https://doi.org/10.38109/2225-1685-2021-1-106-117

ISSN 2225-1685 (Print)
ISSN 2305-0748 (Online)

*Абдуллаев А.А.[1], Абдуллаева Г.Ж.[2], Юсупова Х.Ф.[2]

МЕТАБОЛОМНЫЕ ПОДХОДЫ В ИЗУЧЕНИИ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

[1]Центр Передовых Технологий при Министерстве инновационного развития Республики Узбекистан, ул. Талабалар шахарчаси, 3А. 100174, г. Ташкент, Узбекистан
[2]Республиканский специализированный научно-практический центр кардиологии при Министерстве здравоохранения Республики Узбекистан, ул. Осие 4, 100052, г. Ташкент, Узбекистан

Сведения об авторах:
Абдуллаева Гузаль Жалолиддиновна, ведущий научный сотрудник, доктор медицинских наук, Республиканский специализированный научно-практический медицинский центр кардиологии. Ташкент, Республика Узбекистан, лаборатория артериальной гипертонии, ORCID: 0000-0003-3840-5233
Юсупова Хафиза Фуркатовна, младший научный сотрудник, Центр передовых технологий и Республиканский специализированный научно-практический медицинский центр кардиологии. Ташкент, Республика Узбекистан, лаборатория артериальной гипертонии, ORCID: 0000-0003-2266-7431
***Автор, ответственный за связь с редакцией: Абдуллаев Алишер Абдумавлянович**, заместитель директора, доктор биологических наук, Центр передовых технологий. Адрес: 100000, Узбекистан, Ташкент. Мирзо-улугбековский район, ул. Исмоилий, 2-23. e-mail: abdullaev_alisher@yahoo.com, ORCID: 0000-0002-8268-7699
Работа выполнена в Центре передовых технологий Ташкент, Республика Узбекистан.

АННОТАЦИЯ

Современные научные достижения дают клиницистам преимущество в использовании дополнительных инструментов и методов оказания помощи в клинической оценке и расширения их возможностей для классификации пациентов по факторам риска сердечно-сосудистых осложнений. Биомаркеры – это простой инструмент, позволяющий идентифицировать и классифицировать людей с различной степенью риска, быстро и точно диагностировать состояние болезни, эффективно прогнозировать и контролировать лечение. Следовательно, изучение биомаркеров является серьезным и перспективным подходом к пониманию и лечению ССЗ. Среди них особое место занимают генетические и биохимические маркеры. Кардио-метаболомика является новой наукой, которая позволяет исследователям изучать изменения в метаболоме и метаболических сетях, при заболеваниях сердечно-сосудистой системы, чтобы лучше понять их патофизиологический механизм. Таким образом, изучение метаболома может дать важную информацию о патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний, а также предложить возможность выявления новых биомаркеров ССЗ.

Ключевые слова: биомаркеры, метаболомика, омикс, сердечно-сосудистые заболевания, гипертрофия сердечной мышцы, сердечная недостаточность

Вклад авторов. Все авторы соответствуют критериям авторства ICMJE, принимали участие в подготовке статьи, наборе материала и его обработке.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

✉ ABDULLAEV_ALISHER@YAHOO.COM

Для цитирования: Абдуллаев А.А., Абдуллаева Г.Ж., Юсупова Х.Ф. Метаболомные подходы в изучении сердечно-сосудистых заболеваний. Евразийский кардиологический журнал. 2021;(1):106-117, https://doi.org/10.38109/2225-1685-2021-1-106-117

Рукопись получена: 12.05.2020 | **Рецензия получена:** 20.08.2020 | **Принята к публикации:** 29.01.2021

© Абдуллаев А.А., Абдуллаева Г.Ж., Юсупова Х.Ф.

https://doi.org/10.38109/2225-1685-2021-1-106-117

ISSN 2225-1685 (Print)
ISSN 2305-0748 (Online)

*A.A. Abdullaev[1], G.J. Abdullaeva[2], Kh.F. Usupova[2]

METABOLOMIC APPROACHES IN STUDYING OF CARDIOVASCULAR DISEASES

[1]Center for Advanced Technologies, Ministry of Innovative Development of Uzbekistan. Tashkent, Republic of Uzbekistan, 100174;
[2]Republican Specialized Scientific-Practical Medical Center of Cardiology at Ministry of Health, Tashkent, Republic of Uzbekistan, 100052

Information about authors:
Guzal J. Abdullaeva, Cand. of Sci. (Med.), Artherial Hypertension Laboratory, Republican Specialized Scientific and Practical Medical Center of Cardiology. Osie 4 street, 100052, Tashkent, Uzbekistan, ORCID: 0000-0003-3840-5233
Hafiza F. Usupova, MSc., Center for Advanced Technologies and Republican Specialized Scientific and Practical Medical Center of Cardiology. Tashkent, Uzbekistan, ORCID: 0000-0003-2266-7431
***Author, responsible for communication with the editors: Alisher A. Abdullaev**, Prof., Dr. of Sci. (Bio.), Biotechnology Laboratory, Center for Advanced Technologies, Ministry of Innovative Development of Uzbekistan, deputy director. Talabalar shaharchasi street 3A, 100174, Tashkent, Uzbekistan, email: abdullaev_alisher@yahoo.com, ORCID: 0000-0002-8268-7699

ANNOTATION

Modern scientific approaches give clinicians an advantage in using additional tools and methods for assisting in clinical assessment and expanding their capabilities for classifying patients according to risk factors for cardiovascular complications. Biomarkers are a simple tool that allows to identify and classify people with different risk degree, quickly and accurately diagnose the condition of the disease, effectively predict and control treatment. Therefore, the identification and study of biomarkers is a serious and promising approach to understanding and treating cardiovascular diseases (CVD). Among a wide range of biomarkers, the genetic and metabolic markers is of high importance. Cardio-metabolomics is a new direction in cardiovascular science that allows researchers to study changes in metabolome and metabolic networks in diseases of the cardiovascular system in order to better understand their pathophysiological mechanism. Thus, the study of metabolome can provide important information about the pathogenesis of CVDs, as well as offer the possibility of identifying new CVD biomarkers.

Keywords: biomarkers, metabolomics, omics, cardiovascular diseases, cardiac muscle hypertrophy, heart failure

Authors' contributions. All authors meet the ICMJE criteria for authorship, participated in the preparation of the article, the collection of material and its processing.

Conflict of Interest. The author declares no conflict of interest.

✉ ABDULLAEV_ALISHER@YAHOO.COM

For quotation: Alisher A. Abdullaev, Guzal J. Abdullaeva, Hafiza F. Usupova. Metabolomic approaches in studying of cardiovascular diseases. Eurasian heart journal. 2021;(1):106-117 (In Russ.)]. https://doi.org/10.38109/2225-1685-2021-1-106-117

Received: 12.05.2020 | **Revision Received:** 20.08.2020 | **Accepted:** 29.01.2021

© Alisher A. Abdullaev, Guzal J. Abdullaeva, Hafiza F. Usupova

ВВЕДЕНИЕ

Сердечно-сосудистая патология является серьезной проблемой для здоровья, затрагивающей миллионы людей во всем мире, характеризующаяся высоким уровнем смертности, особенно у пожилых людей, сложным прогнозом и ухудшением качества жизни больных. Сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) имеют тенденцию переходить в хроническую форму и приводить к осложнениям, влияющим на такие жизненно важные органы, такие как сердце, мозг и почки. По данным ВОЗ ССЗ во всем мире идут первыми в списке причин смерти: каждый год от ССЗ умирает больше людей, чем от любой другой причины (в 2016 году зафиксировано 17,9 миллиона смертей или свыше 31% всех смертей в мире), причем четыре из 5 смертей от ССЗ вызваны инфарктом или инсультом, а одна треть смертей приходится на людей младше 70 лет [1].

Известно, что клиническое обследование является основой при работе с пациентами, однако такое обследование имеет определенные ограничения [2, 3]. Современные научные достижения дают клиницистам преимущество в использовании дополнительных инструментов и методов оказания помощи в клинической оценке и расширения их возможностей для классификации пациентов по степени их уязвимости к ССЗ [4]. Биомаркеры – это простой инструмент, позволяющий идентифицировать и классифицировать людей с различной степенью риска, быстро и точно диагностировать состояние болезни, эффективно прогнозировать и контролировать лечение. Следовательно, изучение биомаркеров является серьезным и перспективным подходом к пониманию и лечению ССЗ.

Метаболомика – новая эра в кардиологии

К биомаркерам относится широкий спектр характеристик, который используется в качестве индикатора состояния всего организма. Среди них особое место занимают генетические и биохимические маркеры. Согласно Базе-данных метаболома человека HMDB (The Human Metabolome Database, https://hmdb.ca), по крайней мере 114190 низкомолекулярных биохимических маркеров – метаболитов существуют у людей, и эти метаболиты играют различные важные роли в биологических системах в дополнение к белкам и генам [5]. Совокупность всех метаболитов в клетке, ткани, органе или целом организме является конечным продуктом клеточных процессов и представляет собой метаболом. Направление науки, занимающееся систематическим изучением профилей (профилирование) низкомолекулярных метаболитов в связи со специфическими клеточными процессами называется Метаболомикой.

Метаболомика является одной из новейших наук, входящих в систему «омикс» (название происходит от окончаний их названий на английском языке – genomics, proteomics, metabolomics и т.д.) (рис. 1). До широкого применения метаболомики ученые пытались исследовать метаболические изменения как физиологических, так и патологических состояний, при помощи протеомики или транскриптомики, но эти методы имеют ряд ограничений. Например, в случае возникновения заболевания изменение в протеоме или транскриптоме происходит значительно медленнее, чем изменения в метаболоме [6]. Данные об экспрессии генов посредством мРНК и протеомный анализ не всегда рассказывают о том, что происходит в клетке. Профилирование метаболитов, в свою очередь, показывает изменения как в протеоме, так и в геноме, и представляет собой более точное приближение к фенотипу организма в норме и при патологии. Схематическое представление взаимосвязей генома, транскриптома, протеома и метаболома представлено на рисунке 1.

Небольшие биохимические вещества являются конечным результатом всей цепи регуляторных изменений, возникающих в ответ на физиологические стрессоры, болезненные процессы или лекарственную терапию.

Профилирование низкомолекулярных метаболитов особенно актуально для изучения патофизиологии ССЗ. Помимо использования в качестве биомаркеров, циркулирующие метаболиты могут сами участвовать в качестве регуляторных сигналов, таких как контроль артериального давления.

