

Храмцов Денис Миколайович,

кандидат медичних наук,

доцент кафедри терапевтичних дисциплін,

ДВНЗ «Чорноморський національний університет імені Петра Могили»

krot05091976@gmail.com

<https://orcid.org/0000-0001-9254-5814>

м. Миколаїв, Україна

Стоянов Олександр Миколайович,

доктор медичних наук,

професор кафедри неврології та нейрохірургії,

ДВНЗ «Одеський національний медичний університет»

anstoyanov@ukr.net

<https://orcid.org/0000-0002-3375-0452>

м. Одеса, Україна

Пишеченко Катерина Миколаївна,

лікар-невролог,

Приватний медичний центр «Експерт Хелс»

dokkaterina103@gmail.com

<https://orcid.org/0009-0005-7730-9596>

м. Одеса, Україна

Вікаренко Марина Сергіївна,

лікар-невролог,

Приватний медичний центр «Експерт Хелс»

marina.vikarenko@gmail.com

<https://orcid.org/0000-0002-8238-6802>

м. Одеса, Україна

Калашніков Валерій Йосипович,

кандидат медичних наук,

доцент кафедри ультразвукової та функціональної діагностики

науково-навчального інституту післядипломної освіти,

ДВНЗ «Харківський національний медичний університет»

dr.valkalash@gmail.com

<https://orcid.org/0000-0002-7012-1698>

м. Харків, Україна

Метаболом цереброваскулярної хвороби. Методи дослідження та перспективи клінічного застосування

Огляд присвячений перспективам застосування метаболомічних підходів до діагностики та прогнозування перебігу цереброваскулярної хвороби. Визначені основні методи дослідження, показано, що дослідження метаболому можуть бути корисними для розробки нових методів клінічного прогнозування у хворих на цереброваскулярну хворобу.

Оцінка метаболому дозволяє визначати фенотипи організму. Метаболіти можна ідентифікувати та класифікувати за допомогою низки різних технологій, включаючи ядерно магнітно резонансну спектроскопію та мас-спектрометрію. При цьому їх необхідно поєднувати з різними формами рідинної хроматографії, газової хроматографії або капілярного електрофорезу, щоб полегшити розділення сполук. Кожен метод, як правило, здатний одночасно ідентифікувати або охарактеризувати 50–5000 різних метаболітів або «особливостей» метаболітів, залежно від інструменту чи протоколу, що використовується. На сьогодні неможливо проаналізувати весь спектр метаболітів одним аналітичним методом, тому застосовуються їх комбінації.

Є докази, що численні сироваткові метаболіти пов'язані з тяжкістю хвороби малих судин, в тому числі класом за Fazekas, зниженням когнітивних функцій та деменцією.

На думку авторів необхідно провести подальші дослідження, щоб визначити, чи є ці асоціації стійкими причинно-наслідковими зв'язками та чи можуть вони використовуватися для прогнозу швидкості прогресування та тяжкості початку лакунарного інсульту та деменції, як у клінічній практиці, так й у фундаментальній науці.

Автори роблять висновки, що основними методами дослідження метаболому є спектроскопія ядерного магнітного резонансу та мас-спектрометрія, які дозволяють розробляти нові методи прогнозування цереброваскулярних захворювань, а численні сироваткові метаболіти пов'язані з тяжкістю хвороби малих судин.

Ключові слова: метаболом, неінфекційні захворювання, цереброваскулярна хвороба, діагностика, прогнозування.

Khrantsov Denys Mykolayovych, MD, PhD, Associate Professor at the Department of Therapeutic Disciplines, Black Sea National University named after P. Mohyly, krot05091976@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-9254-5814>, Mykolaiv, Ukraine

Stoyanov Oleksandr Mykolaiovych, MD, PhD, D.Sci., Professor at the Department of Neurology and Neurosurgery, Odesa National Medical University, anstoyanov@ukr.net, <https://orcid.org/0000-0002-3375-0452>, Odesa, Ukraine

Pshechenko Kateryna Mykolaivna, MD, Neurologist of the Private Medical Center "Expert Health", dokkaterina103@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0005-7730-9596>, Odessa, Ukraine

