Коробкова Е. О., Кожевникова М. В., Ильгисонис И. С., Шакарьянц Г. А., Апполонова С. А., Кухаренко А. В., Ларцова Е. В., Мальцева А. А., Хабарова Н. В., Беленков Ю. Н.

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

МЕТАБОЛОМНОЕ ПРОФИЛИРОВАНИЕ БОЛЬНЫХ С МЕТАБОЛИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ

Цель	Идентификация с помощью метаболомного профилирования биомаркеров, наиболее специфичных для пациентов с метаболическим синдромом (МС).
Материал и методы	При помощи жидкостной хроматографии высокого разрешения в сочетании с масс-спектрометрией проводились метаболомное профилирование пациентов с МС и сравнение их профиля с профилем добровольцев.
Результаты	Обнаружены различия в метаболомном профиле пациентов с МС по ряду аминокислот, таких как холин, цистеин и серин, и группе ацилкарнитинов ($p < 0,05$ для всех сравнений).
Заключение	Идентифицированы метаболиты, наиболее специфичные для пациентов с МС. Повышенные концентрации комбинации аминокислот и карнитинов могут рассматриваться в роли возможных дополнительных факторов риска развития сердечно-сосудистых заболеваний.
Ключевые слова	Метабомика; метаболомное профилирование; метаболический синдром; сердечно-сосудистые заболевания
Для цитирования	Korobkova E. O., Kozhevnikova M. V., Ilgisonis I. S., Shakaryants G. A., Appolonova S. A., Kukharensko A. V. et al. Metabolomic Profiling in Patients With Metabolic Syndrome. Kardiologiya. 2020;60(3):37–43. [Russian: Коробкова Е. О., Кожевникова М. В., Ильгисонис И. С., Шакарьянц Г. А., Апполонова С. А., Кухаренко А. В. и др. Метаболомное профилирование больных с метаболическим синдромом. Кардиология. 2020;60(3):37–43.]
Автор для переписки	Коробкова Екатерина Олеговна. E-mail: eokor25@mail.ru

Достигнутые в последние десятилетия успехи в области изучения генома с помощью новых технологий открыли беспрецедентную эру в биомедицинских исследованиях. Современные возможности визуализации и аналитической методологии позволили более точно охарактеризовать молекулярные процессы, происходящие в клетках и тканях организма, и внесли неоценимый вклад в стремительно растущую базу знаний о биологических системах. Этот технологический прогресс послужил толчком для открытия новых областей исследования, получивших название «омные» науки, или «омики». Именно они легли в основу развития персонализированного подхода в диагностике и лечении различных заболеваний и патологических состояний.

Первыми шагами в становлении персонализированной медицины стали работы в сфере геномных исследований. Вслед за ними область исследований, охватывающая оценку кодирующих и не кодирующих РНК, характеризующих экспрессию генов, получила название «транскриптомика». С накоплением знаний о влиянии генотипа на фенотипические проявления стала развиваться наука, изучающая совокупности всех белков организма. В течение многих лет именно протеомика имела решающее значение для ранней диагностики, прогнозирования и мониторинга заболеваний [1]. Однако с появлением новых высокоточных технологий, основанных на масс-спектрометрии, значительно расширилось представление

Рисунок 1. Основные «омные» науки

о процессах, происходящих в клетках, тканях и органах, и сформировалось еще одно «омное» направление – метаболомика (рис. 1).

Метаболомика – наука, изучающая низкомолекулярные соединения, которые являются конечными продуктами обмена веществ. Цель метаболомного анализа – идентификация и количественное измерение метаболитов в организме, которые в совокупности составляют метаболомический профиль [2, 3]. Таким образом, метаболомные исследования наиболее точно и всесторонне описывают молекулярный фенотип биологического объекта. В связи с этим метаболомика представляется наиболее перспективным направлением поиска более точных маркеров, используемых для выявления заболевания на ранней стадии либо прогнозирования течения болезни. Помимо этого, с помощью данной технологии возможно определение метаболомических путей, характеризующих патологический процесс, что может служить ориентиром для разработки целевых методов лечения или изменения образа жизни.

