, А.С. Сергеева, И.В. Бабушкина // Биллетень ВСНЦ СО РАМН, 2013, №2(90).
12. Манухина Е.Б. Эндотелиальная дисфункция и артериальная гипертензия: механизмы и пути коррекции / Манухина Е.Б., Малышев И.Ю., Бувальцев В.И. // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – 2003. – № 4. – С. 26–30.
13. Министерство здравоохранения РФ. Рекомендации по ведению больных с метаболическим синдромом. Клинические рекомендации. – Москва, 2013. – 43с.
14. Беленков Ю.Н. Метаболический синдром: история развития, основные критерии диагностики. / Беленков Ю.Н., Привалова Е.В., Каплунова В.Ю., Зекцер В.Ю., Виноградова Н.Н., Ильгисонис И.С., Шакарьянц Г.А., Кожевникова М.В., Лишута А.С. // Рациональная Фармакотерапия в Кардиологии 2018;14(5):757-764.
15. Moebus S. The metabolic syndrome – a controversial diagnostic concept. / Moebus S, Stang A. // Herz. 2007 Oct;32(7):529-540.
16. Mottillo S. The Metabolic Syndrome and Cardiovascular Risk: A Systematic Review and Meta-Analysis / Mottillo S., Filion K.B., Genest J. // Journal of the American College of Cardiology. Volume 56, Issue 14, 28 September 2010, Pages 1113-1113.
17. URL: <https://www.gks.ru/folder/313/document/70761?print=1>.

18. Prieto D. Endothelial Dysfunction, Obesity and Insulin Resistance / Prieto D., Contreras C., Sanchez A. // *Current Vascular Pharmacology* 2014;12(3):412–426.
19. Muhiddin A. Endothelium-Derived Hyperpolarizing Factor Determines Resting and Stimulated Forearm Vasodilator Tone in Health and in Disease. / Muhiddin A. Ozkor, Jonathan R. Murrow, M. Rahman, Nino Kavtaradze, Ji Lin, Amita Manatunga, Arshed A. Quyyumi. // *Circulation*. Volume 123, Issue 20, 24 May 2011, Pages 2244-2253.
20. Urakami-Harasawa L. Importance of endothelium-derived hyperpolarizing factor in human arteries / L. Urakami- Harasawa, H. Shimokawa, M. Nakashima, K. Egashira, A. Takeshita // *J. Clin. Investig.*, 100 (1997), pp. 2793-2799.
21. Chadderdon S.M. Temporal changes in skeletal muscle capillary responses and endothelial-derived vasodilators in obesity-related insulin resistance / Chadderdon S.M. Belcik J.T. , Bader L. , Peters D.M. , Kievit P. , Alkayed N.J. , Kaul S. , Grove K.L. , Lindner J.R. // *Diabetes*, 65 (2016), pp. 2249-2257.
22. Shimokawa, H. Hydrogen peroxide as an endothelium-derived hyperpolarizing factor. *Pflugers Arch - Eur J Physiol* 459, 915–922 (2010).
23. Godo S. Divergent roles of endothelial nitric oxide synthases system in maintaining cardiovascular homeostasis. / Godo S, Shimokawa H. // *Free Radic Biol Med*. 2017 Aug;109:4-10.
24. Малая Л.Т. Эндотелиальная дисфункция при патологии сердечно–сосудистой системы. / Малая Л.Т., Корж А. Н., Балковая Л. Б // Харьков, Издательство «ТОРСИНГ», 2000. с. 10–20.
25. Инжутова А.И. Эндотелиальная дисфункция – причина и терапевтическая точка осложненных форм гипертонической болезни / Инжутова А.И., Петрова М.М., Салмина А.Б. // *Сибирский медицинский журнал*. – 2006. – № 3. – С. 44–47