Vikarenko Maryna Serhiivna, MD, Neurologist of the Private Medical Center "Expert Health", marina.vikarenko@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-8238-6802>, Odessa, Ukraine

Kalashnikov Valeriy Yosypovych, MD, PhD, Associate Professor at the Department of Ultrasound and Functional Diagnostics of the Scientific and Educational Institute of Postgraduate Education, Kharkiv National Medical University, dr.valkalash@gmail.com, <https://orcid.org/000-0002-7012-1698>, Kharkiv, Ukraine

Metabolome of cerebrovascular disease. Research methods and prospects for clinical application

The review is devoted to the prospects of applying metabolomic approaches to the diagnosis and prediction of the course of cerebrovascular disease. The main methods of research are defined, it is shown that metabolome studies can be useful for the development of new methods of clinical forecasting in patients with cerebrovascular disease.

Evaluation of the metabolome allows to determine the phenotypes of the organism. Metabolites can be identified and classified using a number of different technologies, including nuclear magnetic resonance spectroscopy and mass spectrometry. At the same time, they must be combined with various forms of liquid chromatography, gas chromatography or capillary electrophoresis to facilitate the separation of compounds. Each method is typically capable of simultaneously identifying or characterizing 50-5,000 different metabolites or «features» of metabolites, depending on the instrument or protocol used. Today, it is impossible to analyze the entire spectrum of metabolites with one analytical method, so their combinations are used.

There is evidence that multiple serum metabolites are associated with the severity of small vessel disease, including Fazekas class, cognitive decline, and dementia.

According to the authors, further research is needed to determine whether these associations are robust causal relationships and whether they can be used to predict the rate of progression and severity of onset of lacunar stroke and dementia, both in clinical practice and in basic science.

The authors conclude that the main methods of studying the metabolome are nuclear magnetic resonance spectroscopy and mass spectrometry, which will allow the development of new methods of predicting cerebrovascular diseases, and numerous serum metabolites are associated with the severity of small vessel disease.

Key words: metabolome, non-infectious diseases, cerebrovascular disease, diagnosis, prognosis.

Метаболом являє собою сукупність усіх метаболітів, які є кінцевим продуктом обміну речовин. Таким чином він репрезентує повний набір дрібномолекулярних хімічних речовин, знайдених у біологічному зразку [1, 2]. Біологічним зразком може бути клітина, клітинна органела, орган, тканина, тканинний екстракт, біологічна рідина або цілий організм. Дрібномолекулярні хімічні речовини, знайдені в метаболомі, можуть включати як ендogenous метаболіти, які природним чином виробляються організмом (такі як амінокислоти, органічні кислоти, нуклеїнові кислоти, жирні кислоти, аміни, цукру, вітаміни, кофактори, пігменти, антибіотики, тощо), а також екзогенні хімічні речовини (такі як ліки, забруднювачі навколишнього середовища, харчові добавки, токсини та інші ксенобіотики), які не виробляються організмом природним шляхом [1, 3].

Іншими словами, існує як ендogenous метаболом, так і екзогенний метаболом. Ендogenous метаболом можна додатково розділити на «первинний» і «вторинний» метаболом (особливо, коли йдеться про рослинні або мікробні метаболоми). Основний метаболіт бере безпосередню участь у нормальному рості, розвитку та розмноженні. Вторинний метаболіт не бере безпосередньої участі в цих процесах, але зазвичай виконує важливу екологічну функцію. Вторинні метаболіти можуть включати пігменти, антибіотики або відходи, отримані від частково метаболізованих ксенобіотиків.

Дослідження метаболома називається метаболомікою, цей напрям активно розвивається в останні 20 років [1, 3, 4].