Метаболом как понятие впервые было предложено в 1998 году [7]. С тех пор количество работ в области исследования

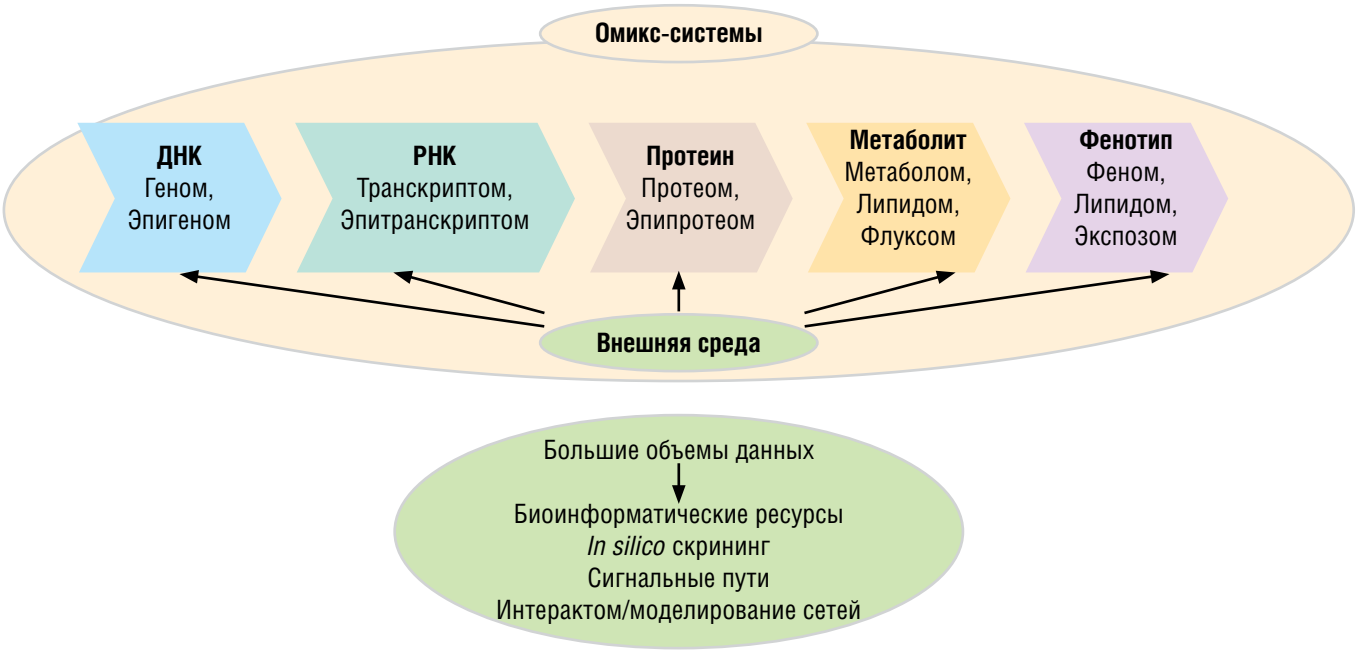

Рисунок 1. Омикс-системы. Постгеномная эра ознаменована появлением других омикс-систем, нацеленных на выявление, изучение и изменение клеточных компонентов, их путей и взаимодействий при различных состояниях, в том числе патологических
Figure 1. Omics. The post-genomic era was marked by the emergence of other omics-systems aimed at identifying, studying and changing cellular components, their pathways and interactions in various conditions, including pathological ones

метаболома и метаболомики в целом достигло несколько десятков тысяч.

Первая работа, где упоминается метаболомный анализ как метод идентификации определенного метаболитного профиля в связи с сердечно-сосудистым заболеванием человека, была опубликована в 2005 году [8]. Если внести в поиск по базе данных PubMed два ключевых слова «metabolomics» и «cardiovascular», то становится видно, что за последние десять лет количество публикаций в этой области выросло более чем в 10 раз – с 34 в 2010 году до 362 в 2019 году (рис. 3). Таким образом, видно, что интерес ученых и клиницистов в изучении метаболома в связи с различными аспектами сердечно-сосудистых заболеваний неуклонно растет.

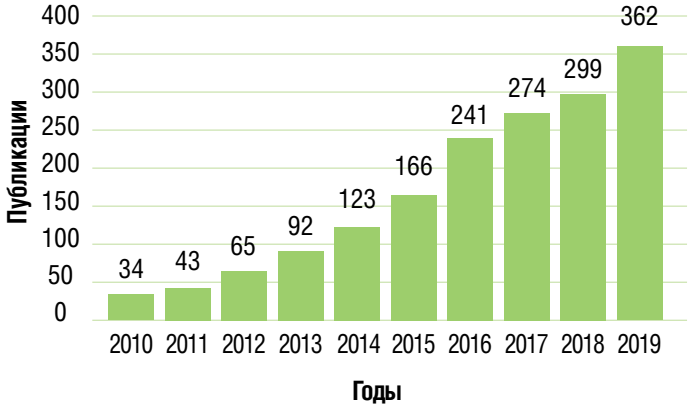

Рисунок 3. Результаты поиска в базе данных PubMed работ по матаболомике сердечно-сосудистых заболеваний
Figure 3. PubMed search results of studies on matabolomics of cardiovascular diseases

Кардио-метаболомика является новой наукой, которая позволяет исследователям изучать метаболические сети, участвующие в заболеваниях сердца, чтобы лучше понять их патофизиологический механизм. Griffin et al. подчеркнул, как классические методы исследования, используемые в метаболомике могут быть применены в кардиологии. Такие методы как спектроскопия ядерно-магнитного резонанса высокого разрешения (ЯМР) и масс-спектрометрия (МС) чрезвычайно полезны для получения информации о процессах, происходящих при сердечных заболеваниях, так как оба метода являются высокоточными для ряда патологических процессов, от ишемии (стенокардия и инфаркт миокарда) до сердечной недостаточности [9]. Важно, что для этих методов можно использовать не только сердечную ткань, но и биологические жидкости, такие как кровь, слюна и моча.

Раньше считалось, что количество метаболитов относительно мало по сравнению с другими молекулярными составляющими, но по мере развития технологий метаболомики широта измеряемых метаболитов экспоненциально расширяется [10]. Хотя генетические различия в популяциях существуют при рождении, профилирование метаболома обеспечивает исследователя достаточными данными для интеграции геномных, эпигеномных, транскриптомных и протеомных вариаций, более того метаболом реагирует на такие внешние факторы, как потребление пищи, изменение кишечной микробиоты, физическая активность и воздействие окружающей среды (Рис.1). Таким образом, изучение метаболома может дать важную информацию о патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний, а также предложить возможность выявления новых биомаркеров ССЗ.

Американская Кардиологическая Ассоциация (АНА) выпустила релиз, обобщающий клиническое применение метаболомики при сердечно-сосудистых заболеваниях [11]. Помимо возможности измерения изменений концентрации метаболитов в крови и органах, метаболомика может дать комплексное представление о метаболических нарушениях всего тела при различных болезненных состояниях, обеспечивая, таким образом, ключевое понимание патофизиологии ССЗ. Кроме того, путем сочетания и интеграции метаболомных данных с данными других «омик», можно выяснить функциональные последствия и молекулярную основу метаболических нарушений, связанных с ССЗ.

Гипертрофия сердечной мышцы

Поскольку сердце при многих ССЗ подвержено гипертрофии, оно должно изменить свой метаболизм, чтобы поддержать процесс роста сердечной мышцы. Метаболомные исследования выявили, что этот процесс значительно варьируется в зависимости от физиологических условий. Например, гипертрофия сердца возникает в ответ на регулярные физические нагрузки (физиологическая гипертрофия), а также в результате хронических гемодинамических стрессов (патологическая гипертрофия). Хотя структура сердца очень похожа при этих двух состояниях, но имеет различные молекулярные и метаболические профили, которые запускают основные программы роста сердечной мышцы. Так, исследования продемонстрировали ускоренный гликолиз при патологической гипертрофии сердца, который с тех пор стал отличительным признаком метаболического ремоделирования в этом состоянии [12]. Ускоренный гликолиз сопровождается низкими показателями окисления жирных кислот с длинной цепью,

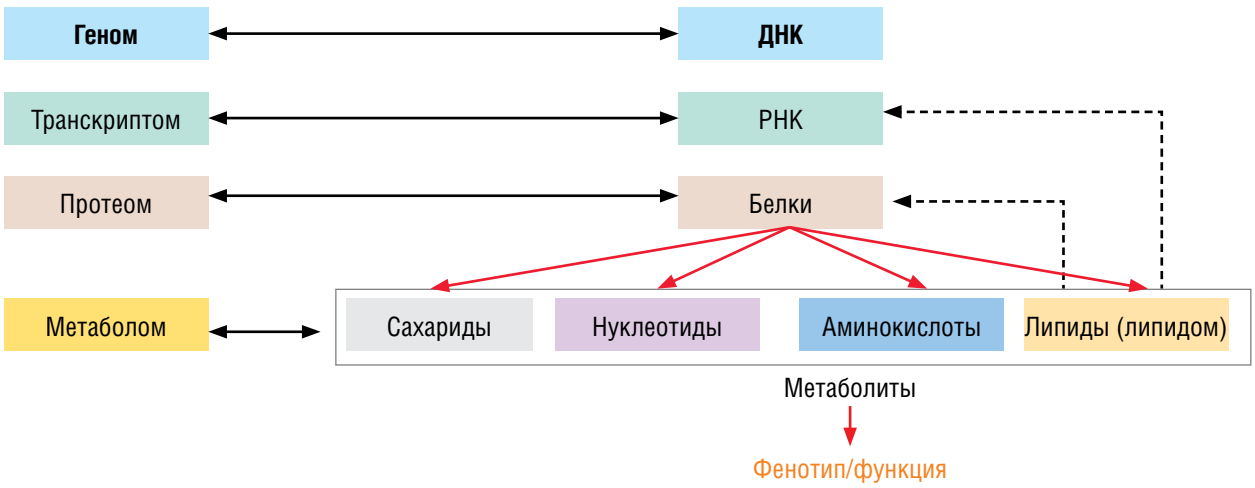

Рисунок 2. Общая схема взаимосвязей генома, транскриптома, протеома и метаболома
Figure 2. General scheme of interrelationships between genome, transcriptome, proteome and metabolome.