26. Aamer Sandoo. The Endothelium and Its Role in Regulating Vascular Tone. / Aamer Sandoo, Jet J.C.S Veldhuijzen van Zanten, George S Metsios. // The OpenCardiovasc Med J. 2010; 4: 302–312.
27. Furchgott RF. Endothelium–derived relaxing and contracting factors. / Furchgott RF, Vanhoutte PM. // FASEB J. 1989; 3: 2007–2018.
28. Ковалев И.А. Эндотелийзависимая вазодилатация и вазоконстрикция у больных ИБС и у лиц с отягощенной по атеросклерозу наследственностью / Ковалев И.А., Марцинкевич Г.И., Суслова Т.Е., Филиппов Г.П. // Бюлл. СО РАМН. – 2006. – № 2. – С. 86–92.
29. Коняхин А.Ю. Влияние системной энзимотерапии на клинические и гемореологические показатели у больных ИБС: стенокардией напряжения / Коняхин А.Ю., Радзевич А.Э., Аркадьева Г.В., Шмелева Н.В., Каменева Т.Р., Антонова Е.С. // Российский кардиологический журнал. – 2005. – № 3 (53). – С. 53–62.
30. Марков Х.М. Молекулярные механизмы дисфункции сосудистого эндотелия // Кардиология. – 2005. – Т. 45, № 12. – С. 62–72.
31. Пизов Н.А. Эндотелиальная функция в норме и при патологии. / Пизов Н.А., Пизов А.В., Скачкова О.А., Пизова Н.В. // Медицинский совет. 2019; 6: 154-159.
32. Шестакова М.В. Дисфункция эндотелия - причина или следствие метаболического синдрома? Регулярные выпуски «РМЖ» №2 от 16.01.2001 стр. 88.
33. Шабров А.В. Современные методы оценки эндотелиальной дисфункции и возможности их применения в медицине. / Шабров А.В. Апресян А.Г., Добкес А.Л., Ермолов С.Ю., Ермолова Т.В., Манасян С.Г., Сердюков С.В. // Рациональная Фармакотерапия в Кардиологии. 2016; 12(6):733-742.
34. Celermajer D.S. Non – invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. / D.S. Celermajer, K.E.

- Sorensen, V.M. Gooch, D.J. Spiegelhalter, O.I. Miller, I.D. Sullivan, J.K. Lloyd, J.E. Deanfield // *Lancet*. 1992; 340: 1111-1115.
35. Moerland M. Evaluation of the EndoPAT as a Tool to Assess Endothelial Function / M. Moerland, A. J. Kales, L. Schrier, M. G. J. van Dongen, D. Bradnock, and J. Burggraaf // *International Journal of Vascular Medicine*. Volume 2012, Article ID 904141, 8 pages.
36. Giannotti G. Endothelial Dysfunction as an Early Sign of Atherosclerosis. / Giannotti G., Landmesser U. // *Herz* 32, 568–572 (2007).
37. Guy Eelen . Endothelial cell metabolism in normal and diseased vasculature. / Guy Eelen, Pauline de Zeeuw, Michael Simons, and Peter Carmeliet. // *Circ Res*. 2015 Mar 27; 116(7): 1231–1244.
38. Беленков Ю.Н. Ремоделирование сосудистого русла у больных артериальной гипертонией: возможности диагностики и коррекции. / Беленков Ю.Н., Привалова Е.В., Данилогорская Ю.А., Железных Е.А., Щендрыгина А.А.. // *Кардиология*. - 2012.- №6.-С.-67-72.
39. Ameta K. Essential hypertension: A filtered serum based metabolomics study. / Ameta K, Gupta A, Kumar S, Sethi R, Kumar D, Mahdi AA. // *Sci Rep*. 2017;7(1):2153.
40. Cardillo C. Selective Defect in Nitric Oxide Synthesis May Explain the Impaired Endothelium-Dependent Vasodilation in Patients With Essential Hypertension. / Cardillo C., Crescence M. Kilcoyne, Arshed A. Quyyumi, Richard O. Cannon III, Julio A. Panza. // *Circulation*. 1998;97:851–856.
41. Vanhoutte P.M. Endothelial dysfunction and vascular disease - a 30th anniversary update. / M. Vanhoutte, H. Shimokawa, M. Feletou, E.H. Tang // *Acta Physiol*. (2015), 10.1111/apha.12646.
42. Nadaud S. Gene Structure, Polymorphism and Mapping of the Human Endothelial Nitric Oxide Synthase Gene. / Nadaud S. Bonnardeaux A. Lathrop M. Soubrier F. // *Biochemical and Biophysical Research Communications*. Volume 198, Issue 3, 14 February 1994, Pages 1027-1033 .