Для данного анализа используются такие методы разделения и обнаружения низкомолекулярных соединений, как газовая хроматография в сочетании с масс-спектрометрическим детектором (ГХ-МС), высокого разрешения («высокоэффективная») жидкостная хроматография в сочетании с тандемным масс-спектрометрическим детектором (ВЭЖХ-МС/МС), спектрометрия ядерного магнитного резонанса, капиллярный электрофорез [4–6].

В зависимости от цели исследования используют один из двух подходов – нецелевой (антаргетный) и целевой (таргетный) анализы. Нецелевой подход применяется в исследованиях по созданию гипотез и является наиболее подходящим для обнаружения максимального количества метаболитов и идентификации новых соединений. Обычно можно измерить от сотен до тысяч метаболитов. Основное преимущество метода заключается в определении взаимосвязи значимых метаболитов между собой и построении метаболомических путей. Таргетный анализ используется для подтверждения новых открытий, сделанных в исследованиях по созданию гипотез. При этом подходе анализируют относительно небольшое и специфическое количество метаболитов с известной массой, строением и временем удержания. Целевым методом скринируют до 20 метаболитов; он обладает большими, чем нецелевой, специфичностью и чувствительностью [7].

В настоящее время как фундаментальные, так и клинические исследования показали значение метаболомного профилирования для понимания патофизиологических механизмов развития различных сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ), однако в литературе описаны лишь единичные работы по метаболомному профилированию у пациентов с метаболомическим синдромом (МС) [8].

Цель исследования: идентифицировать биомаркеры с помощью метаболомного профилирования, наиболее специфичные для пациентов с МС.

Материал и методы

В исследование включено 60 участников в возрасте от 18 до 80 лет из различных регионов Российской Федерации: 42 пациента с МС и 18 здоровых добровольцев. Данная научно-исследовательская работа одобрена локальным комитетом по этике ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет). У всех участников исследования было получено информированное согласие на участие в исследовании. В связи с выявленными злокачественными новообразованиями на этапе включения из исследования выбыли 2 пациента. В основную группу вошли 21 мужчина и 20 женщин с МС, установленным на основании критериев согласно российским клиническим рекомендациям по ведению пациентов с МС [9]. МС считали достоверным при наличии одного основного и как минимум двух дополнительных критериев.

Критерии метаболомического синдрома

Основной критерий

- центральный (абдоминальный) тип ожирения – окружность талии более 80 см у женщин и более 94 см у мужчин.

Дополнительные критерии

- артериальное давление (АД) >140 и 90 мм рт.ст. или лечение антигипертензивными препаратами;
- повышение уровня триглицеридов ($\geq 1,7$ ммоль/л);
- снижение уровня липопротеидов высокой плотности ($< 1,0$ ммоль/л у мужчин; $< 1,2$ ммоль/л у женщин);
- повышение уровня липопротеидов низкой плотности $> 3,0$ ммоль/л;
- нарушение толерантности к глюкозе;
- нарушение гликемии натощак.

Критериями не включения пациентов служили тяжелые нарушения функции почек или печени; терапия системными глюкокортикоидами, пероральными контрацептивами; гипер- или гипотиреоз, злокачественные новообразования, острое нарушение мозгового кровообращения или транзиторная ишемическая атака в течение предшествующих 6 мес, сердечная недостаточность, нестабильная ишемическая болезнь сердца (ИБС), злоупотребление алкоголем или применение наркотических веществ, психические нарушения, а также беременность или кормление грудью. В группу контроля вошли 9 женщин и 8 мужчин, у которых отсутствовали клинические и лабораторные признаки поражения сердечно-сосудистой системы и критерии МС. Общая характеристика пациентов, включенных в ис-