Слово «метаболом» (англійською *metabolome*) є похідним від слів «метаболіт» (**metabolite**) і «хромосома» (**chromosome**). На момент створення терміну панувала думка, що метаболіти опосередковано кодуються генами або діють на гени та генні продукти. Термін «метаболом» вперше був використаний у 1998 році і, ймовірно, був створений для відповідності існуючим біологічним термінам, що стосуються повного набору генів (геном), повного набору білків (протеом) і повного набору транскриптів (транскриптом). Перша книга з метаболоміки була опублікована в 2003 році [5] Перший журнал, присвячений метаболоміці (під простою назвою «Метаболоміка»), був випущений у 2005 році, на сьогодні він має індекс цитованості $h=85$ і входить до Q2 видань з системної біології та клінічної біохімії [6]

Оцінка метаболому дозволяє визначати фенотипи організму. Метаболіти можна виміряти (ідентифікувати, кількісно або класифікувати) за допомогою низки різних технологій, включаючи ЯМР-спектроскопію та мас-спектрометрію. Більшість методів мас-спектрометрії (MS) необхідно поєднувати з різними формами рідинної хроматографії (LC), газової хроматографії (GC) або капілярного електрофорезу (CE),

щоб полегшити розділення сполук. Кожен метод, як правило, здатний одночасно ідентифікувати або охарактеризувати 50–5000 різних метаболітів або «особливостей» метаболітів, залежно від інструменту чи протоколу, що використовується. В даний час неможливо проаналізувати весь спектр метаболітів одним аналітичним методом, тому застосовуються комбінації аналітичних методів [7–10].

Спектроскопія ядерного магнітного резонансу (ЯМР) – це метод аналітичної хімії, який вимірює поглинання радіочастотного випромінювання конкретних ядер, коли молекули, що містять ці ядра, поміщаються в сильні магнітні поля. Частота (тобто хімічний зсув), з якою даний атом або ядро поглинає, сильно залежить від хімічного середовища (зв'язок, хімічна структура найближчих сусідів, розчинник) цього атома в даній молекулі. Картини поглинання ЯМР створюють «резонансні» піки на різних частотах або різних хімічних зсувах – ця сукупність піків називається спектром ЯМР. Оскільки кожна хімічна сполука має різну хімічну структуру, кожна сполука матиме унікальний (або майже унікальний) спектр ЯМР. Як результат, ЯМР особливо корисний для характеристики, ідентифікації та кількісного визначення малих молекул, таких як метаболіти. Широке використання ЯМР для «класичних» метаболічних досліджень, а також його виняткова здатність обробляти складні суміші метаболітів, ймовірно, є причиною того, чому ЯМР був однією з перших технологій, широко прийнятих для рутинних вимірювань метаболомів. Як аналітичний метод, ЯМР є неруйнівним, неупередженим, легко піддається кількісному вимірюванню, не потребує або не потребує розділення, дозволяє ідентифікувати нові сполуки та не потребує хімічної дериватизації. ЯМР особливо підходить для виявлення сполук, які менш піддаються аналізу РХ-МС, таких як цукри, аміни або летючі рідини, або аналізу ГХ-МС, таких як великі молекули (>500 Да) або відносно нереакційноздатні сполуки. ЯМР є не дуже чутливою технікою з нижньою межею виявлення приблизно 5 мкМ. Зазвичай 50–150 сполук можна ідентифікувати за допомогою метаболомічних досліджень на основі ЯМР [7].

Мас-спектрометрія – це аналітичний метод, який вимірює відношення маси до заряду молекул. Молекули або молекулярні фрагменти, як правило, заряджаються або іонізуються, розпилюючи їх через заряджене поле (іонізація електророзпиленням), бомбардуючи їх електронами з гарячої нитки розжарювання (електронна іонізація) або вибухаючи лазером, коли вони поміщаються на пластини зі спеціальним покриттям (за допомогою матриці). лазерна десорбційна іонізація). Потім заряджені молекули рухаються крізь простір за допомогою електродів або магнітів, і вимірюється їхня швидкість, швидкість викривлення або інші фізичні характеристики, щоб визначити співвідношення маси та заряду. За цими даними можна визначити масу вихідної молекули. Подальша фрагментація молекули через контрольовані зіткнення з молекулами газу або електронами може допомогти визначити структуру молекул. Дуже точні вимірювання маси також можна використовувати для визначення елементних формул