43. Wimmer M., Rose I. Mechanisms of enzyme-catalyzed group transfer reactions // *Annu Rev Biochem*:— 1978. — Vol. 47. — P. 1031—1078.
44. Комов, В. П. Биохимия в 2 ч. Часть 2.: учебник для академического бакалавриата / В. П. Комов, В. Н. Шведова; под общей редакцией В. П. Комова / 4-е изд., испр. и доп. — Москва: Издательство Юрайт, 2019. 315 с./ ISBN 978-5-534-02061-8.
45. Nicholson J.K. Systemsbiology: metabonomics. / Nicholson J.K., Lindon J.C. // *Nature* 2008; 455: 1054-1056.
46. Patti G.J., Innovation: Metabolomics: the apogee of the omics trilogy / Patti G.J., Yanes O., Siuzdak G. // *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2012 Mar 22;13(4):263-269.
47. Gao X. High dietary choline and betaine intake is associated with low insulin resistance in the Newfoundland population. / Gao X., Wang Y., Sun G. // *Nutrition*. 2017 Jan;33: 28-34.
48. Serkova N.J. Pattern recognition and biomarker validation using quantitative ¹H-NMR-based metabolomics. / Serkova N.J., Niemann C.U. // *Expert Rev Mol Diagn* 2006; 6: 717-731.
49. Vigneau-Callahan, K.E. Characterization of diet-dependent metabolic serotypes: analytical and biological variability issues in rats / K.E. Vigneau-Callahan, A.I. Shestopalov, P.E. Milbury, W.R. Matson, B.S. Kristal // *Journal of Nutrition*. — 2001. — Vol. 131. — P. 924–932.
50. Bino, R.J. Potential of metabolomics as a functional genomics tool / R.J. Bino, R.D. Hall, O. Fiehn, J. Kopka, K. Saito, J. Draper, B.J. Nikolau, P. Mendes, U. Roessner-Tunali, M.H. Beale, R.N. Trethewey, B.M. Lange, E.S. Wurtele, L.W. Sumner // *Trends in Plant Science*. — 2004. — Vol. 9. — P. 418–425.
51. Coen M. NMR-based metabolic profiling and metabonomic approaches to problems in molecular toxicology. / Coen M, Holmes E, Lindon JC, Nicholson JK. // *Chem Res Toxicol* 2008; 21: 9-27.

52. Crutchfield C.A. Mass Spectrometry-Based Metabolomics of Yeast. / Crutchfield C.A., Lu W., Melamud E., Rabinowitz J.D. // *Methods in Enzymology*, volume 470, 2010, Pages 393-426.
53. Pan Z., Comparing and combining NMR spectroscopy and mass spectrometry in metabolomics. / Pan Z., Raftery D. // *AnalBioanalChem* 2007; 387: 525-527.
54. Mayr M., Proteomic and Metabolomic Analyses of Atherosclerotic Vessels From Apolipoprotein E-Deficient Mice Reveal Alterations in Inflammation, Oxidative Stress, and Energy Metabolism. / M Mayr, Y-L Chung, U Mayr, X Yin, L Ly, H Troy, S Fredericks, Y Hu, J R. Griffiths, Q. Xu // *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 2005; 25(10):2135-2142.
55. Deidda M., Piras C., Dessalvi C. C. et al. Metabolomic approach to functional and metabolic myocardial changes in heart failure. *Journal of Translational Medicine* 2015;13:297.
56. Zordoky B. N. Metabolomic Fingerprint of Heart Failure with Preserved Ejection Fraction. / Zordoky B. N., Sung M. M., Ezekowitz J. // *PLoS ONE* 2015;10(5).-pii:e0124844.
57. Zinellu A. Low density lipoprotein S-homocysteinylation is increased in acute myocardial infarction patients / Angelo Zinellu, Salvatore Sotgia, Bastianina Scanu, Luca Deiana, Giuseppe Talanas, PierFranco Terrosu, Ciriaco Carru // *Clinical Biochemistry – Volume 45, Issues 4–5, March 2012, Pages 359-362.*
58. Psychogios N. N. The human serum metabolome / Psychogios N. N., Psychogios D.D., Hau J., Peng A.C., Guo R., Mandal S., Bouatra I., Sinelnikov R., Krishnamurthy R., Eisner B., Gautam N., Young J., Xia C., Knox E., Dong P., Huang Z., Hollander T.L., Pedersen S.R., Smith F., Bamforth R., Greiner B., McManus J.W., Newman T., Goodfriend D.S. Wishart. // *PLoS One.* — 2011. — Vol. 6. — № 2. — e16957.

