

© ЖЛОБА А.А., СУББОТИНА Т.Ф., 2020

Жлоба А.А., Субботина Т.Ф.

ОЦЕНКА ГОМОАРГИНИНА И ФОЛИЕВОЙ КИСЛОТЫ У ПАЦИЕНТОВ С АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ

ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова»
Минздрава РФ, 197022, Санкт-Петербург, Россия

Согласно современным данным, низкое содержание фолиевой кислоты (ФК) вносит вклад в прогрессирование артериальной гипертензии (АГ), влияя на метаболизм клеток, задействованных в регуляции сосудистого тонуса, в том числе астроцитов нервной ткани. Также известно, что уровень ФК в нервной ткани и ликворе в 2-3 раза выше, чем в плазме. Из метаболических маркеров при сердечно-сосудистых заболеваниях выделяется также понижение уровня гомоаргинина (гАрг) плазмы. В нашем исследовании установлено, что у пациентов с АГ ($n=60$) уровень гАрг был почти в 2 раза ниже, чем у здоровых лиц, а у 75% ниже 1,80 мкМ. Недостаточность ФК, учитывая ее концентрацию в плазме, а также в сопоставлении с уровнем общего гомоцистеина (оГци) более 10,9 мкМ, встретилась у 78% пациентов. Уровням гАрг при значениях менее 1,80 мкМ соответствовало статистически значимое снижение ФК при содержании менее 13,5 нМ. Эта связь ($r = 0,63$, $p = 0,020$) проявляется у пациентов с АГ независимо от количества и выраженности поражений органов-мишеней (ПОМ). Показатели ФК и гАрг при сравнении глубины метаболических отклонений между подгруппами пациентов без ПОМ и с множественными ПОМ вели себя по-разному. Достоверные различия оказались на приемлемом уровне ($p=0,007$) только для показателя гАрг, тогда как для показателя ФК отмечалась лишь тенденция к снижению. Возможно, метаболические нарушения в нервной системе, связанные с необходимостью поддержания высоких концентраций ФК, вносят вклад в формирование гипертензивного статуса. Причинно-следственная связь параллельного понижения уровней гАрг и ФК у пациентов с АГ требует дальнейших исследований.

Ключевые слова: гомоаргинин; фолиевая кислота; артериальная гипертензия; гомоцистеин.

Для цитирования: Жлоба А.А., Субботина Т.Ф. Оценка гомоаргинина и фолиевой кислоты у пациентов с артериальной гипертензией. Клиническая лабораторная диагностика. 2020; 65 (8): 474-481. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2020-65-8-474-481>

Zhloba A.A., Subbotina T.F.

THE EVALUATION OF HOMOARGININE AND FOLIC ACID IN PATIENTS WITH ARTERIAL HYPERTENSION

Pavlov First Saint Petersburg State Medical University of Minzdrav of Russia, 197022, Saint- Petersburg, Russia

According to current data, a low level of folic acid (FA) contributes to the progression of arterial hypertension (AH), affecting the metabolism of cells that are involved in the vascular tone regulation, such as hypothalamic astrocytes of nervous tissue. It is also known that the level of FA in the nervous tissue and cerebrospinal fluid is 2-3 times higher than in plasma. There is another metabolic marker of cardiovascular diseases, the level of plasma homoarginine (hArg). The decrease in the level of plasma hArg is also known as a diagnostic sign. In our study, we established that in patients with AH ($n = 60$), the level of hArg was almost 2 times lower than in healthy individuals, and in 75% of cases the rate was below 1.80 μM . The insufficiency of FA taking into account its low level in plasma FA, as well as the level of total homocysteine (tHcy) higher than 10.9 μM , was observed in 78% of patients. hArg levels at values less than 1.80 μM corresponded to a statistically significant decrease in FA when its content was less than 13.5 nM. This relationship ($r = 0.63$, $p = 0.020$) appears in patients with AH, regardless of the number and severity of target organ damage (TOD). FA and hArg as metabolic markers exhibit various diagnostic capabilities when comparing subgroups of patients without TOD and with multiple TOD. Significant differences fared at an acceptable level ($p = 0.007$) only for the hArg levels, while for the FA concentrations there was only a trend to decrease. It is possible that metabolic disturbances in the central nervous system that are associated with the necessary to maintain high FA concentration contribute to the development of hypertensive status. The causal relationship of a parallel decrease in hArg and FA levels in patients with AH requires further research.

Key words: homoarginine; folic acid; arterial hypertension; homocysteine.