Таблица 1. Общая характеристика участников исследования

Показатель	Пациенты с метаболическим синдромом (n=41)	Здоровые добровольцы (n=17)	p
Мужчины	21 (51,2%)	8 (47,1%)	0,904
Женщины	20 (47,8%)	9 (52,9%)	0,931
Возраст, годы	58,71±12,20	49,78±10,56	0,010
Окружность талии, см			
• мужчины	107,77±13,94	88,5±8,5	0,0007
• женщины	97,35±10,8	83,22±11,1	0,002
ИМТ, кг/м²			
• мужчины	32,68±5,56	27,04±1,78	0,0003
• женщины	31,29±4,4	26,7±5,56	0,011
Глюкоза, ммоль/л	5,5±0,78	5,1±0,57	0,015
Общий холестерин, ммоль/л	5,53±1,42	5,3±0,85	0,420
Мочевая кислота, мкмоль/л	349,0±87,1	319,0±62,6	0,161
САД, мм рт. ст.	135,5±10,3	121,0±9,1	0,0004
ДАД, мм рт. ст.	82,0±11,5	75,0±7,4	0,029
СКФ (CKD-EPI), мл/мин/1,73 м ²	73,21±15,1	82,1±5,1	0,185

ИМТ – индекс массы тела; САД – систолическое артериальное давление; ДАД – диастолическое артериальное давление; СКФ – скорость клубочковой фильтрации рассчитывалась по формуле CKD-EPI; p – достоверность различий оценена с использованием критерия Манна–Уитни.

Рисунок 2. Характеристика группы пациентов с метаболическим синдромом (%)

следование, представлена в табл. 1, группы пациентов с МС – на рис. 2.

Всем участникам исследования проводили общеклиническое обследование – сбор жалоб, анамнеза заболевания и жизни, физикальное обследование, антропометрические измерения (масса тела, рост, окружность талии), расчет индекса массы тела (ИМТ) по формуле: масса (кг)/рост² (м²), измерение офисного АД; клинический анализ крови; биохимические анализы крови (уро-

вень креатинина, мочевой кислоты, глюкозы, гликированного гемоглобина, общего холестерина, липопротеидов высокой плотности, липопротеидов низкой плотности – ЛНП, липопротеидов очень низкой плотности, триглицеридов, тиреотропного гормона); общий анализ мочи; электрокардиография; эхокардиография; суточное мониторирование АД. Образцы венозной крови брали натощак. Для анализа метаболомного профиля участников исследования дополнительно брали образцы крови из вены натощак в пробирку с калиевой солью этилендиаминтетра-ацетата (ЭДТА). За 4 дня до дополнительного забора пациенты по возможности уменьшали или прекращали прием всех лекарственных препаратов, кроме жизненно необходимых; исключали прием ацетаминофена, всех витаминов, минералов, аминокислот и биологически активных добавок, включая спортивные и энергетические напитки, карнитина, альфа-кетоглутарата, добавок, содержащих яблочную кислоту, соли лимонной кислоты, малеиновой, или любые соли оротовой кислоты. За 24 ч до дополнительного взятия образцов крови по возможности рекомендовалось избегать приема пищи или питья любой продукции, содержащей сахарозаменители (аспартат, NutraSweet и т.д.), глутаматмононатрия (MSG), не придерживаться в этот период монодиеты.

Сразу после дополнительного взятия крови плазму отделяли при 2000 об/мин в течение 15 мин. Собранные образцы плазмы хранили при температуре –80 °С. Для анализа аликвоты при сохранении температурного режима доставляли в лабораторию фармакокинетики и метаболомного анализа Института трансляционной медицины и биотехнологии Сеченовского Университета