59. Лохов, П.Г. Масс-спектрометрические методы в метаболомике / П.Г. Лохов, А.И. Арчаков // Биомедицинская химия. — 2008. — № 54. — С. 497-511.
60. De Vos, R.C. Untargeted large-scale plant metabolomics using liquid chromatography coupled to mass spectrometry / R.C. De Vos, S. Moco, A. Lommen, J.J. Keurentjes, R.J. Bino, R.D. Hall // Nature Protocols. — 2007. — Vol. 2. — P. 778–791.
61. Tolstikov V.V. Analysis of highly polar compounds of plant origin: combination of hydrophilic interaction chromatography and electrospray ion trap mass spectrometry / V.V. Tolstikov, O. Fiehn // Analytical Biochemistry. — 2002. — Vol. 301. — P. 298–307.
62. Wang W. Quantification of proteins and metabolites by mass spectrometry without isotopic labeling or spiked standards / W. Wang, H. Zhou, H. Lin, S. Roy, T.A. Shaler, L.R. Hill, S. Norton, P. Kumar, M. Anderle, C.H. Becker // Analytical Chemistry. — 2003. — Vol. 75. — P. 4818-4826.
63. Roy S.M. Quantification of proteins and metabolites by mass spectrometry without isotopic labeling / Roy S.M., Becker C.H. // Methods in Molecular Biology. — 2007. — Vol. 359. — P. 87–105.
64. Mastovská, K. Practical approaches to fast gas chromatography-mass spectrometry / K. Mastovská, S.J. Lehotay // Journal of chromatography A. — 2003. — Vol. 1000 — № 1-2. — P. 153-180.
65. Jiye, A. Extraction and GC/MS analysis of the human blood plasma metabolome / A. Jiye, J. Trygg, J. Gullberg, A.I. Johansson, P. Jonsson, H. Antti, S.L. Marklund, T. Moritz // Analytical Chemistry. — 2005. — Vol. 77. — P. 8086–8094.
66. Idborg-Bjorkman, H. Screening of biomarkers in rat urine using LC/electrospray ionization-MS and two-way data analysis // H. Idborg-Bjorkman, P.O. Edlund, O.M. Kvalheim, I. Schuppe-Koistinen, S.P. Jacobsson // Analytical Chemistry. — 2003. — Vol. 75. — P. 4784–4792.

67. Tolstikov V.V. Application of liquid chromatography-mass spectrometry analysis in metabolomics: reversed-phase monolithic capillary chromatography and hydrophilic chromatography coupled to electrospray ionization-mass spectrometry / V.V. Tolstikov, O. Fiehn, N. Tanaka // *Methods in Molecular Biology*. — 2007. — Vol. 358. — P. 141–155.
68. Lafaye A. Metabolite profiling in rat urine by liquid chromatography/electrospray ion trap mass spectrometry. Application to the study of heavy metal toxicity / A. Lafaye, C. Junot, B. Ramounet-Le Gall, P. Fritsch, J.C. Tabet, E. Ezan // *Rapid Communications in Mass Spectrometry*. — 2003. — Vol. 17. — P. 2541–2549.
69. Williams R.E., D-Serine-induced nephrotoxicity: a HPLC-TOF/MS-based metabolomics approach / R.E. Williams, H. Major, E.A. Lock, E.M. Lenz, I.D. Wilson // *Toxicology*. — 2005. — Vol. 207. — P. 179–190.
70. Plumb, R. Metabonomic analysis of mouse urine by liquid-chromatography-time of flight mass spectrometry (LC-TOFMS): detection of strain, diurnal and 209 gender differences / R. Plumb, J. Granger, C. Stumpf, I.D. Wilson, J.A. Evans, E.M. Lenz // *Analyst*. — 2003. — Vol. 128. — P. 819–823.
71. Fu X. Simplified screening for organic acidemia using GC/MS and dried urine filter paper: a study on neonatal mass screening. / X. Fu, M. Iga, M. Kimura, S. Yamaguchi // *Early Human Development*. — 2000. — Vol. 58. — P. 41–55.
72. Dalluge, J. Comprehensive two-dimensional gas chromatography: a powerful and versatile analytical tool/ J. Dalluge, J. Beens, U.A.T. Brinkman // *Journal of Chromatography A*. — 2003. — Vol. 1000. — P. 69-108.
73. Welthagen, W. Comprehensive two-dimensional gas chromatography–time-of-flight mass spectrometry (GC x GC-TOF) for high resolution metabolomics: 223 biomarker discovery on spleen tissue extracts of obese NZO compared to lean C57BL/6 mice / W. Welthagen, R.A. Shellie J. Spranger, M. Ristow, R. Zimmermann, O. Fiehn // *Metabolomics*. — 2005. — Vol. 1. — P. 65–73.