For citation: Zhloba A.A., Subbotina T.F. The evaluation of homoarginine and folic acid in patients with arterial hypertension. Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics). 2020; 65 (8): 474-481. (in Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2020-65-8-474-481>

For correspondence: Zhloba A.A., Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of Biochemistry Department of Scientific and Educational Institute of Biomedicine; e-mail: zhlobaaa@lspbmgmu.ru

Information about authors:

Zhloba A.A., <http://orcid.org/0000-0003-0605-7617>
Subbotina T.F., <http://orcid.org/0000-0002-2278-8391>

Acknowledgments. The research was carried out within the Ministry of Health framework of the Russian Federation. The authors would like to express their gratitude for organizational and information support to the management of Pavlov First Saint Petersburg State Medical University.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Received 02.04.2020
Accepted 14.05.2020

Введение. Артериальная гипертензия (АГ) возникает под воздействием сочетания как внешних факторов, так и генетических предрасположенностей, характерных для жителей различных регионов. Склонность к АГ, как показали современные исследования, в значительной мере связана с нарушением метаболизма одноуглеродных фрагментов с участием фолиевой кислоты (ФК) в форме тетрагидрофолиевой кислоты (ТГФК) в качестве кофермента [1, 2]. В лабораторной практике чаще встречается понижение уровня ФК в плазме крови, в частности, ее основной транспортной формы - 5-метил-тетрагидрофолиевой кислоты (5-метил-ТГФК) [3-5]. Недостатку (ниже 13,5 нМ) и дефициту (ниже 6,8 нМ) ФК могут сопутствовать недостаток железа и нарушение V_{12} -зависимого метаболизма, что проявляется в снижении содержания гемоглобина в крови, нарушении эритропоэза, генерации других клеток крови [1, 2]. В литературе последних лет наблюдается дискуссия о причинах возникновения функционального дефицита за счет нарушения коферментных функций ФК [6-8]. Улучшить разграничение пациентов с истинным и ложным недостатком ФК можно за счёт определения общего гомоцистеина (оГци). В предыдущей работе нами показано, что при повышении уровня оГци выше 10,9 мкМ при отсутствии нарушений функции почек и отсутствии нехватки витамина V_{12} , вероятнее всего наблюдается функциональный дефицит ФК [9]. С учётом большого влияния на метаболизм ФК и степень окисления переносимых ею одноуглеродных фрагментов в клетке со стороны коферментов окислительно-восстановительных реакций НАД и НАДФ, можно предположить высокую зависимость метаболических функций ФК от энергетического метаболизма, как в цитоплазме, так и в митохондриях [7]. Оценку отклонений энергетического метаболизма в настоящее время можно осуществить, определяя гомоаргинин (гАрг) в плазме крови, так как этот метаболит является дополнительным продуктом ключевой реакции биосинтеза креатина [10]. Известно также, что благодаря достаточному уровню гАрг в тканях и, соответственно, в эндотелии может достигаться угнетение аргиназа, конкурирующих за аргинин с эндотелиальной NO-синтазой [11]. Таким образом, уровень гАрг в плазме характеризует способность к эндогенному образованию креатина в тканях и одновременно характеризует этот метаболит как модулятор вазодилатации со стороны эндотелия.

Низкая концентрация гАрг в плазме является независимым предиктором неблагоприятных сердечно-сосудистых исходов и общей смертности [12, 13], а также прогрессирования хронического заболевания почек (ХБП) в различных популяциях [12, 14-15]. Понижение уровня гАрг в плазме менее 1,5 мкМ приводит к появлению статистически значимого риска острых ишемических событий с неблагоприятными исходами с встречаемостью в 25%, а дальнейшее снижение гАрг ниже 0,84 мкМ удваивает этот риск [16-18]. В предыдущей работе мы показали, что пониженный уровень гАрг в крови позволяет отнести пациента с ишемической болезнью сердца (ИБС) к когорте с наиболее глубокими и опасными изменениями тканевого метаболизма. [19]. Одновременно была определена связь низких уровней гАрг и повышения соотношения общий гомоцистеин/метионин у этих пациентов. Хотя из приведенного краткого обзора современных данных о ведущих метаболических факторах в прогрессировании АГ доказана роль ФК, а гАрг известен в качестве участника патологического процес-

са при различных сердечно-сосудистых заболеваниях, их вклад в прогрессирование АГ и в различных патологических условиях изучен недостаточно. Для оценки специалистами лабораторной медицины этих показателей в качестве диагностических и, в особенности, прогностических маркёров требуются лабораторные количественные характеристики их относительного вклада в прогрессирование АГ.

Цель данной работы заключалась в изучении взаимосвязи уровней ФК и гАрг в плазме пациентов с АГ без поражения органов-мишеней и с преимущественным патологическим процессом в органах мишенях - сердце, почках, мозге.

