

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. ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва, Россия

МЕТАБОЛОМНОЕ ПРОФИЛИРОВАНИЕ БОЛЬНЫХ С СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ

Ключевые слова: метаболомика, метаболомное профилирование, дисфункция эндотелия, сердечно-сосудистые заболевания.

Ссылка для цитирования: 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. *Метаболомное профилирование больных с сердечно-сосудистыми заболеваниями. Кардиология. 2018;58(9):59–62.*

РЕЗЮМЕ

Сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) являются основной причиной смерти во всем мире. Широкое изучение механизмов возникновения и прогрессирования ССЗ привело к пониманию большой значимости дисфункции эндотелия (ДЭ) в этих процессах. В последние годы основная работа ведется в направлении поиска маркеров ДЭ. Интенсивно развивающимся подходом к ранней диагностике заболеваний в настоящее время является метаболомика. Метаболомный анализ на основе масс-спектрометрии позволяет исследовать полные метаболомные профили и их отклонения, возникающие в результате изменения экспрессии генов и РНК, активности белка или факторов окружающей среды. Анализ метаболомного профиля крови показывает значимые результаты в решении большого количества научных и клинических задач. Одной из них является поиск ранних маркеров ССЗ. В данной статье будут рассмотрены различные аспекты использования метаболомного профилирования при ССЗ.

Belenkov Yu. N., Privalova E. V., Kozhevnikova M. V., Korobkova E. O., Ilgisonins I. S., Kaplunova V. Yu., Shakaryants G. A., Appolonova S. A., Kuharenko A. V., Larcova E. V., Mesonzhik N. V. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia

METABOLOMIC PROFILING OF PATIENTS WITH CARDIOVASCULAR DISEASES

Keywords: metabolomics; metabolomic profiling; endothelial dysfunction; cardio-vascular diseases.

For citation: Belenkov Yu. N., Privalova E. V., Kozhevnikova M. V., Korobkova E. O., Ilgisonins I. S., Kaplunova V. Yu., Shakaryants G. A., Appolonova S. A., Kuharenko A. V., Larcova E. V., Mesonzhik N. V. *Metabolomic Profiling of Patients With Cardiovascular Diseases. Kardiologiia. 2018;58(9):59–62.*

SUMMARY

Cardiovascular diseases (CVD) are the main cause of death worldwide. A broad study of the pathogenetic mechanisms of the CVD onset and progression has led to understanding of the importance of endothelial dysfunction (ED) in these processes. During recent years intensive work has been conducted in the direction of searching for markers of ED. Metabolomics is an intensively advancing approach to early diagnostics of diseases. Metabolomic analysis based on mass spectrometry allows to study complete metabolic profiles and their deviations resulting from changes in expression of genes and RNA, protein activity, or environmental factors. Metabolomic analysis has already demonstrated significant results in the solving of different scientific and clinical problems. It appears to be a promising method for detecting early biomarkers of CVD. Various aspects of application of metabolomic profiling in the field of cardiovascular diseases are discussed in this article.

Несмотря на достигнутый в последние годы прогресс в области диагностики и лечения сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ), смертность от них в мире остается чрезвычайно высокой и, по данным Всемирной организации здравоохранения, в 2015 г. составила 31% от всех случаев смерти. В нашей стране, несмотря на отмеченное снижение смертности, ежегодно от ССЗ и их осложнений умирают около 2,5 млн человек, что составляет почти

50% от всех зарегистрированных случаев смерти. К наиболее распространенным в России ССЗ по-прежнему относятся артериальная гипертензия (АГ), а также атеросклероз и связанная с ним ишемическая болезнь сердца (ИБС) [1]. По последним статистическим данным, распространенность АГ в РФ среди взрослого населения составляет в среднем около 30% [2]. Кроме того, АГ является важнейшей составной частью метаболического

синдрома (МС), для которого кроме повышенного артериального давления характерны нарушение углеводного и липидного обмена, абдоминальное ожирение и нарушения дыхания во время сна [3]. Следует также отметить, что МС является одним из наиболее неблагоприятных прогностических факторов развития ССЗ. По данным мета-анализа, смертность среди больных с МС от ССЗ в 2 раза выше, чем у пациентов без признаков МС [4].