в целях проведения нецелевого метаболомного профилирования с использованием ВЭЖХ в сочетании с масс-спектрометром высокого разрешения (ВЭЖХ-qTOF) и целевого метаболомного анализа образцов с применением ВЭЖХ в сочетании с ВЭЖХ-МС/МС. Для получения метаболомного профиля образец после специальной подготовки анализировали на газовом хромато-масс-спектрометре «Маэстро» с квадрупольным анализатором Agilent 5977. Анализ проводили в положительном режиме ионизации методом электрораспыления. Идентификацию и количественную оценку выполняли путем мониторинга множественных реакций. Стандартизацию осуществляли при помощи введения в образцы стандартов с пиковой изотопной маркировкой. Масс-спектрометрию проводили в следующих условиях: время выдержки 0,019–0,025 с; капиллярное напряжение 2 кВ; в качестве среды столкновения использовался азот, температура источника 150 °С. Этапы импорта и предварительной обработки для целевых масс-спектральных данных были выполнены с помощью программного обеспечения TargetLynx. Концентрацию метаболитов рассчитывали в соответствии с интенсивностью сигнала аналитов и соответствующими внутренними стандартами. Первичная информация об интенсивностях пиков, их времени удерживания и масс-спектральных характеристиках была получена после обработки хроматограмм при помощи программного обеспечения XCMS. Идентификацию метаболитов осуществляли

при помощи библиотеки масс-спектральной информации Golm Metabolome Database. Результаты обрабатывали при помощи программ Statistica 8,0; SIMCAP 13,0 и Metaboanalyst 4.0. Для выявления статистически значимых различий между группами использован тест Манна–Уитни, критерием достоверности различий служило значение $p < 0,05$.

Результаты

В нашем исследовании было проведено метаболомное профилирование двух групп исследуемых – пациентов с МС и клинически здоровых добровольцев. С использованием нецелевого подхода идентифицировано более 106 метаболитов. При использовании метода главных компонент (РСА) образцов, сильно отличающихся по своим характеристикам от основных групп, не выявлено (рис. 3, А). Незначительные отличия могут быть связаны с сопутствующей патологией конкретного исследуемого или принимаемыми им препаратами. При дальнейшем проведении дискриминантного анализа (Orthogonal Partial Least Square Discriminant Analysis – OPLS-DA) всех данных метаболитов удалось обнаружить компоненты, позволяющие разделить исследуемых на 2 группы и продемонстрировать различия метаболомных профилей пациентов основной группы и здоровых добровольцев (рис. 3, Б).

По результатам таргетного анализа были выявлены статистически значимые ($p < 0,05$) различия между груп-

Рисунок 3. Распределение пациентов с метаболическим синдромом и здоровых добровольцев с помощью метода главных компонент – РСА (А) и метода OPLS-DA (Б) по группам

0 – здоровые добровольцы; 1 – пациенты с метаболическим синдромом; PC – главные компоненты (principal components); T score – первая главная компонента; Orthogonal T score – вторая главная компонента ортогональная первой.

Таблица 2. Метаболиты, статистически значимо различающиеся между пациентами с метаболическим синдромом и здоровыми добровольцами

Метаболит	Пациенты с МС (n=41)	Здоровые добровольцы (n=17)	p
3-гидрокси-гексадеаноилкарнитин	30,234·10 ⁴	23,839·10 ⁴	0,042
О-ацил-L-карнитин	12,525	9,76	0,001
Асимметричный диметиларгинин	31,554·10 ⁴	27,49·10 ⁴	0,022
Гексааноилкарнитин	64,06·10 ³	44,07·10 ³	0,001
Серин	259,844	175,335	0,005
Холин	12,689	10,171	0,007
Цистеин	390,15	306,92	0,005

p – достоверность различий оценена с использованием критерия Манна–Уитни.

Рисунок 4. Карта отношений средних значений концентрации метаболитов (heatmap)

0 – здоровые добровольцы; 1 – пациенты с метаболическим синдромом. Красным цветом обозначено увеличение концентрации метаболита, синим цветом – уменьшение концентрации метаболита в выделенной группе. Интенсивность цвета отражает степень различия концентраций метаболита между собой.