Материал и методы. Сбор клинического материала проходил с апреля по май 2018 г. на базе клиник ФГБОУ ВО Первого СПбГМУ им. И.П. Павлова Минздрава России. В исследование включены образцы крови от 60 пациентов с артериальной гипертензией (АГ), находившихся на стационарном лечении в клиниках терапевтического профиля. Критерием включения в исследование было наличие АГ (МКБ 10 I10/ I11/ I12/ I13). Диагностику АГ, а также отсутствие или наличие поражений органов-мишеней (ПОМ) выполнялись в соответствии с клиническими рекомендациями¹. Критериями исключения были: наличие заболеваний печени, онкогематологических и других онкопролиферативных заболеваний, острых воспалительных процессов, а также состояние беременности. Демографические данные, факторы риска, сведения о коморбидности и фоновой терапии представлены в табл. 1.

Материал исследования – плазма крови, взятой утром натощак из кубитальной вены в вакутейнеры с гепарином в качестве антикоагулянта. Отделение форменных элементов крови путем центрифугирования (580 g, 15 мин) проводили в течение 1 ч после взятия крови. Образцы плазмы до анализа хранили аликвотами по 1,0 мл при температуре -80 °С. Протокол исследования в соответствии с принципами Хельсинкской декларации был одобрен Этическим комитетом ПСПбГМУ им. И.П. Павлова.

Основные биохимические показатели определяли в клинико-диагностической лаборатории ПСПбГМУ им. И.П. Павлова с помощью стандартных наборов фирмы «Roche diagnostics» (Германия) для биохимического анализатора Cobas Integra 400 Plus (Германия). Определение концентрации общего холестерина проводили с использованием наборов реактивов фирмы «Abbott Clinical Chemistry» (США). Концентрацию ФК в плазме определяли методом конкурентного иммунохемилюминесцентного анализа с использованием наборов реагентов и калибраторов, согласно инструкции производителя (Beckman Coulter Inc., США) и иммуноанализатора Access 2 Immunoassay System той же фирмы. Дополнительные сведения об анализе приведены в нашей предыдущей работе [9]. Концентрацию витамина V_{12} определяли также иммунохемилюминесцентным анализом с использованием наборов реагентов и калибраторов, согласно инструкции производителя и иммуноанализатора Access 2 (Beckman Coulter Inc., США). Концентрацию

¹Российское кардиологическое общество. Клинические рекомендации «Артериальная гипертензия у взрослых». Утверждены Министерством здравоохранения Российской Федерации в 2020. ID: KP62.

oГци в плазме осуществляли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ), как описано нами ранее [20, 21]. Концентрацию гАрг определяли методом ВЭЖХ по разработанному нами методу [22].

Статистическую обработку результатов выполняли с использованием пакета программ Statistica 10. Степень соответствия закона распределения данных нормальному распределению оценивали с помощью критериев Шапиро-Вилка и Колмогорова-Смирнова. Распределение большинства переменных отличалось от нормального, поэтому данные в таблицах и в тексте представлены в виде медианы и межквартильного размаха (Ме (Q1-Q3)), если не указано иначе. Для оценки межгрупповых различий в двух независимых выборках использован непараметрический критерий Манна-Уитни, а в трех - Краскела-Уоллиса. Оценка корреляционной связи между показателями проводилась с применением коэффициентов Спирмена (ранговом) или Пирсона (если данные имели нормальное распределение). Критический уровень достоверности нулевой статистической гипотезы принимали равным 0,05, а значение $0,05 < p < 0,1$ рассматривали как тенденцию.

Результаты. В исследуемой группе пациентов уровень ФК в плазме составил 13,7 (11,0 – 18,9) нМ, тогда как содержание ниже 13,5 нМ свидетельствует о её недостатке. Закономерно, что концентрация oГци оказалась повышенной более, чем у 50% пациентов: 13,1 (8,0 – 19,5) мкМ при верхней границе референсного интервала 10,9 мкМ [9]. Медиана и межквартильный размах уровня витамина В₁₂ в плазме находились в референсном диапазоне: 272 (151 – 409) пМ. Обращает на себя внимание существенно пониженный ($p = 0,00008$) уровень

гАрг у пациентов - 1,29 (0,95 – 1,80) мкМ в сравнении с уровнями 2,3 (1,8 – 3,1) мкМ, характерными для здоровых лиц [19]. Таким образом, у 75% пациентов с АГ уровень гАрг был ниже, чем у 75% здоровых лиц, близких по возрасту. Граница этого перехода между здоровыми и больными составила 1,80 мкМ гАрг в плазме крови. В других исследованиях для определения пониженного уровня гАрг у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями были определены следующие пограничные уровни гАрг: менее 1,50 мкМ - вызывает повышение риска ишемических событий на 25%, а дальнейшее снижение гАрг ниже 0,8 – 1,0 мкМ удваивает этот риск [16].