74. Guo, X. Metabolite profiling analysis of *Methylobacterium extorquens* AM1 by comprehensive two-dimensional gas chromatography coupled with time-offlight mass spectrometry / X. Guo, M.E. Lidstrom // *Biotechnology and Bioengineering*. — 2008. — Vol. 99. — P. 929–940.
75. Breitling R. Ab initio prediction of metabolic networks using Fourier transform mass spectrometry data. / R. Breitling, S. Ritchie, D. Goodenowe, M. L. Stewart, M. P. Barrett // *Metabolomics*. 2006;2(3):155–164.
76. Gika H.G. Protocol for quality control in metabolic profiling of biological fluids by U(H)PLC-MS. / Gika HG, Zisi C, Theodoridis G, Wilson ID. // *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2016;1008:15–25.
77. Liu X. *Metabolomics: A Primer* / Liu X, Locasale JW. // *Trends Biochem Sci*. 2017;42(4):274-284.
78. Fiehn O. *Metabolomics by Gas Chromatography-Mass Spectrometry: Combined Targeted and Untargeted Profiling*. *CurrProtocMol Biol*. 2016;114:30.4.1-30.4.32.
79. Barrett, D. *Advances in metabolic profiling* / D. Barrett // *Bioanalysis*. — 2012. — Vol. 4. — № 6. — P. 643-644.
80. Beckwith-Hall, B. M. Nuclear magnetic resonance spectroscopic and principal components analysis investigations into biochemical effects of three model hepatotoxins / B.M. Beckwith-Hall, J.K. Nicholson, A.W. Nicholls, P.J. Foxall, J.C. Lindon, S.C. Connor, M. Abdi, J. Connelly, E. Holmes // *Chemical Research in Toxicology*. — 1998. — Vol. 11. — № 4. — P. 260-272.
81. Goodacre, R. *Metabolomics by numbers: acquiring and understanding global metabolite data* / R. Goodacre, S. Vaidyanathan, W.B. Dunn, G.G. Harrigan, D.B. Kell // *Trends in Biotechnology*. — 2004. — Vol. 22. — № 5. — P. 245-252.
82. Bijlsma, S. *Large-scale human metabolomics studies: a strategy for data (pre-) processing and validation* / S. Bijlsma, I. Bobeldijk, E.R. Verheij, R.

- Ramaker, S. Kochhar, I.A. Macdonald, B. van Ommen, A.K. Smilde // *Analytical Chemistry*. — 2006. — Vol. 78. — № 2. — P. 567-574.
83. Jonsson, P. A strategy for identifying differences in large series of metabolomic samples analyzed by GC/MS / P. Jonsson, J. Gullberg, A. Nordstrom, M. Kusano, M. Kowalczyk, M. Sjoström, T. Moritz // *Analytical Chemistry*. — 2004. — Vol. 76. — P. 1738–1745.
84. Chang, W.T. Effects of growth conditions and processing on *Rehmannia glutinosa* using fingerprint strategy / W.T. Chang, U. Thissen, K.A. Ehlert, M.M. Koek, R.H. Jellema, T. Hankemeier, J. van der Greef, M. Wang // *Planta Medica*. — 2006. — Vol. 72. — P. 458–467.
85. Smilde, A.K. ANOVA-simultaneous component analysis (ASCA): a new tool for analyzing designed metabolomics data / A.K. Smilde, J.J. Jansen, H.C. Hoefsloot, R.J. Lamers, J. van der Greef, M.E. Timmerman // *Bioinformatics*. — 2005. — Vol. 21. — № 13. — P. 3043-3048.
86. Vis D.J. Statistical validation of megavariate effects in ASCA / D.J. Vis, J.A. Westerhuis, A.K. Smilde, J. van der Greef // *BMC Bioinformatics*. — 2007. — Vol. 8. — P. 322-329.
87. Petri K Wiklund Serum metabolic profiles in overweight and obese women with and without metabolic syndrome. / Petri K Wiklund, Satu Pekkala, Reija Autio, Eveliina Munukka, Leiting Xu, Juha Saltevo, ShuMei Cheng, Urho M Kujala, Markku Alen, Sulin Cheng // *Diabetol Metab Syndr*. 2014; 6: 40.
88. Chen H.. The metabolome profiling and pathway analysis in metabolic healthy and abnormal obesity./ H-H Chen, Y J Tseng, S-Y Wang, Y-S Tsai, C-S Chang, T-C Kuo, W-J Yao, C-C Shieh, C-H Wu, P-H Kuo // *Int J Obes* 39, 1241–1248 (2015).
89. Родионов Р.Н., Асимметричный диметиларгинин и его роль в этиологии и патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний. / Родионов Р.Н., Блохин И.О., Галагудза М.М., Шляхто Е.В., Лентц С.Р. // *Артериальная гипертензия*. 2008;14(4):306-314.