Serin – серин; Tetradecadiencarnitine – тетрадекадиенкарнитин; Octanoilcarnitine – октаноилкарнитин; Decanoilcarnitine – деканоилкарнитин; 3-Hydroxyhexadecanoilcarnitine – 3-гидрокси-гексадеканойлкарнитин; L-Acetylarnitine – L-ацетилкарнитин; Oleoilcarnitine – олеоилкарнитин; Alanine – аланин; Proline – пролин; Asparagine – аспарагин; Tyrosine – тирозин; Isoleucine – изолейцин; Threonine – треонин; Valine – валин; Leucine – лейцин; Glutamicacid – глутаминовая кислота; Cysteine – цистеин; uricAcid – мочевая кислота; Propionylcarnitine – пропионилкарнитин; hydroxyisovaleroilcarnitine – гидроксизовалероилкарнитин; 11-desoxycorticosterone – 11-дезоксикортикостерон; Pyridoxal Phosphate – пиридоксальфосфат; Asymmetric dimethylarginine – асимметричный диметиларгинин; Choline – холин.

пами больных МС и здоровыми добровольцами по 7 метаболитам: аминокислотам и ацилкарнитинам (табл. 2).

Кроме того, мы сравнили вариабельную значимость всех метаболитов и выбрали наиболее значимые для составления карты отношений средних значений концентрации метаболитов (рис. 4).

Как видно из карты отношений, повышенная концентрация большинства выбранных метаболитов преобладает у пациентов в группе с МС. Однако стоит отметить, что в контрольной группе также отмечались выбросы по концентрации, и наоборот, в группе МС выявлены образцы с пониженной концентрацией ряда метаболитов, что, вероятнее всего, было связано с приемом лекарственных препаратов.

Обсуждение

В последние годы возрос интерес к исследованиям метаболома у пациентов с различными метаболическими нарушениями, в том числе такими, как сахарный диабет 2-го типа и ожирение [10]. Тем не менее патогенетические пути, приводящие к изменению этих метаболитов, плохо изучены, и до сих пор нет четкого понимания, какие именно механизмы определяют траекторию развития ССЗ у пациентов с МС. Мы провели сравнительный анализ метаболомного профиля пациентов с МС и здоровых добровольцев, у которых отсутствовали признаки заболеваний сердечно-сосудистой системы и МС. Мы обнаружили, что содержание в крови ряда аминокислот, включая холин, цистеин, серин и группу ацилкарнитинов, у пациентов с МС было значительно выше, чем в контрольной группе. Полученные результаты частично согласуются с результатами предыдущих экспериментальных и клинических исследований метаболомного профиля у пациентов с различными ССЗ. Так, недавние исследования на модели спонтанно гипертензивных мышей показали, что длительное повышение АД приводит к значительному изменению метаболизма миокарда, еще до начала его ремоделирования и нарушения функции [11]. В этой работе были обнаружены избыточные концентрации в ткани сердца метаболитов, не участвующих в синтезе АТФ, в том числе увеличение концентрации длинноцепочечных жирных ацилкарнитинов. Нами впервые получены данные о повышении уровней ацилкарнитинов у пациентов с МС и артериальной гипертензией. Наше исследование подтверждает экспериментальные наблюдения и указывает на возможность использования оценки уровня ацилкарнитинов в качестве дополнительного фактора риска развития ССЗ.

Среди аминокислот, чья роль в развитии и прогрессировании ССЗ широко изучается в последние десятилетия, стоит отметить холин. Он является участником синтеза липопротеидов, фосфолипидов и нейротрансмиттеров

и содержится в большом количестве в молочных продуктах и рыбе. Повышенные концентрации холина в плазме крови выявляются у пациентов с метаболическими нарушениями и ИБС, а также ассоциируются с повышенным риском развития инфаркта миокарда, что, по мнению H. Schartum-Hansen и соавт., может быть использовано для изменения шкалы риска развития сердечно-сосудистых осложнений [12]. В целом наши результаты согласуются с предыдущими работами о связи холина с метаболическими нарушениями и прогрессированием ССЗ [13, 14]. В нашей работе выявлено статистически значимое различие уровня холина между группами исследуемых. Кроме того, установлена положительная корреляция его уровня с такими критериями МС, как окружность талии и уровень общего холестерина. С учетом участия холина в синтезе липидов крови эти данные могут быть использованы не только в качестве дополнительного биомаркера развития ССЗ, но и служить основанием для потенциально нового таргетного подхода к лечению дислипидемии.