Недавние экспериментальные и клинические исследования в области биологии сосудистой стенки продемонстрировали тесную взаимосвязь между АГ, МС и дисфункцией эндотелия (ДЭ) [5]. Известно, что эндотелий играет важную роль в регулировании тонуса гладких мышц сосудистой стенки. Он выполняет важную секреторную и гемостатическую функции, играет решающую роль в процессах воспаления и ремоделирования сосудистой стенки. При ДЭ наблюдаются дисбаланс факторов, обеспечивающих миграцию клеток в стенку сосуда, нарушение местных процессов гемостаза и пролиферации [6]. В последнее время было проведено множество исследований роли ДЭ в развитии атеросклероза, субклинического повреждения органов-мишеней, ремоделирования сердца и сосудов (см. рисунок 1) [7]. Поэтому изучение метаболических процессов, ассоциированных с ДЭ, представляется перспективным направлением. Разработанные на основании этих данных скрининговые методики выявления ДЭ позволяют не только производить раннюю диагностику ССЗ, но также разработать рекомендации по их профилактике.

Решению этих задач помогает метаболомика – количественное изучение химических элементов организма, клетки, ткани, органа или биологической жидкости в ответ на патологические стимулы или генетические изменения. С точки зрения биологии, это систематическое изучение уникальных химических маркеров, специфичных для процессов, протекающих в живых клетках.

Основные метаболические процессы, происходящие в клетках эндотелия, – гликолиз, окисление жирных кис-

лот, цикл трикарбоновых кислот, окислительный стресс и пентозофосфатный путь [6].

Абдоминальное ожирение как компонент МС тесно связано с ДЭ, посредством прямых механизмов, производством адипокинов жировой тканью и повышением уровня свободных жирных кислот, а также косвенных, таких как инсулинорезистентность [8]. В результате гипоксии жировая ткань, в частности периваскулярная жировая ткань, секретирует большое количество реактивных форм кислорода и адипокинов, которые, в свою очередь, нарушают сигнальные пути передачи NO, образуемого из L-аргинина при участии NO-синтаз (NOS). Эти данные были подтверждены и в клиническом исследовании D.J. van der Heijden, опубликованном в 2017г. Работа продемонстрировала взаимосвязь ожирения и наличия ДЭ у больных с предположительным диагнозом ИБС. Функция эндотелия оценивалась во время постокклюзионной реактивной гиперемии с использованием периферической артериальной тонометрии, лазерной доплеровской флоуметрии и цифровой дистанционной термометрии у 108 пациентов. Была выявлена тесная взаимосвязь повышенного индекса массы тела со снижением эндотелийзависимой вазодилатации как при измерении с помощью периферической артериальной тонометрии ($r=0,23$; $p<0,02$) 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 не оказывали столь существенного влияния на эндотелийзависимую вазодилатацию [9].

В последние годы широкое распространение получила концепция персонифицированной медицины, которая способна существенно повысить качество лечения. Персонифицированная медицина рассматривается как стратегия профилактики, своевременной диагностики и лечения болезней на основе данных об индивидуальных характеристиках пациента, выявляемых с помощью современных молекулярных технологий. Метаболомика являет-