тогда как скорости окисления жирных кислот со средней длиной цепи не снижаются. В отличие от патологической гипертрофии сердца, в физиологически гипертрофированной мышце сердца окисление длинноцепочечных жирных кислот и скорость окисления глюкозы увеличиваются, а показатели гликозилирования снижены [13].

Например, у мышей 8-недельная программа тренировок на основе ночного бега на колесах привела к 10% увеличению бивентрикулярного веса по сравнению с контрольной группой без физической нагрузки. При этом, минимальные различия были замечены в профилях экспрессии генов, в сердцах тренированных и контрольных животных. Тем не менее, были отмечены значительные изменения в профилях метаболитов, которые измерялись целевым количественным методом ЖХ-МС/МС, включая снижение ацилкарнитинов, сукцината и лактата, что свидетельствует об увеличении потока углерода через окислительные метаболические пути [14]. Отсутствие изменений экспрессии генов и различия в метаболитах, вероятно, отражают различия в посттрансляционной модификации или аллостерической регуляции ключевых метаболических ферментов. В том же исследовании патологическая гипертрофия сердца была достигнута с за счет аортального стеноза (АС) у мышей. Мыши с АС претерпели перепрограммирование генов, с усилением экспрессии генов, отвечающих за гипертрофический рост и воспаление, и выключением генов транспорта и окисления жирных кислот. Аналогичная картина в изменении экспрессии генов наблюдается при инфаркте.

Другое исследование аналогичным образом использовало профилирование экспрессии генов и метаболомику для характеристики метаболических изменений, которые происходят во время перехода от сердечной гипертрофии к сердечной недостаточности у крыс, чувствительных к соли [15]. Хотя крысы, получавшие рацион с высоким содержанием соли, показали увеличение потребления глюкозы в сердце по сравнению с контролем не было значительных изменений в экспрессии генов гликолиза, окисления жирных кислот, цикла АС, метаболизма нуклеотидов или генов метаболизма аминокислот. Однако после перехода к сердечной недостаточности произошло значительное подавление генов окисления жирных кислот и генов-регуляторов транскрипции окисления жирных кислот и митохондриальной функции, таких как PPARα (альфа-рецептор, активируемый пролифератором пероксисом) и гамма-коактиватор, активируемый пролифератором пероксисом 1-альфа. Более того, метаболомика показала, что в сердечной мышце с нарушенной функцией сердца наблюдается снижение интермедиатов цикла АС и активация связанного с гликолизом пентозофосфатного пути, который регулирует окислительно-восстановительное состояние клеток путем поддержания пониженных уровней глутатиона.

Хотя более ранние исследования также показали положительную регуляцию пентозофосфатного пути при патологической гипертрофии сердца [16, 17], поздние исследования не смогли продемонстрировать изменение ферментов, связанных с пентозофосфатным путем в гипертрофированных сердцах [18, 19], поэтому точная роль этого пути, который обеспечивает альтернативную судьбу гликолитических интермедиатов остается неизвестной [20].

Сердечная недостаточность

Число пациентов с сердечной недостаточностью (СН) неуклонно растет, и во многих странах это заболевание стало серьезной проблемой здравоохранения. Патогенез СН сложен, и простыми методами невозможно описать всю картину, однако в патогенезе СН сердечный метаболизм является одним из наиболее важных факторов [21]. Сердце – это уникальный орган, предназначенный для непрерывной работы в качестве «насоса», снабжающего организм кровью. Чтобы удовлетворить эту потребность, миокард использует огромное количество АТФ. Сообщается, что полный оборот пула АТФ миокарда происходит в течение 10 секунд, что приводит к циркуляции примерно 6 кг АТФ в день, и сердце проявляет метаболическую гибкость для удовлетворения этой чрезвычайно высокой потребности в энергии [22]. В нормальных условиях более 95% АТФ, потребляемого в сердце, генерируется окислительным фосфорилированием в митохондриях, в то время как гликолиз ответственен приблизительно за 5%, а цикл трикарбоновых кислот - за остаток. Таким образом, метаболизм жирных кислот генерирует большую часть АТФ, необходимого для сердца, а остальное вырабатывается окислением глюкозы, лактата, кетоновых тел и аминокислот [23]. Хорошо известно, что использование жирных кислот снижается при СН и происходит метаболический сдвиг к образованию АТФ из глюкозы. Такое метаболическое ремоделирование считается разумным, потому что СН связана с гипоксией, и выработка АТФ на атом кислорода более эффективна при потреблении глюкозы по сравнению с жирными кислотами. У пациентов с прогрессирующей СН сердце не может использовать ни один из метаболитов и, в результате, заканчивается «топливо» [24]. Сообщается, что уровень АТФ приблизительно на 30% ниже при СН по сравнению с нормой [25].

Патологическое структурное ремоделирование, такое как гипертрофия сердечной мышцы приводит к хорошо описанному перепрограммированию метаболических путей сердца, и, как следствие, к общей повышенной зависимости от метаболизма глюкозы (повышенное поглощение глюкозы и гликолиз) с уменьшением окисления жирных кислот. На уровне транскрипции изменения экспрессии метаболических генов в гипертрофированном сердце напоминают изменение метаболического созревания, которое происходит при переходе от сердца плода к взрослому сердцу. Таким образом, многие описывают метаболические изменения, возникающие при гипертрофии сердца и, в конечном счете, СН, как возврат к метаболической программе плода. Важно отметить, что эти метаболические изменения часто предшествуют структурным изменениям сердца при сердечной недостаточности, что позволяет предположить, что метаболическое перепрограммирование представляет собой раннее событие в патогенезе сердечной недостаточности [26].

Хотя переход от окисления жирных кислот к утилизации глюкозы может облегчить гипертрофию сердечной мышцы и обеспечить раннюю адаптацию сердца к гемодинамическим стрессам, длительная зависимость от глюкозы, вероятно, приводит к конечному состоянию истощения АТФ и биоэнергетического голодания, поскольку гипертрофия сердца развивается до выраженной сердечной недостаточности [12, 24].

Более того, во время перехода от гипертрофии сердца к СН количество и функция митохондрий постепенно снижается, что приводит к общему снижению окислительного метаболизма большинства видов энергии клетки и распространению энергетического дефицита [27]. Это было продемонстрировано в работе, которая включала исследование экспрессии генов и белков в сочетании с анализом метаболома в тканях пациентов с конечной стадией СН и с кардиостимулятором левого желудочка. По сравнению с сердечной мышцей людей, не страдающих СН, миокард больных с СН показал общее снижение окисления субстрата и митохондриальной функции. Эти молекулярные изменения были частично приведены в исходное состояние после 55-дневной разгрузки желудочков при поддержке стимулятора левого желудочка [28].

В течение последних нескольких десятилетий исследования метаболических изменений, происходящих во время сердечной недостаточности, были в основном сосредоточены на изменениях метаболизма жирных кислот и глюкозы. Учитывая, что эти 2 субстрата обеспечивают сердцу большую часть энергии у здо-

ровых и больных, на них было сконцентрировано основное внимание. Тем не менее, данный подход, основанный на гипотезах, не учитывал другие метаболические пути в ослабевшем сердце. Молекулярное профилирование дает более глобальный взгляд на изменения, происходящие при СН, и позволяет обнаружить неоцененные ранее биологические пути, которые способствуют патогенезу заболевания. Таким образом, метаболомика недавно помогла выяснить новые основные патофизиологические механизмы при СН. На рисунке 4 представлены метаболические пути и метаболиты, концентрация которых увеличивается или уменьшается в сердце или в кровотоке при СН.

В другом исследовании использовалась комбинация методов ЖХ-МС / МС и ГХ-МС для обеспечения объективной оценки метаболических изменений при АС и инфаркт-ассоциированной сердечной недостаточности у мышей [29]. Они обнаружили, что оба состояния приводили к значительным изменениям (до 40%) 288 измеренных метаболитов. Отмечалось временное снижение уровня некоторых метаболитов, таких как пурины, ацилкарнитины, жирные кислоты и сфинголипиды, что указывает на масштабный эффект энергетического обмена с сопутствующим увеличением маркеров окислительного стресса. Кроме того, отмечено накопление аминокислот с разветвленной цепью (BCAA) в сердцах с нарушениями, что было связано с резистентностью миокарда к инсулину. После этого, в нескольких дополнительных исследованиях использовались интегрированные метаболомные подходы для оценки вклада сердечного метаболизма BCAA в СН.

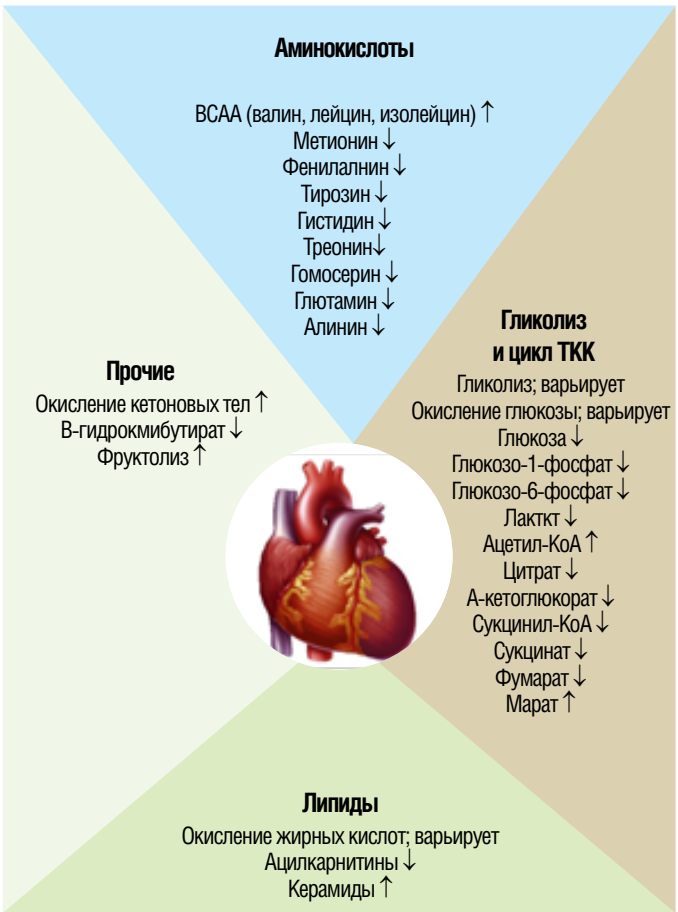

Рисунок 4. Метаболические пути и метаболиты, концентрация которых увеличивается или уменьшается в сердце или кровотоке при СН. BCAA – аминокислоты с разветвленной цепью, ТКК – трикарбоновые кислоты
Figure 4. Metabolic pathways and metabolites, the concentration of which increases or decreases in the heart or bloodstream in HF. BCAA – branched-chain amino acids, TCA – tricarboxylic acids

Например, транскриптомику и метаболомику на основе ЖХ-МС / МС и ГХ-МС применили к модели, АС-индуцированной СН у мышей, чтобы выявить скоординированное подавление катаболического пути BCAA при СН, с соответствующим накоплением в ткани и кровотоке BCAA и α-кетокислоты с разветвленной цепью [30].

