

Кожевникова М.В., Кривова А.В., Коробкова Е.О., Агеев А.А., Шестакова К.М., Москалева Н.Е., Апполонова С.А., Привалова Е.В., Беленков Ю.Н.
ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И. М. Сеченова Минздрава РФ (Сеченовский университет), Москва, Россия

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ СОДЕРЖАНИЯ ТРИПТОФАНА И МЕТАБОЛИТОВ КИНУРЕНИНОВОГО И СЕРТОНИНОВОГО ПУТЕЙ У ПАЦИЕНТОВ С АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ И ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Протокол проведения метаболомного анализа

Для оценки воспроизводимости метода готовили образцы контроля качества, представлявшие собой смесь анализируемых образцов, каждый объемом 5 мкл. Пробоподготовку биологических образцов (калибраторов или образцов контроля качества) выполняли в соответствии со следующим протоколом: к 100 мкл образца добавляли 10 мкл смеси внутренних стандартов и 400 мкл ацетонитрила. Далее полученную смесь перемешивали на вортексе и центрифугировали при 13000 об/мин в течение 10 минут. Полученную смесь в объеме 400 мкл переносили в полипропиленовые пробирки и упаривали досуха в вакуумном выпаривателе при температуре 37°C. Сухой остаток перерастворяли в 100 мкл 0,02% раствора аскорбиновой кислоты в 10% метаноле, центрифугировали и переносили в вials для последующего хромато-масс-спектрометрического анализа.

Инструментальный анализ методом высокоэффективной жидкостной хроматографии tandemной масс-спектрометрии проводили с использованием жидкостно-

го хроматографа Agilent 1200, соединенного с трехквadrупольным масс-спектрометром 6450C (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, США). Хроматографическое разделение выполняли на колонке Discovery PFP HS FS 2,1 × 150,3 мкм (Supelco Inc, США) с использованием предколонки Waters WAT084560 (Waters Inc. США). Температура колонки и скорость потока составляли 40°C и 0,4 мл/мин, соответственно. Мобильная фаза А представляла собой 0,1% раствор муравьиной кислоты, а фаза Б – ацетонитрил. Программа элюирования была следующей: 0 мин – 1% Б; 4 мин – 10% Б; 9 мин – 90% Б; 10 мин – 90% Б; 10,1 – 1% Б; 12 мин – 1% В. Масс-спектрометрическое определение выполняли в режиме положительной электроспрей ионизации. Основные параметры масс-спектрометрического определения были следующие: температура и скорость потока газа – 300°C и 8 л/мин, соответственно; газ-распылитель – 20 psi; температура оболочного газа – 300°C; скорость потока оболочного газа – 10 л/мин; напряжение на капилляре – 3500 кВ. Аналиты определяли в режиме мониторинга выбранных реакций (МВР).

Таблица 1. Основные демографические и клинические характеристики участников исследования

Параметр	Группа 1 (контроль; n=27)	Группа 2 (АГ; n=58)	Группа 3 (ИБС; n=46)	P
Мужчины, n (%)	13 (48,1)	33 (56,9)	28 (60,9)	0,943 ^a
Возраст, лет	49 (43;51)	62 (51;67)	65 (59;71)	<0,001 ^a p ₁₋₂ <0,001 ^b p ₁₋₃ <0,001 ^b p ₂₋₃ =0,009 ^b
ИМТ, кг/м ²	26,5 (24,8;28,0)	30,8 (29,1;34,4)	30,1 (26,5;33,5)	<0,001 ^a p ₁₋₂ <0,001 ^b p ₁₋₃ =0,021 ^b p ₂₋₃ =0,159 ^b
Избыточная масса тела или ожирение, n (%)	18 (66,7)	57 (98,3)	39 (84,8)	<0,001 ^a p ₁₋₂ <0,001 ^b p ¹⁻³ =0,091 ^b p ²⁻³ =0,103 ^b

Таблица 1 (продолжение). Основные демографические и клинические характеристики участников исследования

Параметр	Группа 1 (контроль; n=27)	Группа 2 (АГ; n=58)	Группа 3 (ИБС; n=46)	P
Курение, n (%)	1 (3,7)	11 (19,0)	10 (21,7)	0,092 ^a
Дислипидемия, n (%)	7 (25,9)	49 (84,5)	45 (97,8)	<0,001 ^a P ₁₋₂ <0,001 ^b P ₁₋₃ <0,001 ^b P ₂₋₃ =0,065 ^b
НТГ или СД 2 типа, n (%)	0	8 (13,79)	10 (21,7)	0,035 ^a P ₁₋₂ =0,294 ^b P ₁₋₃ <0,049 ^b P ₂₋₃ =0,499 ^b

^a – критерий Краскела–Уоллиса, ^b – критерий апостериорного попарного сравнения групп с помощью критерия Данна с поправкой Холма. Данные представлены в виде Ме (Q1 – Q3). АГ – артериальная гипертензия, ИБС – ишемическая болезнь сердца, НТГ – нарушение толерантности к глюкозе, СД – сахарный диабет, ССЗ – сердечно-сосудистые заболевания.