Лабораторные данные пациентов в зависимости от обнаруженного уровня ФК в плазме представлены в табл. 2. Понижение уровня ФК менее 13,5 нМ в плазме крови обследованных пациентов с АГ обнаруживалось достаточно часто – в 47% случаев. При этом значения, соответствующие понятию «дефицит ФК» обнаружались только у двух пациентов. У остальных 26 пациентов этой подгруппы уровень ФК колебался от 7,4 до 13,4 нМ, что классифицируется как «фолиевая недостаточность» [4, 5]. Как видно из данных табл. 2, это состояние не сопровождалось выраженными отклонениями показателей кровотока, воспалительных и основных маркеров поражения органов-мишеней.

В подгруппе из 32 пациентов с уровнем ФК в плазме более 13,5 нМ повышенный уровень oГци, превышающий 10,9 мкМ, определялся у 19, что дает основания диагностировать скрытую недостаточность фолатов. Таким образом, признаки недостаточности ФК суммарно определены у 78% обследованной группы. Среди оставшихся 13 пациентов подгруппы с нормальным уровнем ФК у 9 обнаружены признаки нарушения энергетического метаболизма – понижение уровня гАрг менее 1,50 мкМ. Таким образом, только в 4 случаях (7%) из общего числа наблюдений показатели как обеспеченности ФК, так и энергетического метаболизма не выявили отклонений.

Распределение клинико-лабораторных показателей в зависимости от наличия и выраженности, помимо собственно АГ, ПОМ, важнейшими из которых являются атеросклеротические сердечно-сосудистые заболевания и хроническая болезнь почек, приведено в табл. 3. Из представленных в ней данных видно, что сформировавшиеся группы различались по возрасту. Подгруппа пациентов 3 с множественными ПОМ имела большую частоту хронической болезни почек 3-5 стадий. Это объясняет различия между группами по уровням креатинина, мочевины, скорости клубочковой фильтрации, а также уровням гемоглобина, эритроцитов, гематокрита (табл. 2, Б, В). Наибольшие отклонения перечисленных показателей от референтных значений отмечены в подгруппе 3. Уровни ФК и витамина В₁₂ не выявили межгрупповых различий. Пониженный уровень ФК относительно референтной границы 13,4 нМ встречался чаще в подгруппах 1 и 2 (по 50%) и был несколько меньше в группе 3 с высокой коморбидностью (38%). Однако анализ частот не подтвердил достоверности этих различий. По мере увеличения коморбидности от 1 к 3 подгруппе наблюдается возрастание oГци ($p=0,070$, табл. 2, А) и понижается уровень гАрг ($p=0,0029$, табл. 2, Г). Это понижение уровня гАрг было, в отличие от уровня ФК, выраженным – почти в два раза.

Корреляционный анализ выявил закономерные отрицательные корреляции показателя oГци с уров-

Таблица 1

Характеристика обследованных пациентов с АГ ($n = 60$)

Показатель	Пациенты с АГ	Примечание
Мужчины/женщины, n	17 / 53	
Возраст, годы	61 (45 - 70)	
Курение: никогда/в прошлом/в настоящем	63% / 13% / 24%	
НТГ/Сахарный диабет	13% / 27%	
ИМТ, кг/м ²	25,6 (21,8 – 29,2)	Демография и факторы риска
ОИМ в анамнезе	5%	
ОНМК в анамнезе	8%	
Офисное АД сист., мм рт. ст.	130 (125 – 150)	
Офисное АД диаст., мм рт. ст.	80 (80 – 90)	
Хроническая болезнь почек	48%	Коморбидность (кроме сахарного диабета)
ИБС	25%	
Хронические заболевания желудочно-кишечного тракта	33%	
Антигипертензивная	100%	Фоновая терапия
Гиполипидемическая	20%	
Сахароснижающие препараты и инсулин	20%	

Примечание. ОИМ – острый инфаркт миокарда; ОНМК – острое нарушение мозгового кровообращения; НТГ – нарушение толерантности к глюкозе; АД – артериальное давление; АГ – артериальная гипертензия; ИМТ – индекс массы тела; ИБС – ишемическая болезнь сердца.