Подобные изменения транскрипции и метаболитов наблюдались в тканях сердца и плазме у пациентов с СН. Фармакологическое лечение для усиления катаболизма BCAA в сердце приводило к задержке прогрессирования СН у мышей с АС, что свидетельствует о том, что подавление сердечного пути BCAA может способствовать патогенезу СН. С тех пор аналогичные результаты были продемонстрированы на моделях мышей с СН индуцированной инфарктом миокарда (ИМ). В дополнение к возрастающей роли BCAA в метаболизме при СН, в недавних исследованиях использовали стратегию метаболомики и других «омикс» для демонстрации роли метаболизма кетонов при СН. Протеомный подход на модельных мышах с патологической гипертрофией (АС) и СН (АС плюс ИМ) показал, что в дополнение к ожидаемой понижающей регуляции белков, участвующих в окислении жирных кислот, была одновременная активация ключевых ферментов, участвующих в окислении кетонов [31].

В отдельном исследовании сердечной недостаточности у человека, использовали метод несмещенного липидомного профилирования и целевой количественной метаболомики для исследования миокарда пациентов с СН на конечной стадии [32]. Это исследование также представило свидетельства нарушения окисления жирных кислот в миокарде с увеличением метаболитов образующихся после окисления кетонов, с одновременной активацией ключевых ферментов, вовлеченных в механизм окисления кетонов. Однако не ясно, является ли повышенная зависимость от кетонов для получения энергии при сердечной недостаточности адаптивным или неадаптивным процессом [33].

В связи с трудностями, связанными с получением образцов ткани миокарда, в исследованиях метаболизма людей с СН, обычно анализируются метаболиты в сыворотке или плазме [34]. Таким образом, результаты отражают общий системный метаболизм при СН, а не сердечный метаболизм как таковой. Поскольку СН вызывает широко распространенные изменения в системном метаболизме, изменения циркулирующих метаболитов при СН часто отражают метаболические изменения в периферических тканях в дополнение к тем, которые происходят в сердце [34]. Действительно, вызванные при СН изменения в периферическом метаболизме считаются неотъемлемой частью патогенеза СН и прогрессирования болезни [35]. Несколько метаболомных исследований выявили важность циркулирующих длинноцепочечных ацилкарнитинов как метаболитных маркеров при сердечной недостаточности. Например, используя количественный метаболомный анализ при помощи ЖХ-МС / МС, было выявлено, что длинноцепочечные ацилкарнитины в значительной степени связаны с сердечно-сосудистыми исходами в клиническом исследовании у людей с СН со сниженной фракцией выброса. [36].

Более того, эти виды ацилкарнитина были также значительно увеличены в кровотоке у людей с конечной стадией СН со сниженной фракцией выброса и уменьшились после разгрузки желудочков с имплантацией вспомогательного устройства левого желудочка [36]. Хотя для выявления причин, вызывающих образование в кровотоке этих видов ацилкарнитина необходимо провести дополнительные исследования, считается, что они отражают возможные системные нарушения окисления жирных кислот и митохондриальную дисфункцию.

Липидомика – это раздел метаболомики (рис. 2.), который изучает различные виды липидных молекул, а также предоставляет

ценную информацию о биомаркерах и патогенезе заболеваний, связанных с нарушением обмена веществ и сердечно-сосудистых заболеваний [37]. Например, благодаря липидомике было выявлено, что кардиолипин, являющийся важным липидным компонентом внутренней мембраны митохондрий и обеспечивающий функционирование многих митохондриальных белков, активно ремоделируется во время прогрессирования ССЗ, таких как СН [38, 39]. Кардиолипин, вероятно, имеет огромное значение при сердечной дисфункции, связанной с сахарным диабетом. Анализ липидома сердечной мышцы у мышей с диабетом, показал истощение кардиолипина и его предшественников, а также ферментов в метаболическом пути кардиолипина, что может привести к митохондриальной дисфункции, наблюдаемой в диабетическом миокарде [40]. Кроме того, делеция гена, кодирующего фермент, который ремоделирует кардиолипин, предотвращает возникновение ожирения, вызванного диетой, и улучшает функцию митохондрий печени и окисление липидов у мышей [41].

Ишемия и инфаркт миокарда

Внезапное снижение содержания кислорода и питательных веществ, наблюдаемое при ишемии миокарда и инфаркте, приводит к хорошо описанным изменениям сердечного метаболизма, в частности, при окислении жирных кислот и глюкозы [42, 43, 44]. Кроме того, внезапное повторное введение кислорода и питательных веществ во время реперфузии приводит к образованию в митохондриях активных форм кислорода, которые могут привести к окислительному повреждению и, в конечном итоге, к гибели клеток. В результате метаболомных исследований выявлено, что продукция активных форм кислорода в митохондриях, ранее считавшейся неспецифическим ответом на реперфузию в ишемической ткани, регулируется с помощью уровней сукцината в тканях [45]. Использование сравнительной метаболомики in vivo на мышах со смоделированным ишемически-реперфузионным повреждением (в мозге, почках, сердце и печени) обнаружило, что сукцинат накапливается в каждой ишемической ткани, а окисление сукцината во время реперфузии приводит к накоплению активных форм кислорода в митохондриях и их повреждению. Таким образом, модуляция метаболизма сукцината во время реперфузии может предложить действенный подход к снижению ишемии-реперфузионного повреждения.

Метаболомные исследования применяли при изучении сердечного метаболизма BCAA в энергетике миокарда и ишемическо-реперфузионном повреждении. Генетически сконструированная мышиная модель с нарушенным катаболизмом BCAA во всем организме (нокаут фермента PPM1K) показала снижение окисления глюкозы примерно на 50% и обратное увеличение окисления жирных кислот в перфузированных сердцах (в сердечной мышце после реперфузии). Эти изменения в выборе топлива были связаны со снижением поглощения глюкозы в сердце, а также с предполагаемым BCAA-опосредованным ингибированием пируватдегидрогеназы, которая контролирует поступление пирувата в митохондрии и, таким образом, регулирует окисление глюкозы. Кроме того, сердечная мышца у нокаутированных животных имела обостренное ишемически-реперфузионное повреждение по сравнению с контрольной группой, которое было смягчено либо усиленным катаболизмом BCAA, либо усиленным окислением глюкозы [46]. Хотя эти данные свидетельствуют о прямом взаимодействии BCAA и метаболизма глюкозы, необходимы дальнейшие исследования, чтобы полностью понять предполагаемые механизмы, вовлеченные в этот процесс.

В дополнение к новому пониманию метаболического контроля ишемии и реперфузионного повреждения на животных моделях, метаболомика также использовалась для описания метаболических изменений при ишемии и инфаркте миокарда у людей. Метаболомный анализ на основе ЖХ-МС/МС проводили на плазме у 36 человек до и после стрессовой физической нагрузки, у 18 из которых была индуцированная ишемия, а у 18 – нет. Анализ путей 173 измеренных метаболитов выявил значительные изменения 6 метаболитов, связанных с циклом лимонной кислоты, у лиц с индуцированной ишемией. Затем исследователи разработали критерии оценки риска метаболической ишемии с использованием этих 6 метаболитов и показали, что они могут надежно различать лиц с индуцибельной ишемией [8]. Эта же группа исследователей пыталась выявить новые метаболитные маркеры повреждения миокарда у 36 человек, перенесших спонтанный инфаркт миокарда, развивающийся при проведении процедуры иссечения межжелудочковой перегородки для лечения гипертрофической обструктивной кардиомиопатии. Образцы крови отбирали как с периферии, так и из коронарного синуса во время процедуры. Пациенты, которым проводилась диагностическая катетеризация сердца, и пациенты со спонтанным инфарктом миокарда были использованы в качестве отрицательного и положительного контролей соответственно. В результате, изменения в некоторых метаболитах, включая определенные аминокислоты, продукты метаболизма пиримидина и пентозофосфатного пути, наблюдались уже через 10 минут после развития инфаркта как в коронарном синусе, так и в периферической крови. Эти метаболиты были впоследствии использованы для дифференциации с высокой точностью лиц, направляемых на коронароангиографию для выявления риска спонтанного инфаркта миокарда у тех, кто будет проходить эту диагностическую процедуру.

Как известно, коронарный атеросклероз (КАС) лежит в основе патогенеза ишемической болезни сердца. Это заболевание не всегда выявляется на ранних стадиях, пока у пациента не возникнет серьезная закупорка сосудов. Таким образом, новые биомаркеры для надлежащей и своевременной диагностики ранних стадий КАС необходимы для скрининга и своевременного начала терапии. В исследовании, проведенном китайскими специалистами, использовали нецелевой метаболомный подход для выявления потенциальных биомаркеров, которые могли бы обеспечить высокочувствительное и специфическое обнаружение КАС. Было показано, что по сравнению с контрольной группой отмечена значительная метаболическая дисфункция в метаболизме фосфолипидов, сфинголипидов и жирных кислот. Кроме того, из 24 выявленных метаболитов, 9 могут быть использованы в качестве комбинаторного биомаркера для клинической диагностики, чтобы отличить пациентов с ранней стадией КАС [47].