Таблица 2. Лабораторные и инструментальные характеристики участников исследования

Параметр	Группа 1 (контроль; n=27)	Группа 2 (АГ; n=58)	Группа 3 (ИБС; n=46)	P
Глюкоза крови, ммоль/л	5,05 (4,55;5,30)	5,50 (5,00;5,90)	5,70 (5,40;6,20)	<0,001 ^a P ₁₋₂ =0,005 ^b P ₁₋₃ =0,051 ^b P ₂₋₃ =0,944 ^b
ОХС, ммоль/л	5,31 (4,69;5,95)	5,45 (4,39;6,07)	4,69 (3,94;5,88)	0,156 ^a
ТГ, ммоль/л	1,17 (0,82;1,59)	1,33 (1,06;2,02)	1,13 (0,87;1,52)	0,090 ^a
ЛНП, ммоль/л	2,93 (2,21;3,85)	3,18 (2,36;3,67)	2,78 (1,93;3,64)	0,529 ^a
ЛОНП, ммоль/л	0,56 (0,35;0,87)	0,58 (0,48;0,87)	0,51 (0,40;0,69)	0,280 ^a
ЛВП, ммоль/л	1,60 (1,48;1,89)	1,47 (1,23;1,62)	1,50 (1,17;1,80)	0,176 ^a
Мочевая кислота, мкмоль/л	296 (257;366)	342 (281;398)	344 (270;390)	0,127 ^a
Креатинин, мкмоль/л	93,2 (85,9;99,6)	88,7 (80,8;104,0)	99,0 (90,7;107,7)	0,134 ^a
ТТГ, мкМЕ/мл	1,8 (0,7;2,2)	2,0 (1,2;2,8)	1,7 (0,9;2,3)	0,244 ^a
САД ср.сут., мм рт.ст.	115 (112;117)	129 (118;137)	132 (115;137)	<0,001 ^a P ₁₋₂ =0,066 ^b P ₁₋₃ =0,001 ^b P ₂₋₃ =0,171 ^b
ДАД ср.сут., мм рт.ст.	74 (71;79)	78 (69;88)	76 (71;86)	0,448 ^a
ЗС ЛЖ, мм	10 (9;10)	11 (10;12)	11 (10;12)	<0,001 ^a P ₁₋₂ =0,002 ^b P ₁₋₃ =0,001 ^b P ₂₋₃ =0,948 ^b
МЖП, мм	9 (8;10)	11 (10;12)	11 (10;12)	<0,001 ^a P ₁₋₂ =0,003 ^b P ₁₋₃ <0,001 ^b P ₂₋₃ =0,512 ^b
КДР, см	4,8 (4,4;5,0)	4,9 (4,6;5,0)	4,9 (4,6;5,3)	0,535 ^a
ФВ ЛЖ, %	62 (50;66)	60 (57;62)	57 (54;60)	<0,001 ^a P ₁₋₂ =0,239 ^b P ₁₋₃ <0,001 ^b P ₂₋₃ <0,001 ^b
Е/А	1,21 (1,11;1,31)	0,80 (0,68;1,10)	0,70 (0,62;1,12)	<0,001 ^a P ₁₋₂ <0,001 ^b P ₁₋₃ <0,001 ^b P ₂₋₃ =0,955 ^b

Таблица 2 (продолжение). Лабораторные и инструментальные характеристики участников исследования

Параметр	Группа 1 (контроль; n=27)	Группа 2 (АГ; n=58)	Группа 3 (ИБС; n=46)	P
ОЛП, мл	50 (42; 52)	56 (49; 62)	59 (48; 74)	<0,001 ^a p ₁₋₂ =0,067 ^b p ₁₋₃ =0,005 ^b p ₂₋₃ =0,418 ^b
ОПП, мл	48 (37;51)	50 (45;57)	51 (42;60)	0,064 ^a

^a– критерий Краскела–Уоллиса, ^b– критерий апостериорного попарного сравнения групп с помощью критерия Данна с поправкой Холма. Данные представлены в виде Ме (Q1 – Q3). АГ – артериальная гипертензия, ДАД – диастолическое артериальное давление, Е/А – отношение скоростей раннего (Е) и позднего (А) наполнения левого желудочка, ЗСЛЖ – задняя стенка левого желудочка, ИБС – ишемическая болезнь сердца, КДР – конечно-диастолический размер, ЛВП – липопротеиды высокой плотности, ЛНП – липопротеиды низкой плотности, ЛОНП – липопротеиды очень низкой плотности, МЖП – межжелудочковая перегородка, ОЛП – объем левого предсердия, ОПП – объем правого предсердия, ОХС – общий холестерин, САД – систолическое артериальное давление, ССЗ – сердечно-сосудистые заболевания, ТГ – триглицериды, ТТГ – тиреотропный гормон, ФВ ЛЖ – фракция выброса левого желудочка.