нем ФК ($R_s = -0,39, p=0,018$) и скоростью клубочковой фильтрации ($R_s = -0,59, p<0,0001$), в то время как связь ФК и клубочковой фильтрации отсутствовала. Уровень оГци не коррелировал с содержанием гАрг у пациентов с низким и высоким уровнем оГци $> 10,9$ мкМ. Содержание витамина B_{12} не было значимо пониженным и не влияло отрицательно на метаболические функции в тканях. Следует отметить, что корреляции уровня витамина B_{12} с показателями функции почек, ФК, оГци или гАрг также не были выявлены. Анализ связей между содержанием ФК и гАрг показал наличие важной закономерности. Показано, что уровни гАрг и ФК не коррелировали между собой как во всем массиве наблюдений (см. рисунок, а), так и по отдельности в трех подгруппах пациентов. Однако при уровне гАрг ниже 1,80 мкМ отсутствие корреляционной связи сменялось достоверной положительной корреляцией. Как показано на рисунке, б, в эта связь проявляется у пациентов с дефицитом транспортной формы ФК в плазме менее 13,5 нМ.

Показатели ФК и гАрг при оценке глубины метаболических нарушений между подгруппами пациентов проявили себя по-разному. При сравнении подгруппы 1 и подгруппы 3 достоверные различия оказались на приемлемом уровне ($p = 0,007$) только для показателя гАрг, тогда как для показателя ФК обнаруживалась лишь тенденция ($p = 0,17$), хотя, как указано выше, функциональный недостаток ФК, выявляемый по уровням оГци, был более выраженным.

Обсуждение. В нашем исследовании показано, что понижение уровня ФК менее 13,5 нМ в плазме крови обследованных пациентов с АГ обнаруживалось достаточно часто – в 47% случаев. Сходные данные – 50% – получены и другими авторами, оценивавшими уровни ФК при ИБС [23]. Частота встречаемости дефицита транспортной формы ФК в подгруппах пациентов без ПОМ, с поражением одного, а также двух и более органов-мишеней составила 50, 50 и 38% соответственно. Таким образом, пониженный уровень ФК характерен для АГ как таковой, вне зависимости от наличия / отсутствия ПОМ или их выраженности. Важно, что пониженный

Таблица 2

Лабораторные показатели обследованных пациентов с АГ в зависимости от уровня ФК

Показатели (референсный интервал)	Подгруппы пациентов		p
	ФК < 13,5 нМ (n=28)	ФК ≥ 13,5 нМ (n=32)	
А. Состав групп, показатели ФК, витамина B_{12} и маркеры воспаления			
Возраст, годы	59 (42 - 70)	64 (45 - 75)	> 0,1
ФК, нМ (13,4 - 45)	10,6 (9,4 - 12,3)	18,3 (14,5 - 26,4)	<0,000001
Витамин B_{12} , пМ (133 - 675)	205 (129 - 374)	298 (155 - 418)	> 0,1
оГци, мкМ (<10,9)	14,9 (8,8 - 27,5)	12,4 (7,4 - 14,3)	0,026
Лейкоциты, $\cdot 10^9$ /л (4,0 - 8,8)	6,7 (4,8 - 7,9)	6,2 (4,9 - 8,0)	> 0,1
СОЭ, мм/час (1 - 10)	24 (11 - 40)	21 (15 - 40)	> 0,1
СРБ, мг/л (0,1 - 8,2)	5,9 (2,0 - 25,8)	3,0 (0,3 - 19,3)	> 0,1
Фибриноген, г/л (1,8 - 3,5)	3,9 (3,5 - 4,3)	3,2 (2,7 - 4,4)	> 0,1
Б. Показатели гемоглобина, метаболизма и транспорта железа			
Гемоглобин, г/л (132 - 164)	114 (97 - 131)	119 (105 - 132)	> 0,1
Эритроциты $\cdot 10^{12}$ /л (4,1 - 5,1)	4,1 (3,7 - 4,8)	4,1 (3,5 - 4,6)	> 0,1
Цветной показатель (0,85 - 1,05)	0,88 (0,81 - 0,92)	0,89 (0,80 - 0,93)	> 0,1
Гематокрит, % (36 - 48)	35 (30 - 38)	35 (31 - 38)	> 0,1
Ср. содержание гемоглобина в эритроците, пг (24 - 33)	29 (27 - 31)	29 (27 - 31)	> 0,1
Ферритин, мкг/л (11 - 307)	43 (21 - 152)	37 (21 - 70)	> 0,1
ЖСС, мкМ (47 - 86)	49 (44 - 52)	61 (46 - 64)	> 0,1
Железо, мкМ (5 - 31)	11 (4 - 18)	14 (9 - 20)	> 0,1
В. Лабораторные критерии функции почек и печени			
Креатинин, мМ (0,053 - 0,115)	0,096 (0,070 - 0,250)	0,076 (0,057 - 0,129)	0,032
СКФ, мл/мин (>90)	71 (25 - 87)	78 (35 - 92)	> 0,1
Мочевина, мМ (2,5 - 7,3)	8,3 (5,2 - 17,9)	5,6 (4,4 - 8,6)	> 0,1
Мочевая кислота, мкМ (155 - 428)	345 (277 - 457)	380 (264 - 472)	> 0,1
Белок плазмы, г/л (65 - 85)	71 (65 - 74)	68 (63 - 73)	> 0,1
Общий билирубин, мкМ (3,4 - 20,5)	8,7 (6,5 - 13,9)	9,6 (7,1 - 12,3)	> 0,1
АлАТ, Е/л (10 - 40)	13 (10 - 16)	15 (12 - 20)	0,12
АсАТ, Е/л (10 - 42)	18 (15 - 19)	17 (15 - 22)	> 0,1
Г. Метаболические отклонения			
гАрг, мкМ (> 1,80)	1,15 (0,91 - 1,74)	1,41 (0,97 - 1,85)	> 0,1
Глюкоза, мМ (3,9 - 6,1)	5,2 (4,7 - 5,6)	5,2 (4,8 - 6,2)	> 0,1
Общий холестерин, мМ (3,1 - 5,2)	5,1 (3,9 - 5,6)	4,8 (4,1 - 6,3)	> 0,1