або елементного складу сполук. Більшість форм мас-спектрометрії вимагають певної форми розділення за допомогою рідинної або газової хроматографії. Цей етап розділення необхідний для спрощення отриманих мас-спектрів і для більш точної ідентифікації сполуки. Деякі методи мас-спектрометрії також вимагають, щоб молекули були дериватизовані або хімічно модифіковані, щоб вони були більш придатними для хроматографічного розділення (це особливо вірно для ГХ-МС). Як аналітичний метод, МС є дуже чутливим методом, який вимагає дуже мало зразка (<1 нг матеріалу або <10 мкл біорідини) і може генерувати ознаки для тисяч метаболітів з одного зразка. Інструменти МС також можна налаштувати для дуже високопродуктивного аналізу метаболомів (від сотень до тисяч зразків на день). Кількісне визначення метаболітів і характеристика нових структур сполук є більш складним за допомогою МС, ніж за допомогою ЯМР. РХ-МС особливо підходить для виявлення гідрофобних молекул (ліпідів, жирних кислот) і пептидів, тоді як ГХ-МС найкраще підходить для виявлення малих молекул (<500 Да) і дуже летких сполук (складних ефірів, амінів, кетонів, алканів, тіолів) [8].

На відміну від геному або навіть протеома, метаболом є дуже динамічною сутністю, яка може різко змінюватися протягом лише секунд або хвилин. У результаті зростає інтерес до вимірювання метаболітів протягом декількох періодів часу або протягом коротких інтервалів часу за допомогою модифікованих версій ЯМР або метаболоміки на основі МС [9].

Оскільки метаболом організму значною мірою визначається його геномом, різні види матимуть різні метаболоми [1, 2, 10]. Крім того, різні тканини, різні органи та біологічні рідини, пов'язані з цими органами та тканинами, також можуть мати чітко різні метаболоми. Той факт, що різні організми та різні тканини/біологічні рідини мають такі різні метаболоми, призвів до розробки ряду баз даних метаболомів, специфічних для організму та біорідини. Деякі з більш відомих метаболомних баз даних включають Human Metabolome Database або HMDB [11] Yeast Metabolome Database або YMDB [12] E. coli Metabolome Database або ECMDB [13] Arabidopsis metabolome Database або AraCyc [14] як а також базу даних метаболомів сечі [15], базу даних метаболомів спинномозкової рідини [16] і базу даних метаболомів сироватки [17]. Останні три бази даних стосуються біорідин людини. Також існує низка дуже популярних баз даних загальних метаболітів, включаючи KEGG, [18] MetaboLights [19], Golm Metabolome Database [20], MetaCyc [21] LipidMaps [22] і Metlin [23]. Бази даних метаболомів можна відрізнити від баз даних метаболітів тим, що бази даних метаболітів містять незначно анотовані або синоптичні дані про метаболіти багатьох організмів, тоді як бази даних метаболомів містять детальні дані про хімічні речовини, шляхи, спектральні дані та концентрацію метаболітів для конкретних організмів.

Human Metabolome Database – це база даних із відкритим доступом, що містить докладні дані про понад 40 000 метаболітів, які вже ідентифіковані або, ймовірно, будуть знайдені в організмі людини. HMDB

містить три типи інформації: 1) хімічну інформацію, 2) клінічну інформацію та 3) біохімічну інформацію. Хімічні дані включають понад 40 000 структур метаболітів із детальним описом, розширеною хімічною класифікацією, інформацією про синтез та спостережуваними/розрахованими хімічними властивостями. Він також містить майже 10 000 експериментально вимірених спектрів ЯМР, ГХ-МС і РХ/МС більш ніж 1100 різних метаболітів. Клінічна інформація включає дані про >10 000 концентрацій метаболітів-біологічних рідин, інформацію про концентрацію метаболітів щодо більш ніж 600 різних захворювань людини та дані шляхів більш ніж 200 різних вроджених помилок метаболізму. Біохімічна інформація включає майже 6000 білкових (і ДНК) послідовностей і понад 5000 біохімічних реакцій, які пов'язані з цими метаболітами. HMDB підтримує широкий спектр онлайн-запитів, включаючи текстовий пошук, пошук хімічної структури, пошук подібності послідовності та пошук спектральної подібності. Це робить його особливо корисним для метаболомічних дослідників, які намагаються ідентифікувати або зрозуміти метаболіти в клінічних метаболомічних дослідженнях. Перша версія HMDB була випущена 1 січня 2007 року та була складена вченими з Університету Альберти та Університету Калгарі. Тоді вони повідомили дані про 2500 метаболітів, 1200 ліків і 3500 харчових компонентів. Відтоді ці вчені значно розширили колекцію. Остання версія HMDB (версія 3.5) містить >16 000 ндогенних метаболітів, >1500 ліків і >22 000 харчових компонентів або харчових метаболітів [11]