Кардиометаболические нарушения

Неудивительно, что за последнее десятилетие метаболомика значительно продвинулась в понимании некоторых метаболических нарушений [48]. Одним из наиболее важных наблюдений была связь BCAA и родственных метаболитов (включая катаболические интермедиаты BCAA и ароматические аминокислоты (фенилаланин и тирозин) с резистентностью к инсулину и сахарным диабетом 2 типа. Хотя связь BCAA и ожирения, и секреции инсулина была впервые описана в 1960-х годах [49], метаболомика позволила гораздо глубже понять эти ассоциации. Например, при использовании таргетного подхода МС/МС метаболитный фактор BCAA способен лучше различать худых и страдающих ожирением индивидуумов, а также он более тесно связан с маркерами инсулинорезистентности, чем метаболиты, связанные с липидами, которые ранее считались движущими факторами ожирения при гомеостазе глюкозы [50]. Кроме того, диета с высоким содержанием жиров и BCAA способствовало резистентности к инсулину у крыс, независимо от увеличения массы тела, предполагая причинный эффект BCAA в опосредовании этого процесса [50], тогда как ограничение BCAA у генетически измененных модельных

мышей с ожирением улучшало чувствительность к инсулину [51]. Это открытие подвигло исследователей провести несколько дополнительных исследований с использованием различных метаболомных платформ среди разных когорт людей. В результате этих исследований, ученые не только подтвердили связь BCAA с инсулинорезистентностью [52, 53, 54, 55], но также показали, что BCAA прогнозирует развитие сахарного диабета [56] (Wang et al., 2011) и предсказывает улучшение чувствительности к инсулину с потерей веса [57, 58]. Механизмы, лежащие в основе ассоциации BCAA с метаболическими нарушениями, связанными с ожирением, остаются неясными. Тем не менее, продолжающиеся фундаментальные научные исследования начинают раскрывать сложное взаимодействие между BCAA, глюкозой и липидным обменом, которые могут способствовать системным метаболическим нарушениям [56, 51, 59].

Прогнозирование риска сердечно-сосудистых заболеваний

Применение метаболомных исследований иллюстрирует пользу этой технологии в раскрытии основных метаболических механизмов сердечно-сосудистых заболеваний. Не менее важная роль метаболомики заключается в идентификации биомаркеров для прогнозирования риска ССЗ [11, 60, 61]. Например, таргетная метаболомика на основе ЖХ-МС/МС была использована для демонстрации прогностической ценности фактора BCAA при стенозирующем коронарном атеросклерозе у лиц, подвергшихся диагностической коронарной ангиографии [62]. В этой же группе базовые уровни метаболита, содержащего дикарбоксилацилкарнитин с короткой цепью (SCDA), строго предсказывают смерть / инфаркт миокарда в моделях с множественной регрессией [62]. Было показано, что у лиц, перенесших аорто-коронарное шунтирование [62], метаболитный фактор SCDA, предсказывает совокупный исход инфаркта миокарда, необходимость вмешательства и повторного шунтирования коронарной артерии, и смерть [60]. Кроме того, этот метаболитный фактор значительно улучшил реклассификацию и оценку риска смертности при добавлении к клиническим моделям, содержащим стандартные факторы риска [59].

Одной из очень быстро развивающихся областей метаболомики в прогнозировании сердечно-сосудистого риска является роль кишечного микробиома в определении уровней метаболитов в крови.

Недавнее исследование продемонстрировало связь состава кишечной микробиоты с концентрациями циркулирующего BCAA [63]. Другим примером является метаболит триметиламин N-оксид (TMAO). В оригинальном исследовании, использовали метод ЖХ-МС/МС в когортах людей с высоким риском ССЗ, для идентификации новых маркеров будущих сердечно-сосудистых событий. Три метаболита пищевого липидного фосфатидилхолина (обнаружены в красном мясе) – холин, TMAO и бетаин – независимо предсказывали сердечно-сосудистый риск. Последующее исследование продемонстрировало, что кормление мышей рационом, дополненным холином или TMAO, способствует атеросклерозу. Однако этот эффект пропадал при использовании мышей без микробов в кишечнике.

Очень интересное исследование было выполнено Feng et al. в котором комплексный метаболомный и метагеномный анализ плазмы и мочи позволил выявить метаболиты микробного происхождения при ишемической болезни сердца [64]. Эти молекулы, маннит и N-ацетил-D-глюкозамин-6-фосфат среди других, связаны с определенными видами бактерий *Clostridium spp*. или *Streptococcus spp*., указывающие на возможную роль дисбактериоза в возникновении этой патологии. В 2016 году был опубликован обзор Йонссона и Бакхеда, посвященный публикациям о роли кишечной микробиоты в развитии атеросклероза [65]. Они заявили, что специфический класс бактерий, Proteobacteria, может быть найден в атеросклеротической бляшке. Этот класс включает в себя роды *Helicobacter* и *Chryseomonas*, и он является наиболее распространенным в зубном налете. Актинобактерии также могут быть обнаружены в бляшке, в то время как у пациентов с ишемической болезнью сердца (ИБС) количество Bacteroidetes уменьшается по сравнению с контролем, а соотношение Firmicutes / Bacteroidetes увеличивается. Они также предложили 3 возможных механизма, с помощью которых микробиота может влиять на развитие атеросклеротической бляшки. Первый: бактериальная инфекция активирует иммунную систему, вызывая чрезмерную воспалительную реакцию, которая может оказаться опасной, независимо от места инвазии. Последующий проатерогенный ответ может быть опосредован Toll-подобным рецептором 4, экспрессируемым в макрофагах. Второе: производство TMAO может инициировать активацию тромбоцитов и пенистых клеток. Третье: производство вредных молекул, таких как ранее упомянутые TMAO, связано с питанием и метаболизмом микробиоты кишечника [65].

Кроме того, подавление микрофлоры кишечника защищало от атеросклероза мышей с диетически-холин-индуцированным атеросклерозом, что подтвердило роль кишечной микробиоты в опосредовании эффекта TMAO в кровообращении [66]. Дальнейшие исследования на людях подтвердили связь между потреблением холина с пищей, кишечной микробиотой и уровнем циркулирующего TMAO [67]. Кроме того, исследования подтвердили первоначальные результаты повышения TMAO и повышенного риска сердечно-сосудистых заболеваний и смертности в различных популяциях, включая лиц, подвергавшихся коронарной ангиографии, и лиц со стабильной ишемической болезнью, острым коронарным синдромом, сердечной недостаточностью, хронической почечной недостаточностью, заболеваниями периферических артерий и сахарным диабетом [67-73].

Важно отметить, что доклинические исследования с использованием соединения, которое ингибирует выработку триметиламина в кишечнике, снижало уровни TMAO у мышей, склонных к атеросклерозу, диета которых имела высокое содержание холина и сопровождалась ингибированием образования атеросклеротических бляшек, что предполагает разработку потенциальных терапевтических вариантов лечения людей в будущем [74].

Будущие исследования

Интеграция различных молекулярных данных представляет собой мощный и бурно развивающийся подход в получении более полного представления о сложных механизмах, лежащих в основе сердечно-сосудистых и кардиометаболических расстройств. За последнее десятилетие несколько исследовательских групп объединили данные GWAS (полногеомных ассоциативных исследований) и данные метаболомики, чтобы описать вклад генетической изменчивости в концентрации циркулирующего метаболита [75-79]. Подобные исследования также недавно были проведены с объединением эпигенетических и метаболомных исследований [80]. Такие метаболомные исследования локусов количественных признаков могут быть использованы для проверки гипотез. Например, исследования метаболомных локусов количественных признаков позволили продемонстрировать, что 2 члена семейства флавинмонооксигеназ окисляют триметиламин до TMAO и что варианты в гене FMO3 непосредственно влияют на уровни циркулирующего TMAO в крови и повышают восприимчивость к атеросклерозу у мышей [81]. Метаболомные исследования локусов количественных признаков позволят заглянуть внутрь функциональных механизмов лежащих в основе генетических вариантов. Например, интеграция вариантов в гене TCF7L2, которые ранее были идентифицированы как локусы риска для сахарного диа-

бета 2 типа, с метаболомикой выявила изменения в метаболизме фосфолипидов в ответ на тестирование толерантности к глюкозе у людей с аллелью риска, это позволяет предположить, что метаболические изменения могут быть ранними маркерами еще до развития сахарного диабета. Метаболомный анализ локусов количественных признаков также может быть мощным методом для генерации гипотез. Интеграция метаболомики, транскриптомики и генетики в исследовании образцов печени у F2 поколения мышей, полученных от скрещивания устойчивых и чувствительных к сахарному диабету штаммов мышей, позволила выявить определенные геномные области, которые были ответственны за метаболические и транскрипционные вариации. Расширенный биоинформатический анализ набора данных позволил построить сеть, которая связывает изменение уровня глутамата с регуляцией ключевого глюконеогенного фермента.

В дополнение к демонстрации генетических основ метаболической изменчивости среди людей, подходы интегративной системной биологии помогают идентифицировать ранее недооцененные связи между биологическими путями. В качестве примера, чтобы получить представление о молекулярных основах кластера метаболитов SCDA, упомянутых выше, данные по метаболому были интегрированы с генетическими, эпигенетическими и транскриптомными данными 3512 человек. Полногеномный анализ выявил связь уровней SCDA с вариантами генов, регулирующих компоненты стресса эндоплазматического ретикулума. Важно отметить, что эти конкретные варианты также независимо позволяли предсказывать сердечно-сосудистые события. Кроме того, связь профилей метилирования по всему геному с уровнями SCDA позволила идентифицировать 2 гена стресса эндоплазматического ретикулума, которые были метилированы. Анализ экспрессии генетических вариантов локусов количественных признаков, связанных с SCDA методом GWAS, также идентифицировал пути стресса эндоплазматического ретикулума, особенно убиквитин-протеасомный [82]. Таким образом, благодаря интеграции множества молекулярных данных начали раскрываться патофизиологические истоки этого нового метаболического маркера. Благодаря общей технологии MC и тому факту, что многие метаболиты, такие как ацетил-КоА, участвуют в посттрансляционной