90. Surdacki A. Reduced urinary excretion of nitric oxide metabolites and increased plasma levels of asymmetric dimethylarginine in men with essential hypertension / Surdacki A., Nowicki M, Sandmann J, Tsikas D, Boeger RH, Bode-Boeger SM, Kruszelnicka-Kwiatkowska O, Kokot F, Dubiel JS, Froelich JC // *J Cardiovasc Pharmacol*. 1999 Apr;33(4):652-658.
91. Schartum-Hansen H., Pedersen E. R, Svingen GF, et al. Plasma choline, smoking, and long-term prognosis in patients with stable angina pectoris. *European Journal of Preventive Cardiology*. 2015 May; 22(5):606-14.
92. Changwei Li. Novel Metabolites Are Associated With Augmentation Index and Pulse Wave Velocity: Findings From the Bogalusa Heart Study. / Changwei Li; Jiang He // *American Journal of Hypertension*, Volume 32, Issue 6, June 2019, Pages 547–556.
93. Konstantinova S.V. Divergent associations of plasma choline and betaine with components of metabolic syndrome in middle age and elderly men and women. / Konstantinova S.V., Tell G.S., Vollset S.E., O. Nygård, Ø. Bleie, P. M. Ueland // *The Journal of Nutrition*, Volume 138, Issue 5, May 2008, Pages 914–920.
94. Roe A.J. Choline and its metabolites are differently associated with cardiometabolic risk factors, history of cardiovascular disease, and MRI-documented cerebrovascular disease in older adults./ A J Roe, S Zhang, R A Bhadelia, E J Johnson, A H Lichtenstein, G T Rogers, I H Rosenberg, C E Smith, S H Zeisel, T M Scott// *AmJ Clin Nutr*. 2017;105(6):1283–1290.
95. Minoog Bagheri. Obesity-Related Metabolomic Profiles and Discrimination of Metabolically Unhealthy Obesity. / Minoog Bagheri, Farshad Farzadfar, Lu Qi, Mir Saeed Yekaninejad, Maryam Chamari, Oana A. Zeleznik, Zahra Kalantar, Zarin Ebrahimi, Ali Sheidaie, Berthold Koletzko, Olaf Uhl, and Abolghasem Djazayeri // *Journal of Proteome Research* 2018, 17 (4), 1452-1462.
96. De las Fuentes L, Hypertensive left ventricular hypertrophy is associated with abnormal myocardial fatty acid metabolism and myocardial efficiency. / L. d.

- l. Fuentes, P. F. Soto, B. P. Cupps, M. K. Pasque, P. Herrero, R. J. Gropler, A. D. Waggoner, V. G. Dávila-Román // *J Nucl Cardiol* **13**, 369–377 (2006).
97. Li J. Metabolic Changes in Spontaneously Hypertensive Rat Hearts Precede Cardiac Dysfunction and Left Ventricular Hypertrophy. / J. Li, B. A. Kemp, N. L. Howell, J. Massey, K. Mińczuk, Q. Huang, M. D. Chordia, R. J. Roy, J. T. Patrie, G. E. Davogustto, C. M. Kramer, F. H. Epstein, R. M. Carey, H. Taegtmeyer, S. R. Keller, B. K. Kundu // *JAmHeartAssoc.* 2019;8(4):e010926.
98. Горшков А.Ю. Дисфункция эндотелия при артериальной гипертензии: причина или следствие? / Горшков А.Ю., Федорович А.А., Драпкина О.М. // *Кардиоваскулярная терапия и профилактика.* 2019;18(6):62-68.

СПИСОК ИЛЛЮСТРАТИВНОГО МАТЕРИАЛА

Рисунок 1 — Сердечно-сосудистый континуум [7].	10
Рисунок 2 — Общая схема метаболизма.	17
Рисунок 3 — Пример путей катаболизма аминокислот [44].	18
Рисунок 4 — Общая схема различных рабочих процессов, доступных для исследований в области метаболомики [77].	24
Рисунок 5 — Распределение пациентов из группы АГ и МС по ИМТ.	37
Рисунок 6 — Распределение участников контрольной группы по ИМТ.	37
Рисунок 7 — Сопутствующая патология группы АГ и МС.	38
Рисунок 8 — Лекарственная терапия пациентов группы АГ и МС.	39
Рисунок 9 — Распределение ИО по исследуемым группам.	47
Рисунок 10 — Распределение показателей Alp по исследуемым группам.	48
Рисунок 11 — Распределение показателей $Alp75$ по исследуемым группам.	49
Рисунок 12 — Распределение показателей СФ в исследуемых группах.	49
Рисунок 13 — Схема проведение метаболомного профилирования.	50
Рисунок 14 — Нормализация распределения и центрирование при помощи программы Metaboanalyst 4.0.	51
Рисунок 15 — Распределение групп пациентов с помощью PCA.	52
Рисунок 16 — Распределение групп пациентов с помощью OPLS-DA по группам.	53
Рисунок 17 — Карта отношений средних значений концентрации метаболитов между группами пациентов АГ и контрольной группой.	58
Рисунок 18 — Диаграмма рассеяния уровней цистеина и 3-гидроксигексадекадиеноилкарнитина и их взаимосвязь с показателем ИО.	60
Рисунок 19 — Взаимосвязь показателя Alp с уровнем додекадканоилкарнитина С 12.	60
Рисунок 20 — Диаграмма рассеяния уровней лейцина и изолейцина и их взаимосвязь с ТЗС ЛЖ.	61