Вчені з Університету Альберти систематично характеризували конкретні метаболоми біорідини, включаючи метаболом сироватки, метаболом сечі, метаболом спинномозкової рідини (ЦСР) і метаболом слини [15–17]. Ці зусилля включали як експериментальний метаболомічний аналіз (включаючи аналізи ЯМР, ГХ-МС, ІСП-МС, РХ-МС), так і обширний пошук літератури. Згідно з їхніми даними, метаболом сироватки крові людини містить щонайменше 4200 різних сполук (включаючи багато ліпідів), метаболом сечі людини містить щонайменше 3000 різних сполук (включаючи сотні летких речовин і кишкових мікробів). Метаболом спинномозкової рідини людини містить майже 500 різних сполук, тоді як метаболом слини людини містить приблизно 400 різних метаболітів, включаючи багато бактеріальних продуктів.

В останні роки зростає інтерес клініцистів до застосування досягнень метаболоміки для діагностики та прогнозування перебігу різноманітних захворювань, насамперед неінфекційних. Цереброваскулярна хвороба (ЦВХ) посідає у переліку неінфекційних захворювань особливе місце. До цієї нозологічної одиниці включають усі розлади, при яких ділянка мозку тимчасово або постійно уражені ішемією або кровотечею та одна або більше кровоносних судин головного мозку залучені в патологічний процес. ЦВХ є третьою причиною смерті у світі після ішемічної хвороби серця і злякисних новоутворень та посідають перше місце за частотою інвалідизації. Приблизно 50% пацієнтів, що вижили після гострого порушення мозкового кровотоку

мають залишковий неврологічний дефіцит і понад 25% потребують постійного догляду [24, 25]. Цереброваскулярні захворювання охоплюють широку категорію розладів, що впливають на мозковий кровообіг. До них належать не лише захворювання інтрапаренхіматозних і екстрапаренхіматозних мозкових кровоносних судин, а й аномалії в судинній системі, особливо сонних артерій і коронарних судин. Крім того, ЦВХ може бути обумовлена наявною коагулопатією.

Поряд з гострими порушеннями мозкового кровотоку велике значення мають хронічні дисциркуляторні розлади, в тому числі хвороба малих церебральних судин – хронічне, прогресуюче захворювання артерій, капілярів і дрібних вен, що живлять білу речовину та глибокі структури сірої речовини головного мозку [7]. Захворювання характеризується різноманітною клінічною картиною та специфічними змінами при нейровізуалізації та нейропатологічних дослідженнях головного мозку [7, 8].

Патологічні зміни зачіпають дрібні судини діаметром 50–400 мкм і призводять до пошкодження білої речовини підкіркових структур мозку [8]. Втім ХДС не обмежується судинами головного мозку, патологічний процес вражає весь організм. Він є клінічно гетерогенним і за оцінками експертів є найпоширенішим цереброваскулярним захворюванням [1, 2]. ХДС є причиною приблизно 20% усіх інсультів, у тому числі 25% ішемічних інсультів і 45% випадків судинних деменцій [5]