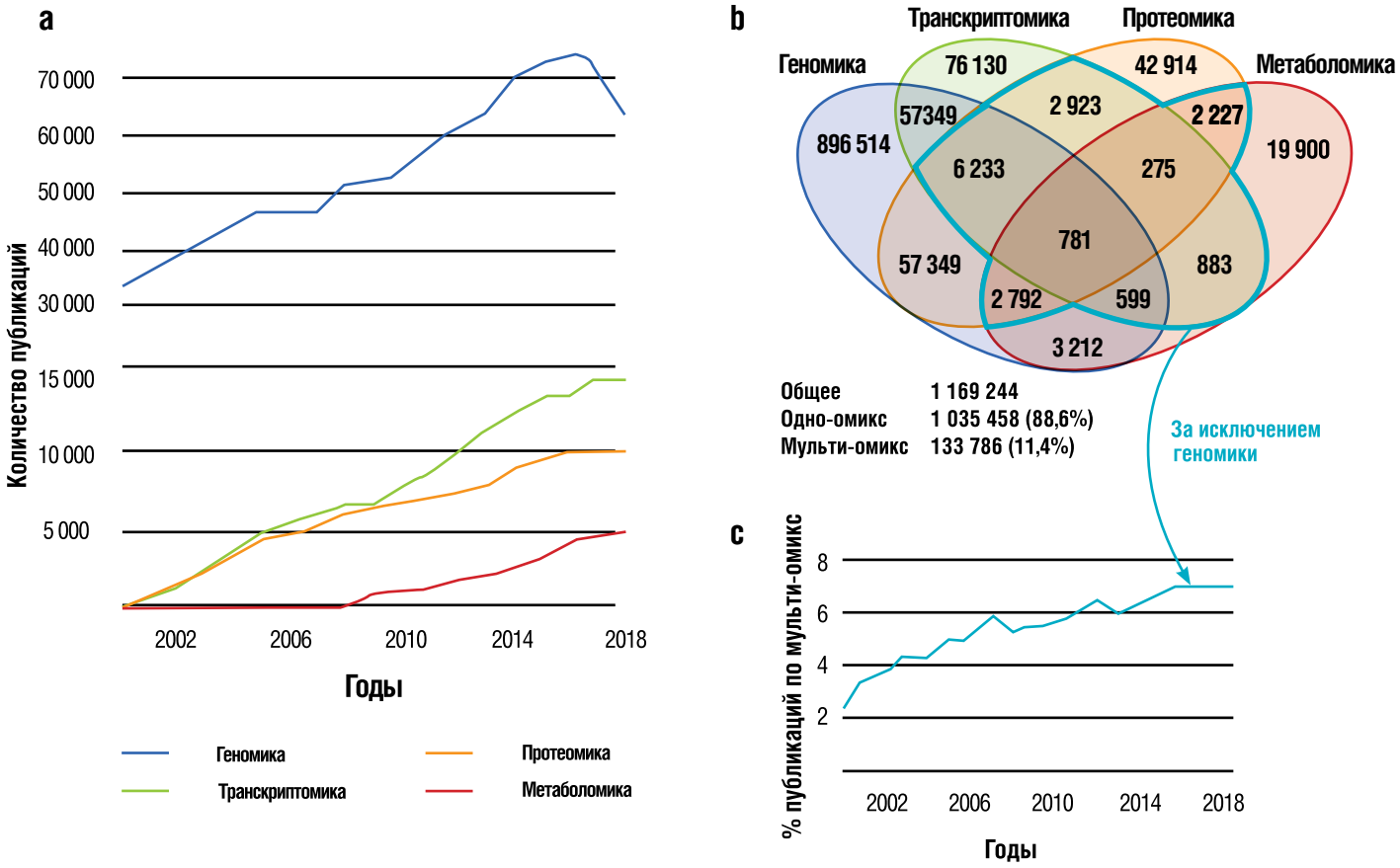

Рисунок 5. Разбивка публикаций в международной базе научных публикаций PubMed, в которых использовалось одно или несколько омикс исследований (согласно Noor et al., 2019)

(a) Общее количество статей, публикуемых в год по тематике с 2000 года. В поиск по базе были включены четыре основных омикс (например, помимо metabolomics так же в поиск были включены ключевые слова metabolome и metabolomic). Количество статей по транскриптомике может быть недооценено, так как термин транскриптомика часто заменяется термином генная экспрессия. (b) диаграмма Венна, показывающая перекрытие научных публикаций, которые включают один или несколько омикс, опубликованных в период с 2000 по 2018 годы. Мульти-омикс определяется как публикация, включающая более одного типа омикс исследований. (c) Процент публикаций по мульти-омикс (без учета геномики) включает, по крайней мере, две из трех: транскриптомика, протеомика и метаболомика. Геномика была опущена, чтобы не смещать результаты, потому что термин геном часто используется в других контекстах, не имеющих отношения к реальным геномным исследованиям.

Figure 5. Publications types found in PubMed that used one or more omics studies (according to Noor et al., 2019)

(a) The total number of articles published per year on a topic since 2000. Four main omics were included in the database search (for example, in addition to metabolomics, the keywords metabolome and metabolomic were also included in the search). The number of articles on transcriptomics can be underestimated as the term transcriptomics is often replaced by the term gene expression. (b) Venn diagram showing the overlap of publications that include one or more omics published between 2000 and 2018. A multi-omics is defined as a publication that includes more than one type of omics research.

модификации, интеграция метаболомики и протеомики также явилась способом понимания механизмов метаболической регуляции важных клеточных процессов в связи с патологией сердечно-сосудистых заболеваний [83]. Например, сравнение протеома и метаболома протеинкиназы С (PKC) δ +/+ и PKCδ -/- сердца выявило важную роль PKCδ в регуляции метаболизма глюкозы сердца в период предишемического состояния [84, 85], другие исследования также показывают аналогичную роль у других изоформ PKC [86]. Интеграция протеомики и метаболомики метаболомики также расширила понимание метаболических механизмов атеросклероза у мышей с нокаутированным геном apoE [87].

Существуют многочисленные преграды для применения и интеграции методов «омикс», особенно при использовании общедоступных наборов данных, где отсутствует критическая информация, такая как методы подготовки образцов, методы работы прибора и методы контроля качества. Кроме того, поиск данных сам по себе является сложной задачей. Предпринимаются усилия для решения этих проблем и облегчения работы исследователям. Одним из примеров является OmicsDI (www.omicsdi.org), платформа с открытым исходным кодом, которая находится в свободном доступе для обнаружения и распространения массивов данных «омикс» [88]. Эта платформа хранит биологические и технические метаданные из нескольких репозиториев и индексирует информацию в соответствии с происхождением молекулярного объекта (например, ген, транскрипт, белок, метаболит), источник данных (ткань, вид) и состояние заболевания. Благодаря тому, что такие ресурсы становятся все более доступными, пользователи могут получить доступ к наборам «мульти-омиксных» данных для экспериментов и новых интерпретаций. Проведенные недавно исследования показали существенный рост интегративных исследований [89]. На сегодняшний день наиболее распространенными перекрывающимися мульти-омикс исследованиями являются геномика + протеомика и геномика + транскриптомика, которые в совокупности составляют более 10% всех статей по «омикс» (рис. 5).

Конечная цель комплексного подхода «омикс» в области метаболизма заключается в разработке моделей метаболизма в масштабе генома для представляющих интерес болезненных состояний. Этот подход системной биологии учитывает молекулярные вариации (геномика, транскриптомика, протеомика) наряду с движением по метаболическим путям, чтобы построить карты метаболических сетей в физиологических системах, таких как ткани, органы или даже целые организмы [90]. Ранние попытки воссоздания масштабных метаболических сетей в рамках всего генома показали, что они способны дать представление о реакциях метаболома на изменения как внутри, так и вне клетки [91]. В отношении ССЗ в исследовании CardioNet использовалась системная биология для реконструкции метаболической сети кардиомиоцитов человека, а затем использовался *анализ баланса потока* (математический метод для моделирования метаболизма и скорости реакции в метаболической сети), чтобы показать способность сети реагировать на различные условия подачи энергетических веществ [92].

Эта сеть впоследствии была использована для моделирования скорости потока субстратов метаболизма в функционирующих сердцах при различных условиях [93]. Интегрированный анализ «омики» может раскрыть механизмы, лежащие в основе молекулярного ремоделирования при болезненных состояниях. Такие подходы для измерения in vivo потока субстратов в тканях при различных сердечно-сосудистых заболеваниях будут расширять возможности по переводу статических результатов метаболомики в динамические модели для проверки метаболомной гипотезы болезни.

Хотя интегрированные подходы омики предлагают захватывающее и мощное представление о молекулярных основах болезни, они также испытывают серьезные вычислительные проблемы. Статистические и аналитические возможности для обработки и интеграции разнообразных наборов молекулярных данных отстают от технологии генерации данных. Поэтому дальнейшие достижения в этой области, прежде всего, потребуют более сложных статистических подходов, чтобы в полной мере воспользоваться широкими возможностями, предлагаемыми интегрированной системной биологией [94].

Заключение

Постгеномная эра дает возможность лучше понять риск сердечно-сосудистых заболеваний и патогенез. Поскольку большинство ССЗ имеют нарушения в сердечном метаболизме, метаболомика, в частности, продвинула понимание молекулярных основ этих событий. В отличие от других технологий омикс, метаболомика обеспечивает функциональную интеграцию генетических, транскриптомных и протеомных вариаций, а также воздействия окружающей среды, отражая тем самым молекулярные процессы, более близкие к болезненным состояниям. Новые технологии расширяют нашу способность описывать метаболом и количественно определять поток в метаболических путях, чтобы отследить судьбы метаболических субстратов. Параллельно должна продолжаться разработка сложных вычислительных и биоинформатических подходов, позволяющих интегрировать множественные данные омикс, чтобы обеспечить более полное представление о молекулярной основе ССЗ. Поскольку понимание фундаментальных метаболических основ сердечно-сосудистых заболеваний продолжает расти, метаболомика останется на переднем плане научных открытий в этой области.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. *World Health Organization. 2020. https://www.who.int/health-topics/cardiovascular-diseases/#tab=tab_1*
2. *Panju A.A., Hemmelgarn B.R., Guyatt G.H. et al. Is this patient having a myocardial infarction? JAMA. 1996; 280 (14): 1256–1263.*
3. *Pope J.H., Aufderheide T.P., Ruthazer R. et al. Missed diagnoses of acute cardiac ischemia in the emergency department. N. Engl. J. Med. 2000; 342 (16): 1163–1170.*
4. *Naghavi M., Libby P., Falk E. et al. From vulnerable plaque to vulnerable patient: a call for new definitions and risk assessment strategies: part II. Circulation. 2003; 108 (15): 1772–1778.*
5. *Wishart D.S., Feunang Y.D., Marcu A. et al. HMDB 4.0 — The Human Metabolome Database for 2018. Nucleic Acids Res. 2018. Jan 4; 46(D1): D 608-17. 29140435.*
6. *Ellis D. I., Dunn W. B., Griffin J. L. et al. "Metabolic fingerprinting as a diagnostic tool". Pharmacogenomics. 2007; vol. 8, № 9: 1243–1266.*
7. *Tweeddale H., Notley-McRobb L., Ferenci T. Effect of slow growth on metabolism of Escherichia coli, as revealed by global metabolite pool («metabolome») analysis. J. Bacteriol. 1998; 180(19):5109-16.*
8. *Sabatine M.S., Liu E., Morrow D.A. et al. Metabolomic identification of novel biomarkers of myocardial ischemia. Circulation. 2005; 112: 3868–3875.*
doi: *10.1161/CIRCULATIONAHA.105.569137.*
9. *Griffin J. L., Atherton H., Shockcor J. et al. "Metabolomics as a tool for cardiac research". Nature Reviews Cardiology. 2011; vol. 8, no. 11: 630–643.*
10. *Wishart D.S., Jewison T, Guo A.C. et al. HMDB 3.0–the human metabolome database in 2013. Nucleic Acids Res. 2013; 41: 801–807.*
11. *Cheng S., Shah S.H., Corwin E.J., et al. Potential impact and study considerations of metabolomics in cardiovascular health and disease: a scientific statement from the American Heart Association. Circ. Cardiovasc. Genet. 2017; 10: e000032.*
12. *Allard M.F., Schönekess B.O., Henning S.L. et al. Contribution of oxidative metabolism and glycolysis to ATP production in hypertrophied hearts. Am. J. Physiol. 1994; 267: 742–750.*
13. *Burelle Y., Wambolt R.B., Grist M. et al. Regular exercise is associated with a protective metabolic phenotype inthe rat heart. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2004; 287: 1055–1063.*