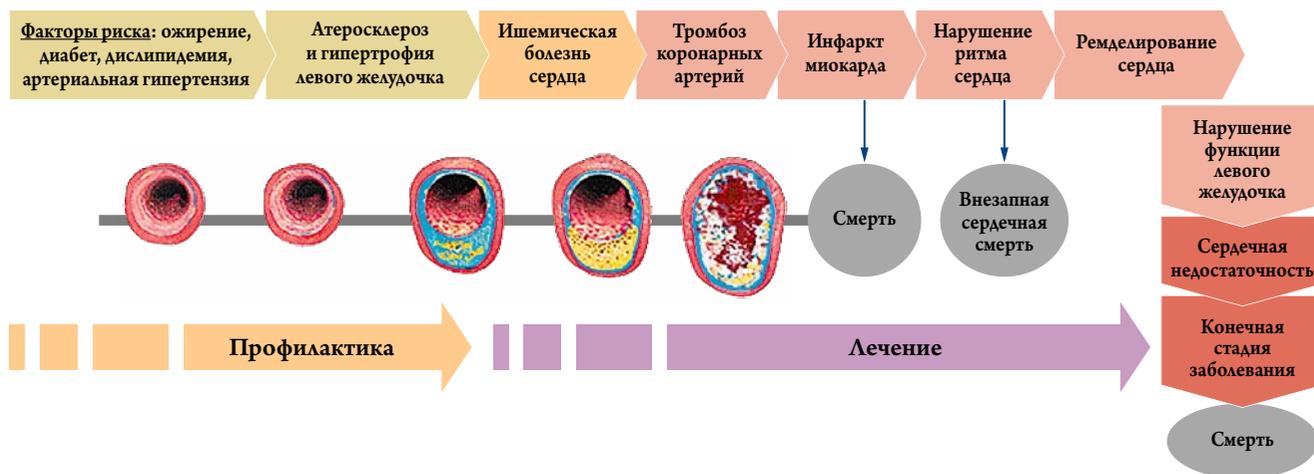


Рис. 1. Роль дисфункции эндотелия в сердечно-сосудистом континууме.

ся последней из основных, на данный момент, «омных» наук и логическим завершением в системном исследовании биологических объектов [10]. Метаболомное профилирование позволяет идентифицировать метаболические изменения, которые предшествуют необратимому повреждению органов и возникновению болезни. Таким образом, они могут помочь раннему выявлению групп лиц с высоким риском развития ССЗ. По этой причине поиск метаболитов, которые могут быть использованы в качестве клинических биомаркеров, является, вероятно, одним из наиболее интересных аспектов метаболомики. Метаболомные техники на основе масс-спектрометрии позволяют исследовать полные метаболомные профили индивидуума и их отклонения, возникающие в результате изменения экспрессии генов и РНК, активности синтеза белка или факторов окружающей среды. Метаболом человека охватывает большое количество малых эндо- и экзогенных молекул различных классов (метаболитов). Анализ метаболомного профиля крови показывает значимые результаты в решении большого количества научных и клинических задач.

Наиболее широкое применение эта методика получила в изучении атеросклероза. Одним из первых исследований по идентификации дифференциальной экспрессии биомаркеров при атеросклерозе стала работа М. Мауг и соавт. в 2005 г., в которой было обнаружено снижение отношения содержания аланина к пирувату у нокаутных по гену *ApoE* мышей. Были выявлены изменения в 79 видах различных белков на различных стадиях атерогенеза. Исследование показало, что депонирование иммуноглобулинов, окислительно-восстановительный дисбаланс и нарушение энергетического метаболизма предшествовали образованию атеросклеротической бляшки. Окислительный стресс в стенках сосуда отражался на степени окисления 1-дисульфидпероксиредуксина и коррелировал со степенью поражения атеросклерозом сосудистого русла у 12-месячных мышей без гена *ApoE*. С помощью ядерно-магнитной спектроскопии (ЯМР-спектроскопии) было обнаружено снижение содержания аланина и истощение запаса аденозинотрифосфата 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 [11]. В работе С. Stegemann и соавт. в 2011 г. был проведен анализ содержания липидов в образцах срезов тканей, полученных при эндартерэктомии. Исследовались различные классы липидов и жирных кислот, что привело к обнаружению 150 видов липидов из 9 различных классов. В исследовании участвовали пациенты с атеросклерозом различной локализации. Сравнивались также пациенты со стабильным и нестабильным течением заболевания, причем сопоставление проводилось среди пациентов, имеющих одну и ту же локализа-

цию поражения. Были выявлены 24 метаболита, которые обнаруживались только у пациентов, подвергшихся эндартерэктомии. Исследования показали, что полиненасыщенные сложные эфиры холестерина с длинноцепочечными жирными кислотами и некоторыми видами сфингомиелина содержались в более высокой концентрации в составе бляшек по сравнению с плазмой крови [12].