Аналогичные результаты были получены в отношении цистеина. Так, в 2015 г. N. Mohorko и соавт. [15] обнаружили значительное повышение концентрации цистеина у пациентов в отсутствие критериев МС, но уже имеющих отдельные метаболические нарушения. Наши данные полностью подтверждают теорию нарушения метаболизма цистеина у пациентов с МС. Эти наблюдения позволяют предположить, что оценка уровня цистеина может быть использована как биомаркер у пациентов, не имеющих симптомов, и включена в стандартное прогнозирование риска развития ССЗ. Одним из основных преимуществ метаболомного профилирования в сравнении с имеющимися биомаркерами является высокая чувствительность методики. Однако очевидно, что для эффективного использования полученной информации и оценки возможностей и ограничений в диагностике и прогнозировании риска требуется дальнейшее изучение проблемы.

Ограничения

Ограничениями нашего исследования являлись небольшое число участников и одномоментный его характер. Однако мы планируем продолжить работу, включить большее число участников и проследить динамику концентрации метаболитов для большей достоверности данных, в перспективе выявив ранние метаболомные маркеры начала развития МС как совокупности факторов риска развития ССЗ.

Заключение

В настоящее время не вызывает сомнения значимость метаболических процессов в развитии и прогрессировании сердечно-сосудистых заболеваний. Очевидна необ-

ходимость накопления базы данных о всех метаболитах и метаболических путях, свойственных тому или иному заболеванию. В проведенном исследовании идентифицированы метаболиты, наиболее специфичные для пациентов с метаболическим синдромом, который в большинстве случаев предшествует развитию сердечно-сосудистых заболеваний. Среди них выявлены как уже известные при сердечно-сосудистой патологии метаболиты, такие как асимметричный диметиларгинин, холин и цистеин, так и менее изученные – серин. Нами впервые получены данные о повышении уровней ацикарнитин у пациентов с метаболическим синдромом и артериальной гипертензией, что прежде изучалось только в ходе экспериментальных исследований. Можно предположить, что повышенные концентрации комбинации аминокислот и карнитин могут рассматриваться в роли возможных дополнительных факторов риска развития сердечно-сосудистых заболеваний. Помимо этого, об-

наруженные метаболомные пути представляют интерес для поиска возможных мишеней для терапевтического воздействия.

Финансирование

Данная научно-исследовательская работа проведена при финансовой поддержке Российского Фонда Фундаментальных Исследований в рамках научного проекта 18-315-00135.

Конфликт интересов

Конфликт интересов отсутствует.

Работа поддерживается «Проектом повышения конкурентоспособности ведущих российских университетов среди ведущих мировых научно-образовательных центров».