Аналіз метаболома у пацієнтів з ЦВХ надає нові можливості для розуміння патофізіології ішемічного інсульту [26, 27]. Таким чином, метаболоміка є перспективним методом оцінки глобальних метаболічних змін при інсульті [27]. Порівнюючи метаболічні профілі та їх динамічні зміни, можна з'ясувати зміни у пацієнтів, які отримували той чи інший вид лікування. Відомі специфічні метаболіти в крові пов'язані із захворюваннями судин [1, 17, 27]. Наприклад, пов'язана з ліпопротеїном фосфоліпаза А2 (Lp-PLA2) пов'язана з ризиком атеросклерозу і транзиторних ішемічних атак [28], а лізофосфатидилхоліні (LysoPC) є маркером ризику повторних інсультів [29]. Крім того, повідомляється, що метаболічні профілі при ЦВХ значно відрізняються від профілів здорових людей [15–17, 27]. Наприклад, зміни в метаболізмі сфінгомеліну та фосфатидилхоліну були незалежно пов'язані з ризиком інфаркту мозку у здорових дорослих. Виявлено декілька біомаркерів (N-кінцевий промозковий натрійуретичний пептид [NT-proBNP], d-димер, S100 β , нейрон-специфічна енолаза, вітамін D, кортизол, CRP, TNF- α , інтерлейкіни 1 та 6, інсулін, сечова кислота та альбумін). ефективних у виявленні пацієнтів із підвищеною ймовірністю кардіоемболічного ішемічного інсульту [26, 27, 30].

Результати існуючих досліджень показують, що метаболоміка є потужним інструментом, який можна використовувати для вивчення біомаркерів і пов'язаних шляхів розвитку інсульту.

Porcure N. et al. визначили (1-еніл-пальмітоїл)-2-арахідоноїл-GPC, 1-(1-еніл-пальмітоїл)-2-пальмітоїл-GPC і 5,6-дигідроурацил як метаболіти, які є прогностичними ознаками ішемічного інсульту у жінок, тоді

як Сальфа -андростан-Зальфа, 17бета-діол дисульфат, альфа-гідроксиізокапроат, тронат і білірубін прогнозували ішемічний інсульт у чоловіків.

Надефективна рідина хромато-мас-спектрометрія (UPLC-MS) і спектроскопія ядерного магнітного резонансу (ЯМР) є ефективними аналітичними методами для виявлення та вимірювання хімічних компонентів у зразках крові. Harshfield E et al. (2022) отримали базові метаболомічні профілі від 624 пацієнтів із симптоматичною МРТ-підтвердженою хворобою малих судин за 14 років спостереження [32].

Автори досліджували зв'язок між метаболітами та тяжкістю захворювання, оцінюваним за допомогою МРТ-маркерів захворювання та когнітивних параметрів. Вони також оцінили взаємозв'язок між метаболітами та майбутнім ризиком загальної деменції. При врахуванні довгострокового спостереження в аналізі часу до події майбутня захворюваність на деменцію була пов'язана з 25 метаболітами, включаючи нижчі рівні валіну, кофеїну та аналітів ЛПДНЩ, і більш високі рівні уроканату, аналітів ліпопротеїнів висо-

кої щільності ліпопротеїновий холестерин (ЛПВЩ), ЛПНЩ, а також креатину [32].

Таким чином, одержані докази того, що численні сироваткові метаболіти пов'язані з тяжкістю хвороби малих судин, в тому числі класом за Fazekas, зниженням когнітивних функцій та деменцією [32, 33]. Необхідно провести подальші дослідження, щоб визначити, чи є ці асоціації стійкими причинно-наслідковими зв'язками та чи можуть вони використовуватися для прогнозу швидкості прогресування та тяжкості початку лакунарного інсульту та деменції, як у клінічній практиці, так й у фундаментальній науці.

Висновки: 1. Основними методами дослідження метаболому є спектроскопія ЯМР та мас-спектрометрія. 2. Дослідження метаболому можуть бути корисними для розробки нових методів клінічного прогнозування у хворих на цереброваскулярну хворобу. 3. Численні сироваткові метаболіти пов'язані з тяжкістю хвороби малих судин, в тому числі класом за Fazekas, зниженням когнітивних функцій та деменцією.

Інформація про конфлікт інтересів. Конфлікту інтересів немає.

Інформація про фінансування. Автори гарантують, що вони не отримували жодних винагород у будь-якій формі, здатних вплинути на результати роботи.

Особистий внесок кожного автора у виконання роботи:

Храмцов Д.М. – ідея, мета, збір матеріалу дослідження;

Стоянов О.М. – ідея, мета, аналіз отриманих результатів;

Пшеченко К.М. – аналіз отриманих результатів;

Вікаренко М.С. – аналіз отриманих результатів;

Калашніков В.Й. – підготовка тексту статті.