14. Lai L., Leone T.C., Keller M.P. et al. Energy metabolic reprogramming in the hypertrophied and early stage failing heart: a multisystems approach. Circ. Heart Fail. 2014; 7: 1022–1031.
15. Kato T., Niizuma S., Inuzuka Y. et al. Analysis of metabolic remodeling in compensated left ventricular hypertrophy and heart failure. Circ. Heart Fail. 2010; 3: 420–430.
16. Meerson F.Z., Spiritchev V.B., Pshennikova M.G. et al. The role of the pentose-phosphate pathway in adjustment of the heart to ahigh load and the development of myocardial hypertrophy. Experientia. 1967; 23: 530–532.
17. Zimmer H.G., Ibel H., Steinkopff G. Studies on the hexose monophosphate shunt in the myocardium during development of hypertrophy. Adv. Myocardiol. 1980; 1: 487–492.
18. Leong H.S., Grist M., Parsons H. et al. Accelerated rates of glycolysis in the hypertrophied heart: are they a methodological artifact? Am J Physiol. Endocrinol. Metab. 2002; 282: 1039–1045.
19. Young M.E., Yan J., Razeghi P. et al. Proposed regulation of gene expression by glucose in rodent heart. Gene Regul. Syst. Bio. 2007; 1: 251–262.
20. Kolwicz S.C.Jr., Tian R. Glucose metabolism and cardiac hypertrophy. Cardiovasc. Res. 2011; 90: 194–201.
21. Doenst T., Nguyen T.D., Abel E.D. Cardiac metabolism in heart failure: Implications beyond ATP production. Circ Res. 2013; 113: 709–724.
22. Ussher J.R., Elmariah S., Gerszten R.E. et al. The emerging role of metabolomics in the diagnosis and prognosis of cardiovascular disease. J. Am. Coll. Cardiol. 2016; 68: 2850–2870.
23. De Jong K.A., Lopaschuk G.D. Complex energy metabolic changes in heart failure with preserved ejection fraction and heart failure with reduced ejection fraction. Can. J. Cardiol. 2017; 33: 860–871.
24. Neubauer S. The failing heart–an engine out of fuel. N. Engl. J. Med. 2007; 356: 1140–1151.
25. Nascimben L., Ingwall J.S., Pauletto P. et al. Creatine kinase system in failing and nonfailing human myocardium. Circulation. 1996; 94: 1894–1901.
26. van Bilsen M., van Nieuwenhoven F.A., van der Vusse G.J. Metabolic remodelling of the failing heart: beneficial or detrimental? Cardiovasc. Res.2009; 81: 420–428.
27. Scheubel R.J., Tostlebe M., Simm A. et al. Dysfunction of mitochondrial respiratory chain complex I in human failing myocardium is not due to disturbed mitochondrial gene expression. J. Am. Coll. Cardiol. 2002; 40: 2174–2181.
28. Gupte A.A., Hamilton D.J., Cordero-Reyes A.M. et al. Mechanical unloading promotes myocardial energy recovery in human heart failure. Circ. Cardiovasc. Genet. 2014; 7: 266–276.
29. Sansbury B.E., DeMartino A.M., Xie Z. et al. Metabolomic analysis of pressure-overloaded and infarcted mouse hearts. Circ. Heart. Fail. 2014; 7: 634–642.
30. Sun H., Olson K.C., Gao C. et al. Catabolic defect of branched-chain amino acids promotes heart failure. Circulation. 2016; 133: 2038–2049. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.115.020226.
31. Aubert G., Martin O.J., Horton J.L. et al. The failing heart relies on ketone bodies as a fuel. Circulation. 2016; 133: CIRCULATIONAHA.115.017355.
32. Bedi K.C. Jr., Snyder N.W., Brandimarto J. et al. Evidence for intramyocardial disruption of lipid metabolism and increased myocardial ketone utilization in advanced human heart failure. Circulation. 2016; 133: 706–716. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.115.017545.
33. Ferrara C.T., Wang P., Neto EC. et al. Genetic networks of liver metabolism revealed by integration of metabolic and transcriptional profiling. PLoS Genet. 2008. doi: 10.1371/journal.pgen.1000034.
34. Hunter W.G., Kelly J.P., McGarrah RW III. et al. Metabolic dysfunction in heart failure: diagnostic, prognostic, and pathophysiologic insights from metabolomic profiling. Curr. Heart Fail. Rep. 2016; 13: 119–131. doi: 10.1007/s11897-016-0289-5.
35. Doehner W., Frenneaux M., Anker SD. Metabolic impairment in heart failure: the myocardial and systemic perspective. J. Am. Coll. Cardiol. 2014; 64: 1388–1400. doi: 10.1016/j.jacc.2014.04.083.
36. Ahmad T., Kelly JP., McGarrah RW. et al. Prognostic implications of long-chain acylcarnitines in heart failure and reversibility with mechanical circulatory support. J. Am. Coll. Cardiol. 2016; 67: 291–299. doi:10.1016/j.jacc.2015.10.079.
37. Hinterwirth H., Stegemann C., Mayr M. Lipidomics: quest for molecular lipid biomarkers in cardiovascular disease. Circ. Cardiovasc. Genet. 2014; 7: 941–954. doi: 10.1161/CIRCGENETICS.114.000550.
38. Sparagna G.C., Lesnefsky E.J. Cardiolipin remodeling in the heart. J. Cardiovasc Pharmacol. 2009; 53: 290–301. doi: 10.1097/FJC.0b013e31819b5461.
39. Saini-Chohan H.K., Holmes M.G., Chicco A.J. et al. Cardiolipin biosynthesis and remodeling enzymes are altered during development of heart failure. J. Lipid Res. 2009; 50: 1600–1608. doi: 10.1194/jlr.M800561-JLR200.
40. Han X., Yang J., Cheng H. et al. Shotgun lipidomics identifies cardiolipin depletion in diabetic myocardium linking altered substrate utilization with mitochondrial dysfunction. Biochemistry. 2005; 44: 16684–16694. doi: 10.1021/bi051908a.
41. Benjamin E.J., Blaha M.J., Chiuve S.E. et al. American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. Heart disease and stroke statistics-2017 update: a report from the American Heart Association. Circulation. 2017; 135: 146–603. doi:10.1161/CIR.0000000000000485.
42. Stanley W.C., Recchia F.A., Lopaschuk G.D. Myocardial substrate metabolism in the normal and failing heart. Physiol. Rev. 2005; 85: 1093–1129. doi: 10.1152/physrev.00006.2004.
43. Lopaschuk G. Regulation of carbohydrate metabolism in ischemia and reperfusion. Am. Heart J. 2000; 139: 115–119.
44. Lopaschuk G.D., Ussher J.R., Folmes C.D. et al. Myocardial fatty acid metabolism in health and disease. Physiol. Rev. 2010; 90: 207–258. doi: 10.1152/physrev.00015.2009.
45. Chouchani E.T., Pell V.R., Gaude E. et al. Ischemic accumulation of succinate controls reperfusion injury through mitochondrial ROS. Nature. 2014; 515: 431–435. doi: 10.1038/nature13909.
46. Li T., Zhang Z., Kolwicz SC.Jr. et al. Defective branched-chain amino acid catabolism disrupts glucose metabolism and sensitizes the heart to ischemia-reperfusion injury. Cell Metab. 2017; 25: 374–385. doi:10.1016/j.cmet.2016.11.005.
47. Gao, X., Ke, C., Liu, H. et al. Large-scale Metabolomic Analysis Reveals Potential Biomarkers for Early Stage Coronary Atherosclerosis. Sci. Rep. 2017; 7: 11817. https://doi.org/10.1038/s41598-017-12254-1
48. Newgard C.B. Metabolomics and metabolic diseases: where do we stand? Cell Metab. 2017; 25: 43–56. doi: 10.1016/j.cmet.2016.09.018.
49. Felig P., Marliss E., Cahill GF.Jr. Plasma amino acid levels and insulin secretion in obesity. N Engl. J. Med. 1969; 281: 811–816. doi:10.1056/NEJM196910092811503.
50. Newgard C.B., An J., Bain J.R. et al. A branched-chain amino acid-related metabolic signature that differentiates obese and lean humans and contributes to insulin resistance. Cell Metab. 2009; 9: 311–326. doi:10.1016/j.cmet.2009.02.002.
51. White P.J., Lapworth A.L., An J. et al. Branched-chain amino acid restriction inZucker-fatty rats improves muscle insulin sensitivity by enhancing efficiency of fatty acid oxidation and acyl-glycine export. Mol. Metab. 2016; 5: 538–551. doi: 10.1016/j.molmet.2016.04.006.
52. Shaham O., Wei R., Wang T.J. et al Metabolic profiling of the human response to a glucose challenge reveals distinct axes of insulin sensitivity. Mol. Syst. Biol. 2008; 4: 214. doi: 10.1038/msb.2008.50.
53. Huffman K.M., Shah S.H., Stevens R.D. et al. Relationships between circulating metabolic intermediates and insulinaction in overweight to obese, inactive men and women. Diabetes Care. 2009; 32: 1678–1683. doi: 10.2337/dc08-2075.
54. Tai E.S., Tan M.L., Stevens R.D. et al. Insulin resistance is associated with a metabolic profile of altered protein metabolism in Chinese and Asian-Indian men. Diabetologia. 2010; 53: 757–767. doi: 10.1007/s00125-009-1637-8.
55. Batch B.C., Shah S.H., Newgard C.B. et al. Branched chain amino acids are novel biomarkers for discrimination of metabolic wellness. Metabolism. 2013; 62: 961–969. doi:10.1016/j.metabol.2013.01.007.
56. Wang T.J., Larson M.G., Vasan R.S. et al. Metabolite profiles and the risk of developing diabetes. Nat. Med. 2011; 17: 448–453. doi: 10.1038/nm.2307.
57. Shah S.H., Crosslin D.R., Haynes C.S. et al. Branched-chain amino acid levels are associated with improvement in insulin resistance with weight loss. Diabetologia. 2012; 55: 321–330. doi: 10.1007/s00125-011-2356-5.
58. Laferrère B., Reilly D., Arias S., et al. Differential metabolic impact of gastric bypass surgery versus dietary intervention in obese diabetic subjects despite identical weight loss. Sci. Transl. Med. 2011; 3: 80re2. doi:10.1126/scitranslmed.3002043.
59. Newgard C.B. Interplay between lipids and branched-chain amino acids in development of insulin resistance. Cell Metab. 2012; 15: 606–614. doi:10.1016/j.cmet.2012.01.024.