Рисунок 21 — Диаграмма рассеяния уровней лейцина и валина и их взаимосвязь с уровнем ТГ.....	63
Рисунок 22 — Взаимосвязь уровней тирозина и глутарилкарнитина с показателем диастолической функцией ЛЖ Е/А.	63
Рисунок 23 — Диаграмма рассеяния уровней изолейцина и валина и их взаимосвязь с ОТ.....	64
Рисунок 24 — Взаимосвязь уровня глутарилкарнитина с уровнем ЛПВП. ...	65
Рисунок 25 — Схема взаимосвязей значимых метаболитов с показателями ДЭ, компонентами МС и параметрами поражения сердца при АГ.....	66
Рисунок 26 — Схема нарушения метаболизма под влиянием ожирения, гиперхолестеринемии и гипергликемии.	76
Таблица 1 — Методы применяемые для метаболомного профилирования ..	20
Таблица 2 — Общая характеристика участников исследования.....	28
Таблица 3 — Характеристика пациентов группы АГ и МС в сравнении с контрольной группой	35
Таблица 4 — Критерии МС согласно рекомендациям по ведению больных с МС, разработанным по поручению Минздрава России и утвержденным Российским медицинским обществом по АГ и профильной комиссией по кардиологии в 2013 года.....	36
Таблица 5 — Концентрации значимых ацилкарнитинов в группе пациентов с АГ и МС и контрольной группе	55
Таблица 6 — Концентрации значимых аминокислот в группе пациентов с АГ и МС и контрольной группе	57
Таблица 7 Концентрации других классов соединений из значимых метаболитов в группе пациентов с АГ и МС и контрольной группе	57
Таблица 8 — Корреляционный анализ показателей ДЭ у пациентов группы АГ и МС с метаболомным профилем, полученным при целевом метаболомном анализе. Приведены только статистически значимо различающиеся метаболиты	59

- Таблица 9 — Корреляционный анализ показателей МС и поражения органов – мишеней при АГ с уровнем метаболитов, ассоциированных с ДЭ. Приведены только статистически значимо различающиеся метаболиты..... 62
- Таблица 10 — Концентрация некоторых метаболитов в крови у больного ... 68

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ, ДОКЛАДЫ НА КОНФЕРЕНЦИЯХ

1. Беленков Ю.Н., Привалова Е.В., Кожевникова М.В., Коробкова Е.О., Ильгисонис И.С., Каплунова В.Ю., Шакарьянц Г.А., Апполонова С.А., Кухаренко А.В., Ларцова Е.В., Месонжик Н.В. Метаболомное профилирование больных с сердечно-сосудистыми заболеваниями. Кардиология. 2018; 58 (9): 59-62

2. Коробкова Е.О., Кожевникова М.В., Ильгисонис И.С., Шакарьянц Г.А., Апполонова С.А., Кухаренко А.В. и др. Метаболомное профилирование больных с метаболическим синдромом. Кардиология. 2020;60(3):37–43

3. Шакарьянц Г.А., Кожевникова М.В., Каплунова В.Ю., Привалова Е.В., Лишута А.С., Коробкова Е.О. и др. Взгляд на гипертрофию миокарда с позиции транскриптомики и метаболомики. Кардиология. 2020;60(4):120–129.

4. Kukhareno A, Brito A, Kozhevnikova MV, Moskaleva N, Markin PA, Vochkareva N, Korobkova EO, Belenkov YN, Privalova EV, Larcova EV, Ariani A, La Frano MR, Appolonova SA. Relationship between the plasma acylcarnitine profile and cardiometabolic risk factors in adults diagnosed with cardiovascular diseases. Clin Chim Acta. 2020 May 4;507:250-256.