ЛІТЕРАТУРА

1. Johnson CH, Ivanisevic J, Siuzdak G. Metabolomics: beyond biomarkers and towards mechanisms. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2016 Jul;17(7):451-9. doi: 10.1038/nrm.2016.25
2. Bujak R, Struck-Lewicka W, Markuszewski MJ, Kaliszan R. Metabolomics for laboratory diagnostics. *J Pharm Biomed Anal.* 2015 Sep 10;113:108-20. doi: 10.1016/j.jpba.2014.12.017.
3. Wang R, Li B, Lam SM, Shui G. Integration of lipidomics and metabolomics for in-depth understanding of cellular mechanism and disease progression. *J Genet Genomics.* 2020 Feb 20;47(2):69-83. doi: 10.1016/j.jgg.2019.11.009.
4. Chacko S, Haseeb YB, Haseeb S. Metabolomics Work Flow and Analytics in Systems Biology. *Curr Mol Med.* 2022;22(10):870-881. doi: 10.2174/1566524022666211217102105.
5. Metabolic Profiling: Its Role in Biomarker Discovery and Gene Function Analysis ed. Hariigan G., Goodacre R. Boston-Dordrecht-London Kluwer Academic Publishers. 2003, 318.
6. Metabolomics. <https://www.scimagojr.com/journalsearch.php?q=130171&tip=sid>
7. Rinschen MM, Ivanisevic J, Giera M, Siuzdak G. Identification of bioactive metabolites using activity metabolomics. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2019 Jun;20(6):353-367. doi: 10.1038/s41580-019-0108-4.
8. Jang C, Chen L, Rabinowitz JD. Metabolomics and Isotope Tracing. *Cell.* 2018 May 3;173(4):822-837. doi: 10.1016/j.cell.2018.03.055.
9. Bauermeister A, Mannocho-Russo H, Costa-Lotuf LV, Jarmusch AK, Dorrestein PC. Mass spectrometry-based metabolomics in microbiome investigations. *Nat Rev Microbiol.* 2022 Mar;20(3):143-160. doi: 10.1038/s41579-021-00621-9.
10. Wang S, Blair IA, Mesaros C. Analytical Methods for Mass Spectrometry-Based Metabolomics Studies. *Adv Exp Med :* 31347076.
11. Human Metabolome Database <https://hmdb.ca>
12. Yeast Metabolome Database <http://www.ymdb.ca>
13. E.coli Metabolome Database <https://ecmdb.ca>
14. Mueller LA, Zhang P, Rhee SY (June 2003). "AraCyc: a biochemical pathway database for Arabidopsis". *Plant Physiology.* 132 (2): 453–60. doi:10.1104/pp.102.017236.
15. Bouatra S, Aziat F, Mandal R, Guo AC, Wilson MR, Knox C, et al. (Sep 2013). "The human urine metabolome". *PLOS ONE.* 8 (9): e73076. Bibcode:2013PLoSO...873076B. doi:10.1371/journal.pone.0073076.
16. Mandal R, Guo AC, Chaudhary KK, Liu P, Yallou FS, Dong E, et al. (April 2012). "Multi-platform characterization of the human cerebrospinal fluid metabolome: a comprehensive and quantitative update". *Genome Medicine.* 4 (4): 38. doi:10.1186/gm337.