В области исследования атерогенеза большой практический интерес представляет исследование, проведенное в 2010 г. Х. Chen и соавт., которое продемонстрировало взаимосвязь прогрессирования атеросклероза и нарушений метаболизма жирных кислот. В это исследование были включены пациенты с атеросклерозом (n=16) и здоровые добровольцы (n=28). Проводили метаболомный анализ плазмы крови с помощью газовой хроматографии, сопряженной с масс-спектрометрической детекцией веществ. Оценка индуцированных атеросклерозом метаболических изменений жирных кислот выявила, что пальмитиновая кислота существенно ускоряет развитие атеросклероза путем апоптоза и активации компонентов воспаления. В целом, это исследование подтвердило, что развитие атеросклероза напрямую ассоциировано с нарушением метаболизма жирных кислот, особенно пальмитиновой. Таким образом, пальмитиновая кислота может быть использована как фенотипический биомаркер ранней клинической диагностики атеросклероза [13].

В настоящее время большой интерес представляет изучение метаболома при различных ССЗ с использованием целевого и нецелевого подходов. Так, М. Deidda и соавт. проводили оценку корреляции изменений метаболомного профиля с тяжестью течения сердечной недостаточности (СН) и изучали роль метаболических изменений в определении систолической дисфункции миокарда. Протонный ЯМР был проведен в 3 группах: 9 человек в контрольной группе, 9 – с СН с промежуточной фракцией выброса (ФВ) левого желудочка – ЛЖ (41,9±4%) и 15 пациентов с СН со сниженной ФВ ЛЖ (25,3±10,3%). Обнаружено, что наиболее важными метаболитами для прогнозирования тяжести течения хронической СН были 2-гидроксипутират, глицин, метилмалонат и мио-инозитол [14]. Интерес представляет также работа В. N. Zordoky и соавт., целью которой являлось исследование метаболомного профиля пациентов с СН. Сыворотку крови исследовали на 181 метаболит при помощи масс-спектрометрии и 1H-ЯМР-спектроскопии. По результатам работы у больных со сниженной ФВ ЛЖ были выявлены более высокие концентрации ацилкарнитин, карнитина, бетаина и аминокислот в сыворотке, низкие уровни фосфатидилхолинов, лизофосфатидилхолинов и сфингомиелинов. Отмечено повышение уровней ацилкарнитин, карнитин средней и длинной цепей и кетонных тел в группе пациентов с хронической СН с сохраненной ФВ ЛЖ [15]. F. Desmoulin и соавт. провели исследование метаболомного

профиля у больных с острой СН. Установлено, что повышение уровня лактата на фоне низкого уровня холестерина ассоциировалось с высокой смертностью у больных этой группы. Авторы предположили, что определение отношения лактата к холестерину может использоваться для прогнозирования течения заболевания, а также для коррекции терапевтических мер по предотвращению нежелательных клинических исходов [16].

Qian Zhong и соавт. определяли метаболомный профиль нетоксичной кадмий-индуцированной дисфункции эндотелия с использованием клеток пупочной вены человека. В ходе нецелевого метаболомного исследования идентифицировано 24 эндогенных метаболита и 7 метаболитических путей (1 – глицин, серин и треонин; 2 – циклотрикарбоновых кислот; 3 – аргинин и пролин; 4 – аланин, аспаргат и глутамат; 5 – цистеин и метионин; 6 – пириимидин; 7 – пируват), которые были значительно изменены в исследуемой культуре по сравнению с контрольной группой [17]. Это исследование позволяет предпо-

ложить, что метаболомное профилирование может быть применено для определения биомаркеров дисфункции эндотелия в клинической практике.

Таким образом, метаболомное профилирование является весьма перспективным направлением, дающим возможность поиска новых маркеров, ассоциированных с оценкой риска прогрессирования сердечно-сосудистых заболеваний. Несмотря на то что подобных работ еще немного и в них используются различные методические подходы, полученные данные представляются многообещающими. Учитывая, что дисфункция эндотелия является важным компонентом сердечно-сосудистого континуума, изучение ее механизмов, в том числе с использованием метаболомного профилирования, является важной и актуальной задачей.

Нами планируется проведение научно-исследовательской работы при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта 18-315-00135, направленное на изучение роли метаболомного профилирования в определении дисфункции эндотелия.

Information about the author:

Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia

Kozhevnikova Mariya V. – PhD.