60. Shah S.H., Newgard C.B. Integrated metabolomics and genomics: systems approaches to biomarkers and mechanisms of cardiovascular disease. Circ. Cardiovasc. Genet. 2015; 8: 410–419. doi: 10.1161/CIRCGENETICS.114.000223.
61. Shah S.H., Kraus W.E., Newgard C.B.. Metabolomic profiling for the identification of novel biomarkers and mechanisms related to common cardiovascular diseases: form and function. Circulation. 2012; 126: 1110–1120.doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.111.060368.
62. Shah S.H., Bain J.R., Muehlbauer M.J. et al. Association of a peripheral blood metabolic profile with coronary artery disease and risk of subsequent cardiovascular events. Circ. Cardiovasc. Genet. 2010; 3: 207–214. doi: 10.1161/CIRCGENETICS.109.852814.
63. Ridaura V.K., Faith J.J., Rey F.E. et al. Gut microbiota from twins discordant for obesity modulate metabolism in mice. Science. 2013; 341: 1241214. doi: 10.1126/science.1241214.
64. Feng Q., Liu Z., Zhong S. et al. "Integrated metabolomics and metagenomics analysis of plasma and urine identified microbial metabolites associated with coronary heart disease". Scientific Reportsvol. 2016; 6: Article ID 22525.
65. Jonsson A. L. and F. Backhed, "Role of gut microbiota in ¨atherosclerosis," Nature Reviews Cardiology. 2016; vol. 14, no. 2: 79–87.
66. Wang Z., Klipfell E., Bennett B.J. et al. Gut flora metabolism of phosphatidylcholine promotes cardiovascular disease. Nature. 2011; 472: 57–63. doi: 10.1038/nature09922.
67. Tang W.H., Wang Z., Levison B.S. et al. Intestinal microbial metabolism of phosphatidylcholine and cardiovascular risk. N Engl. J. Med. 2013; 368: 1575–1584. doi:10.1056/NEJMoa1109400.
68. Senthong V., Wang Z., Fan Y. et al. Trimethylamine N -oxide and mortality risk in patients with peripheral artery disease. J. Am. Heart Assoc. 2016; 5: e004237.
69. Tang W.H., Wang Z., Fan Y. et al. Prognostic value of elevated levels of intestinal microbe-generated metabolite trimethylamine-N-oxide in patients with heart failure: refining the gut hypothesis. J Am. Coll. Cardiol. 2014; 64: 1908–1914.
doi:10.1016/j.jacc.2014.02.617.
70. Tang W.H., Wang Z., Kennedy D.J. et al. Gut microbiota-dependent trimethylamineN-oxide (TMAO) pathway contributes to both development of renal insufficiency and mortality risk in chronic kidney disease. Circ. Res. 2015; 116: 448–455. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.116.305360.
71. Organ C.L., Otsuka H., Bhushan S. et al. Choline diet and its gut microbe–derived metabolite, trimethylamine N-oxide, exacerbate pressure overload–induced heart failure. Circ. Hear. Fail. 2016; 9: e 002314.
72. Senthong V., Wang Z., Li X.S. et al. Intestinal microbiota-generated metabolite trimethylamine-N-oxide and5-year mortality risk in stable coronary artery disease: the contributoryrole of intestinal microbiota in a COURAGE-like patient cohort. J. Am.Heart Assoc. 2016; 5: e002816.
73. Undurti A., Huang Y., Lupica J.A. et al. Modification of high density lipoprotein by myeloperoxidase generates a pro-inflammatory particle. J. Biol. Chem. 2009; 284: 30825–30835. doi:10.1074/jbc.M109.047605.
74. Wang Z., Roberts A.B., Buffa J.A. et al. Non-lethal inhibition of gut microbial trimethylamine production for the treatment of atherosclerosis. Cell. 2015;163: 1585–1595. doi: 10.1016/j.cell.2015.11.055.
75. Gieger C., Geistlinger L., Altmaier E. et al. Genetics meets metabolomics: a genome-wide association study of metabolite profiles in human serum. PLoS Genet. 2008; 4: e1000282. doi: 10.1371/journal.pgen.1000282.
76. Illig T., Gieger C., Zhai G. et al. A genome-wide perspective of genetic variation in human metabolism. Nat. Genet. 2010; 42: 137–141. doi:10.1038/ng.507.
77. Suhre K., Shin S.Y., Petersen A.K. et al. CARDIoGRAM. Human metabolic individuality in biomedical and pharmaceutical research. Nature. 2011; 477: 54–60. doi: 10.1038/nature10354.
78. Rhee E.P., Ho J.E., Chen M.H. et al. A genome-wide association study of the human metabolome in a community-based cohort. Cell Metab. 2013; 18: 130–143. doi: 10.1016/j.cmet.2013.06.013.
79. Draisma H.H.M., Pool R., Kobl M. et al. Genome-wide associationstudy identifies novel genetic variants contributing to variation inblood metabolite levels. Nat Commun. 2015; 6: 7208. doi: 10.1038/ncomms8208.
81. Bennett B.J., de Aguiar Vallim T.Q., Wang Z. et al. Trimethylamine-N-oxide, a metabolite associated with atherosclerosis, exhibits complex genetic and dietary regulation. Cell Metab. 2013; 17: 49–60. doi: 10.1016/j.cmet.2012.12.011.
82. Kraus W.E., Muoio D.M., Stevens R. et al. Metabolomic quantitative trait loci (mQTL) mapping implicates the ubiquitin proteasome system in cardiovascular disease pathogenesis. PLoS Genet. 2015; 11: e1005553. doi:10.1371/journal.pgen.1005553.
83. Mayr M., Madhu B., Xu Q. Proteomics and metabolomics combined in cardiovascular research. Trends Cardiovasc. Med. 2007; 17: 43–48. doi:10.1016/j.tcm.2006.11.004.
84. Mayr M., Chung Y.L., Mayr U. et al. Loss of PKC-delta alters cardiac metabolism. Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. 2004. 287. P. 937–945. doi:10.1152/ajpheart.00877.2003.
85. Mayr M., Metzler B., Chung Y.L., et al. Ischemic preconditioning exaggerates cardiac damage in PKC-delta null mice. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2004; 287: 946–956. doi:10.1152/ajpheart.00878.2003.
86. Mayr M., Liem D., Zhang J. et al. Proteomic and metabolomic analysis of cardioprotection: interplay between protein kinase C epsilon and delta in regulating glucose metabolism of murine hearts. J. Mol. Cell Cardiol. 2009; 46: 268–277. doi:10.1016/j.yjmcc.2008.10.008.
87. 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. Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 2005; 25: 2135–2142. doi: 10.1161/01.ATV.0000183928.25844.f6.
88. Perez-Riverol Y., Bai M., da Veiga Leprevost F. et al. Discovering and linking public omics data sets using the Omics Discovery Index. Nat. Biotechnol. 2017; 3: 406–409. doi: 10.1038/nbt.3790.
89. Noor Elad, Cherkaoui Sarah and Sauer Uwe. Biological insights through omics data integration. Current Opinion in Systems Biology. 2019; 15: 39–47. https://doi.org/10.1016/j.coisb.2019.03.007
89. Petersen A.K., Zeilinger S., Kastenmüller G. et al. Epigenetics meets metabolomics: an epigenome-wide association study with blood serum metabolic traits. Hum. Mol. Genet. 2014. 23. P. 534–545. doi:10.1093/hmg/ddt430.
90. Cook D.J., Nielsen J. Genome-scale metabolic models applied to human health and disease. Wiley Interdiscip Rev. Syst. Biol. Med. 2017; 9: 1393.
91. Duarte N.C., Becker S.A., Jamshidi N., et al. Global reconstruction of the human metabolic network based on genomic and bibliomic data. Proc Natl Acad Sci USA. 2007; 104: 1777–1782. doi: 10.1073/pnas.0610772104.
92. Karlstädt A., Fliegner D., Kararigas G. et al. CardioNet: a human metabolic network suited for the study of cardiomyocyte metabolism. BMC Syst Biol. 2012; 6: 114. doi:10.1186/1752-0509-6-114.
93. Karlstaedt A., Zhang X., Vitrac H. et al. Oncometabolite d-2-hydroxyglutarateimpairs α-ketoglutarate dehydrogenase and contractile function in rodent heart. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2016; 113: 10436–10441. doi:10.1073/pnas.1601650113.
94. Chan S.Y., Loscalzo J. The emerging paradigm of network medicine in the study of human disease. Circ. Res. 2012; 111: 359–374. doi:10.1161/CIRCRESAHA.111.258541.