Примечание. Здесь и в табл. 3: ФК – фолиевая кислота; гАрг – гомоаргинин; оГци – общий гомоцистеин; СОЭ – скорость оседания эритроцитов; ЖСС – железосвязывающая способность; СКФ – скорость клубочковой фильтрации; АлАТ – аланинаминотрансфераза; АсАТ – аспаргатаминотрансфераза; достоверность различий определяли методом Манна-Уитни.

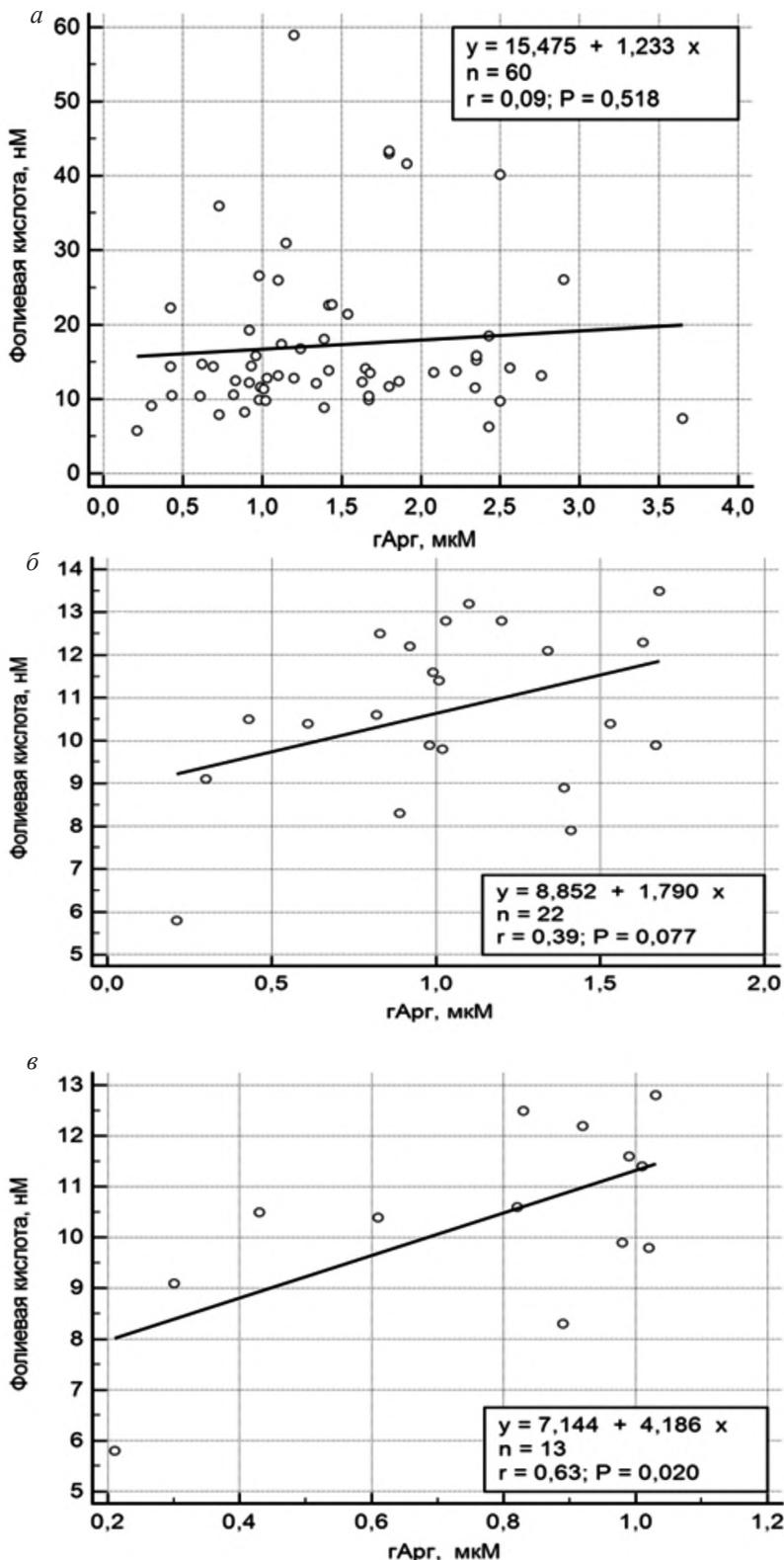
Лабораторные показатели обследованных пациентов с АГ в зависимости от наличия / отсутствия ПОМ