E-mail: kozhevnikova-m@inbox.ru

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Global health estimates 2016 summary tables. http://www.who.int/healthinfo/global_burden_disease/GHE2015_YLL-2015-country.xls?ua=1
2. Общая заболеваемость взрослого населения России в 2014 году. <https://www.rosminzdrav.ru/documents/9479>
3. Metabolic syndrome. National guidelines (2013). Available from: http://www.gipertonik.ru/files/recommendation/Recommendations_metabolic_syndrome.doc. Cited Jun 27, 2018. Russian (Клинические рекомендации по метаболическому синдрому, разработанные по поручению Минздрава РФ, 2013.) http://www.gipertonik.ru/files/recommendation/Recommendations_metabolic_syndrome.doc
4. Moebus S, Stang A. The metabolic syndrome - a controversial diagnostic concept. *Herz* 2007;32 (7):529–540. DOI: 10.1007/s00059-007-3025-9
5. Godo S, Shimokawa H. Divergent roles of endothelial nitric oxide synthases system in maintaining cardiovascular homeostasis. *Free Radic Biol Med* 2017;109:4–10. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2016.12.019. Epub 2016 Dec 14.
6. Amer Sandoo, Jet J.C. S. Veldhuijzen van Zanten, George S. Metsios. The Endothelium and Its Role in Regulating Vascular Tone. *Open Cardiovasc Med J* 2010;4: 02–312. DOI: 10.2174/1874192401004010302
7. Guy Eelen, Pauline de Zeeuw, Michael Simons, and Peter Carmeliet. Endothelial cell metabolism in normal and diseased vasculature. *Circ Res* 2015;116(7):1231–1244. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.116.302855
8. Prieto D., Contreras C., Sanchez A. Endothelial Dysfunction, Obesity and Insulin Resistance. *Current Vascular Pharmacology* 2014;12(3):412–426. DOI: 10.2174/1570161112666140423221008
9. Van der Heijden D.J., Van Leeuwen M.A. H., Janssens G.N. et al. Body Mass Index Is Associated With Microvascular Endothelial Dysfunction in Patients With Treated Metabolic Risk Factors and Suspected Coronary Artery Disease. *The Journal of the American Heart Association* 2017;6(9). – pii: e006082. DOI: 10.1161/JAHA.117.006082
10. Patti G.J., Yanes O., Siuzdak G. Innovation: Metabolomics: the apogee of the omics trilogy. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2012;13 (4):263–269. DOI: 10.1038/nrm3314.
11. Mayr M., Chung Y.-L., Mayr U. et al. Proteomic and Metabolomic Analyses of Atherosclerotic Vessels From Apolipoprotein E-Deficient Mice Reveal Alterations in Inflammation, Oxidative Stress, and Energy Metabolism. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 2005;25 (10):2135–2142. DOI: 10.1161/01.ATV.0000183928.25844.f6
12. Stegeman C., Drozdov I., Shalhoub J. et al. Comparative Lipidomics Profiling of Human Atherosclerotic Plaques. *Circulation: Genomic and Precision Medicine* 2011;4:232–242. DOI: 10.1161/CIRCGENETICS.110.959098
13. Chen X., Liu L., Palacios G., et al. Plasma metabolomics reveals biomarkers of the atherosclerosis. *Journal of Separation Science* 2010;33 (17–18):2776–2783. DOI: 10.1002/jssc.201000395.
14. 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. DOI: 10.1186/s12967-015-0661-3.
15. Zordoky B.N., Sung M.M., Ezekowitz J. et al. Metabolomic Fingerprint of Heart Failure with Preserved Ejection Fraction. *PLoS ONE* 2015;10 (5).-pii: e0124844. DOI:10.1371/journal.pone.0124844
16. Desmoulin F., Galinier M., Trouillet C. et al. Metabonomics Analysis of Plasma Reveals the Lactate to Cholesterol Ratio as an Independent Prognostic Factor of Short-Term Mortality in Acute Heart Failure. *PLoS ONE* 2013;8 (4).-pii: e060737. DOI:10.1371/journal.pone.0060737
17. Zhong Q, Li X., Nong Q. et al. Metabolic Profiling in Association with Vascular Endothelial Cell Dysfunction Following Non-Toxic Cadmium Exposure. *International Journal of Molecular Sciences* 2017 18 (9):1905–1907. DOI:10.3390/ijms18091905

Поступила 24.04.18 (Received 24.04.18)