17. Psychogios N, Hau DD, Peng J, Guo AC, Mandal R, Bouatra S, et al. (February 2011). "The human serum metabolome". PLOS ONE. 6 (2): e16957. Bibcode:2011PLoSO...616957P. doi:10.1371/journal.pone.0016957.
18. Kanehisa M, Goto S (January 2000). "KEGG: kyoto encyclopedia of genes and genomes". Nucleic Acids Research. 28 (1): 27–30. doi:10.1093/nar/28.1.27.
19. Haug K, Salek RM, Conesa P, Hastings J, de Matos P, Rijnbeek M, et al. (January 2013). "MetaboLights--an open-access general-purpose repository for metabolomics studies and associated meta-data". Nucleic Acids Research. 41 (Database issue): D781-6. doi:10.1093/nar/gks1004.
20. Kopka J, Schauer N, Krueger S, Birkemeyer C, Usadel B, Bergmüller E, et al. (April 2005). "GMD@CSB.DB: the Golm Metabolome Database". Bioinformatics. 21 (8): 1635–8. doi:10.1093/bioinformatics/bti236.
21. Caspi R, Altman T, Dale JM, Dreher K, Fulcher CA, Gilham F, et al. (January 2010). "The MetaCyc database of metabolic pathways and enzymes and the BioCyc collection of pathway/genome databases". Nucleic Acids Research. 38 (Database issue): D473-9. doi:10.1093/nar/gkp875.
22. Fahy E, Sud M, Cotter D, Subramaniam S (July 2007). "LIPID MAPS online tools for lipid research". Nucleic Acids Research. 35 (Web Server issue): W606-12. doi:10.1093/nar/gkm324.
23. Smith CA, O'Maille G, Want EJ, Qin C, Trauger SA, Brandon TR, et al. (December 2005). "METLIN: a metabolite mass spectral database". Therapeutic Drug Monitoring. 27 (6): 747–51. doi:10.1097/01.ftd.0000179845.53213.39.
24. Goldstein LB. Introduction for Focused Updates in Cerebrovascular Disease. Stroke. 2020 Mar;51(3):708-710. doi: 10.1161/STROKEAHA.119.024159.
25. Vargas-González JC, Hachinski V. Insidious Cerebrovascular Disease-The Uncool Iceberg. JAMA Neurol. 2020 Feb 1;77(2):155-156. doi: 10.1001/jamaneurol.2019.3933.
26. Shin TH, Lee DY, Basith S, Manavalan B, Paik MJ, Rybinnik I, Mouradian MM, Ahn JH, Lee G. Metabolome Changes in Cerebral Ischemia. Cells. 2020 Jul 7;9(7):1630. doi: 10.3390/cells9071630.
27. Qureshi MI, Vorkas PA, Coupland AP, Jenkins IH, Holmes E, Davies AH. Lessons from Metabonomics on the Neurobiology of Stroke. Neuroscientist. 2017 Aug;23(4):374-382. doi: 10.1177/1073858416673327.
28. Kim M, Jung S, Kim SY, Lee SH, Lee JH. Prehypertension-associated elevation in circulating lysophosphatidylcholines, Lp-PLA2 activity, and oxidative stress. PLoS One. 2014 May 6;9(5):e96735. doi: 10.1371/journal.pone.0096735.
29. Ke C, Shi M, Guo D, Zhu Z, Zhong C, Xu T, Lu Y, Ding Y, Zhang Y. Metabolomics on vascular events and death after acute ischemic stroke: A prospective matched nested case-control study. Atherosclerosis. 2022 Jun;351:1-8. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2022.05.001.
30. Suissa L, Guignon JM, Graslin F, Robinet-Borgomano E, Chau Y, Sedat J, Lindenthal S, Pourcher T. Combined Omic Analyzes of Cerebral Thrombi: A New Molecular Approach to Identify Cardioembolic Stroke Origin. Stroke. 2021 Aug;52(9):2892-2901. doi: 10.1161/STROKEAHA.120.032129.
31. Poupore N, Chosed R, Arce S, Rainer R, Goodwin RL, Nathaniel TI. Metabolomic Profiles of Men and Women Ischemic Stroke Patients. Diagnostics (Basel). 2021 Sep 28;11(10):1786. doi: 10.3390/diagnostics11101786.
32. Harshfield EL, Sands CJ, Tuladhar AM, de Leeuw FE, Lewis MR, Markus HS. Metabolomic profiling in small vessel disease identifies multiple associations with disease severity. Brain. 2022 Jul 29;145(7):2461-2471. doi: 10.1093/brain/awac041.
33. Ma W, Yang YB, Xie TT, Xu Y, Liu N, Mo XN. Cerebral Small Vessel Disease: A Bibliometric Analysis. J Mol Neurosci. 2022 Nov;72(11):2345-2359. doi: 10.1007/s12031-022-02070-2.