Показатели (референсный интервал)	Подгруппы пациентов			p
	1 (n = 12) АГ без ПОМ	2 (n = 32) АГ и ПОМ=1	3 (n = 16) АГ и ПОМ≥2	
А. Состав групп, показатели ФК, витамина В ₁₂ и маркеры воспаления				
Возраст, годы	52 (40 - 56)	61 (41 - 72)	71 (56 - 74)	0,022
ФК, нМ (13,4 - 45)	15,8 (12,4 - 22,7)	13,0 (10,5 - 19,4)	13,7 (11,1 - 16,7)	> 0,1
Витамин В ₁₂ , пМ (133 - 675)	299 (178 - 603)	252 (166 - 356)	224 (151 - 517)	> 0,1
оГци, мкМ (<10,9)	12,2 (6,5 - 17,0)	12,5 (8,3 - 15,4)	16,9 (12,8 - 31,9)	0,070
Лейкоциты, *10 ⁹ /л (4,0 - 8,8)	6,1 (4,5 - 7,4)	6,0 (5,0 - 7,4)	7,9 (4,8 - 9,5)	> 0,1
СОЭ, мм/час (1 - 10)	16 (8 - 19)	24 (14 - 40)	30 (20 - 45)	0,047
СРБ, мг/л (0,1 - 8,2)	3,0 (0,3 - 25,8)	7,6 (1,5 - 29,0)	4,2 (1,0 - 19,3)	> 0,1
Фибриноген, г/л (1,8 - 3,5)	2,8 (2,5 - 4,3)	3,9 (3,2 - 4,3)	4,2 (3,5 - 4,7)	> 0,1
Б. Показатели гемоглобина, метаболизма и транспорта железа				
Гемоглобин, г/л (132 - 164)	131 (123 - 137)	116 (105 - 130)	109 (92 - 119)	0,014
Эритроциты *10 ¹² /л (4,1 - 5,1)	4,6 (4,1 - 4,9)	4,1 (3,6 - 4,5)	3,7 (2,9 - 4,4)	0,022
Цветной показатель (0,85 - 1,05)	0,88 (0,81 - 0,92)	0,89 (0,81 - 0,92)	0,89 (0,80 - 0,96)	> 0,1
Гематокрит, % (36 - 48)	38 (37 - 41)	35 (31 - 38)	32 (28 - 36)	0,011
Ср. содержание гемоглобина в эритроците, пг (24 - 33)	29 (27 - 30)	29 (27 - 31)	29 (27 - 32)	> 0,1
Ферритин, мкг/л (11 - 307)	24 (20 - 52)	43 (21 - 152)	39 (28 - 98)	> 0,1
ЖСС, мкМ (47 - 86)	61 (52 - 65)	49 (45 - 64)	57 (46 - 64)	> 0,1
Железо, мкМ (5 - 31)	19 (17 - 20)	13 (6 - 17)	10 (8 - 14)	0,089
В. Лабораторные критерии функции почек и печени				
Креатинин, мМ (0,053 - 0,115)	0,069 (0,055 - 0,080)	0,087 (0,063 - 0,130)	0,201 (0,065 - 0,247)	0,022
СКФ, мл/мин (>90)	86 (74 - 117)	69 (41 - 89)	24 (16 - 81)	0,0047
Мочевина, мМ (2,5 - 7,3)	4,5 (4,0 - 5,8)	6,4 (4,4 - 11,4)	11,5 (6,5 - 22,2)	0,008
Мочевая кислота, мкМ (155 - 428)	260 (233 - 390)	340 (233 - 457)	438 (360 - 490)	> 0,1
Белок плазмы, г/л (65 - 85)	72 (64 - 74)	68 (64 - 73)	70 (63 - 75)	> 0,1
Общий билирубин, мкМ (3,4 - 20,5)	10,1 (6,7 - 13,6)	9,2 (6,8 - 13,1)	8,7 (6,3 - 13,9)	> 0,1
АлАТ, Е/л (10 - 40)	17 (13 - 19)	14 (10 - 19)	13 (10 - 19)	> 0,1
АсАТ, Е/л (10 - 42)	17 (15 - 19)	18 (15 - 21)	19 (14 - 31)	> 0,1
Г. Метаболические отклонения				
гАрг, мкМ (> 1,80)	1,97 (1,54 - 2,39)	1,14 (0,93 - 1,54)	1,04 (0,56 - 1,74)	0,0029
Глюкоза, мМ (3,9 - 6,1)	5,2 (4,7 - 5,8)	5,3 (4,9 - 5,6)	5,2 (4,8 - 6,2)	> 0,1
Общий холестерин, мМ (3,1 - 5,2)	5,0 (4,6 - 5,7)	5,3 (4,1 - 6,3)	4,1 (3,0 - 5,3)	0,10