Статья поступила 20.10.19

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Jiang Z, Zhou X, Li R, Michal JJ, Zhang S, Dodson MV et al. Whole transcriptome analysis with sequencing: methods, challenges and potential solutions. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 2015;72(18):3425–39. DOI: 10.1007/s00018-015-1934-y
- Nicholson JK, Lindon JC. *Metabonomics*. Nature. 2008;455(7216):1054–6. DOI: 10.1038/4551054a
- Serkova NJ, Niemann CU. Pattern recognition and biomarker validation using quantitative 1 H-NMR-based metabolomics. *Expert Review of Molecular Diagnostics*. 2006;6(5):717–31. DOI: 10.1586/14737159.6.5.717
- Crutchfield CA, Lu W, Melamud E, Rabinowitz JD. Mass Spectrometry-Based Metabolomics of Yeast. In: *Methods in Enzymology* Elsevier; 2010.
- Coen M, Holmes E, Lindon JC, Nicholson JK. NMR-Based Metabolic Profiling and Metabonomic Approaches to Problems in Molecular Toxicology. *Chemical Research in Toxicology*. 2008;21(1):9–27. DOI: 10.1021/tx700335d
- Pan Z, Raftery D. Comparing and combining NMR spectroscopy and mass spectrometry in metabolomics. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2007;387(2):525–7. DOI: 10.1007/s00216-006-0687-8
- Fiehn O. Metabolomics by Gas Chromatography–Mass Spectrometry: Combined Targeted and Untargeted Profiling. *Current Protocols in Molecular Biology*. 2016;114(1):30.4.1–30.4.32. DOI: 10.1002/0471142727.mb3004s114
- Wiklund PK, Pekkala S, Autio R, Munukka E, Xu L, Saltevo J et al. Serum metabolic profiles in overweight and obese women with and without metabolic syndrome. *Diabetology & Metabolic Syndrome*. 2014;6(1):40. DOI: 10.1186/1758-5996-6-40
- Ministry of Health of the Russian Federation. Recommendations for the management of patients with metabolic syndrome. Clinical recommendations. - Moscow. 2013. - 43p. Av. at: https://mzdrav.rk.gov.ru/file/mzdrav_18042014_Klinicheskie_rekomendacii_Metabolicheskij_sindrom.pdf. [Russian: Министерство здравоохранения РФ. Рекомендации по ведению больных с метаболическим синдромом. Клинические рекомендации. – Москва, 2013. – 43с. Доступно на: https://mzdrav.rk.gov.ru/file/mzdrav_18042014_Klinicheskie_rekomendacii_Metabolicheskij_sindrom.pdf]
- Lent-Schochet D, McLaughlin M, Ramakrishnan N, Jialal I. Exploratory metabolomics of metabolic syndrome: A status report. *World Journal of Diabetes*. 2019;10(1):23–36. DOI: 10.4239/wjd.v10.i1.23
- Li J, Kemp BA, Howell NL, Massey J, Mińczuk K, Huang Q et al. Metabolic Changes in Spontaneously Hypertensive Rat Hearts Precede Cardiac Dysfunction and Left Ventricular Hypertrophy. *Journal of the American Heart Association*. 2019;8(4):e010926. DOI: 10.1161/JAHA.118.010926
- Schartum-Hansen H, Pedersen ER, Svingen GF, Ueland PM, Seifert R, Ebbing M et al. Plasma choline, smoking, and long-term prognosis in patients with stable angina pectoris. *European Journal of Preventive Cardiology*. 2015;22(5):606–14. DOI: 10.1177/2047487314524867
- Konstantinova SV, Tell GS, Vollset SE, Nygård O, Bleie Ø, Ueland PM. Divergent Associations of Plasma Choline and Betaine with Components of Metabolic Syndrome in Middle Age and Elderly Men and Women. *The Journal of Nutrition*. 2008;138(5):914–20. DOI: 10.1093/jn/138.5.914
- Roe AJ, Zhang S, Bhadelia RA, Johnson EJ, Lichtenstein AH, Rogers GT et al. Choline and its metabolites are differently associated with cardiometabolic risk factors, history of cardiovascular disease, and MRI-documented cerebrovascular disease in older adults. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2017;105(6):1283–90. DOI: 10.3945/ajcn.116.137158
- Mohorko N, Petelin A, Jurdana M, Biolo G, Jenko-Pražnikar Z. Elevated Serum Levels of Cysteine and Tyrosine: Early Biomarkers in Asymptomatic Adults at Increased Risk of Developing Metabolic Syndrome. *BioMed Research International*. 2015;2015:418681. DOI: 10.1155/2015/418681