Доклады на конференциях

1. Стендовый доклад, тезисы Коробкова Е.О., Беленков Ю. Н., Привалова Е. В., Кожевникова М. В. «Структурные и функциональные изменения сосудистого русла и анализ уровня нейрогуморальных маркеров у больных хронической сердечной недостаточностью и метаболическим

синдромом». Национальный конгресс Сердечная недостаточность 2018. Москва.

2. Стендовый доклад, тезисы М. Kozhevnikova, Е. Korobkova, А. Kukhareno, I. Igisonis, Е. Lartsova, D. Nagornaya, G. Shakaryants, S. Appolonova, Е. Privalova, YU. Belenkov. «Acylcarnitine profiling of patients with cardiovascular diseases». Международном Конгрессе «Heart Failure 2020», Барселона, Испания.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АГ	артериальная гипертония
АД	артериальное давление
АДМА	асимметричный диметиларгинин
АПФ	ангиотензин превращающий фермент
АРА	антагонист рецепторов ангиотензина II
АДФ	аденозиндифосфат
АТФ	аденозинтрифосфат
Ацетил-КоА	ацетилкофермент А
Б-АБ	бета-адреноблокаторы
БКК	блокаторы кальциевых каналов
БЦА	брахиоцефальные артерии головы
ВОЗ	Всемирная организация здравоохранения
ВП	времяпролетный масс-спектрометрический детектор
ВЭЖХ-МС/МС	высокого разрешения («высокоэффективная») жидкостная хроматография в сочетании с тандемным масс-спектрометрическим детектором
ГХ-МС	газовая хроматография в сочетании с масс-спектрометрией
ДАД	диастолическое артериальное давление
ДНК	дезоксирибонуклеиновая кислота
ДЭ	дисфункция эндотелия
Е/А	отношение между наполнением ЛЖ в диастолу (пик Е) и систолу предсердий (пик А)
иАПФ	ингибиторы ангиотензин превращающего фермента
ИБС	ишемическая болезнь сердца
ИМТ	индекс массы тела
ИО	индекс окклюзии по амплитуде

КДО	конечно-диастолический объем
КСО	конечно-систолический объем
КЭФ	капиллярный электрофорез
ЛЖ	левый желудочек
ЛПВП	липопротеиды высокой плотности
ЛПНП	липопротеиды низкой плотности
ЛПОНП	липопротеиды очень низкой плотности
МЖП	межжелудочковая перегородка
МКБ	мочекаменная болезнь
МРТ	магнитно-резонансная томография
МС	метаболический синдром
НАДФ	никотинамидадениндинуклеотидфосфат
НГН	нарушение гликемии натощак
НТГ	нарушение толерантности к глюкозе
ОАК	общий анализ крови
ОИМ	острый инфаркт миокарда
ОНМК	острое нарушение мозгового кровообращения
ОТ	окружности талии
ПАТ	периферическая артериальная тонометрия
РААС	ренин-ангиотензин-альдостероновая система
РНК	рибонуклеиновая кислота
САД	систолическое артериальное давление
САС	симпатоадреналовая система
СД	сахарный диабет
СКФ	скорость клубочковой фильтрации
СМАД	суточное мониторирование АД
СН	сердечная недостаточность
СОЭ	скорость оседания эритроцитов
ССЗ	сердечно-сосудистые заболевания

СФ	сдвиг фаз
СЭЖХ	сверхэффективной жидкостной хроматографии
ТЗС	толщина задней стенки
ТМЖП	толщина межжелудочковой перегородки
УЗИ	ультразвуковое исследование
ХСН	хроническая сердечная недостаточность
ЧСС	частота сердечных сокращений
ЭДТА	этилендиаминтетрауксусной кислоты
ЭКГ	электрокардиография
ЭХО-КГ	эхокардиография
ААА	aromatic amino acids, ароматические аминокислоты
Ап	индекс аугментации
Ап 75	индекс аугментации, стандартизированный на ЧСС 75 ударов в минуту
ВСАА	branched-chain amino acids, аминокислоты с разветвленными боковыми цепями
EDF	endothelium-derived factor, гиперполяризующий фактор эндотелия
GMD	Golm Metabolome Database, метаболическая база данных Глом
HMDB	Human Metabolome Database, база данных метаболома человека
NO	nitric oxide, оксид азота
NOS	nitric oxide synthase, синтаза оксида азота
OPLS-DA	orthogonal partial least squares discriminant analysis, ортогональный частичный дискриминантный анализ наименьших квадратов
PCA	principal component analysis, метод главных компонент
PLS	partial least squares, метод наименьших квадратов

SIMCA	soft independent modelling by class analogy, формальное независимое моделирование аналогии классов
-------	--