Примечание. ПОМ – поражение органов-мишеней; достоверность различий определяли методом Краскела-Уоллиса.

уровень ФК ассоциируется с понижением уровня маркера состояния пути биосинтеза креатина – аминокислоты гАрг. Эта связь уровня гАрг и ФК выявлена у пациентов с АГ независимо от вида коморбидности, обнаруживаясь как при сопутствующей хронической болезни почек, так и при атеросклеротических сердечно-сосудистых заболеваниях с хроническими воспалительными проявлениями. Ранее нами показано, что у пациентов с ИБС нарушение метаболизма метионина и Гци сопряжено с понижением уровня гАрг [19]. Возможно, что в подгруппах обследованных пациентов с АГ резко усиление фолиевого дефицита тесно связано с возникновением понижения уровня гАрг. Не исключено также, что обе группы метаболических путей, как образование гАрг, так и реализация коферментных функций ФК, оказываются под взаимным влиянием. Роль гАрг в этом взаимном влиянии не изучена. Нарушения же фолиево-зависимых метаболических процессов описаны у взрослых и пожилых пациентов с АГ. Сформировалось четкое представление о том, что низкие уровни ФК в плазме в значительной степени связаны с АГ [8]. Клинико-генетические и биохимические исследования, обнаружива-

ют роль понижения биодоступности ФК при АГ [2]. В большинстве опубликованных работ авторы указывают на необходимость дальнейших исследований для выяснения роли фолиево-зависимого метаболизма одноуглеродных фрагментов в становлении гипертензивного статуса. В настоящее время четко показана связь генетических факторов, связанных с метаболизмом ФК и риском АГ как в раннем, так и позднем возрасте. [1, 2]. Нами показано, что связь метаболизма ФК и гАрг обнаруживается в подгруппах пациентов с низким уровнем ФК < 13,5 нМ. Возможная же причина этой связи не установлена. Можно лишь сделать некоторые, кажущиеся важными, допущения. В частности, для координированного выполнения цитоплазматических и митохондриальных функций фолиевых коферментов необходимо постоянное пополнение запасов ТГФК в цитоплазме, что возможно только при соответствующем протекании окислительно-восстановительного метаболизма с генерацией НАД(Ф)Н в цитоплазме и окислении субстратов и НАДН системой цитохромов в митохондриях [7]. Таким образом, ассимиляция ФК, её функциональный недостаток и дефицит возникают всегда при нарушении энер-



Диаграммы рассеяния, отражающие связь уровней гАрг и ФК. *а* – во всем массиве наблюдений; *б*, *в* – у пациентов с пониженным уровнем ФК (< 13,5 нМ) и гАрг, соответствующим уровням < 1,80 мкМ (*б*) и < 1,03 мкМ (*в*).

гетического метаболизма. Следует также отметить, что при функционировании нервной системы, где потребность в одноуглеродных фрагментах особенно высока,

требуются более высокие уровни ТГФК и аминокислоты метионина [24-26]. Так что сдерживание образования Гци в нервной системе зависит от образования 5-метил-ТГФК и, соответственно, скорость реметилирования Гци в значительной мере зависит от поступления ФК в нервные клетки. Это оправдывает большую необходимость ФК в головном мозге, чем в других тканях. При анализе ликвора уровень 5-метил-ТГФК обнаруживают в 2-3 раза выше, чем в плазме крови [27]. По-видимому, понижение уровня ФК в нервных тканях может приводить к нарушением реакций метилирования, активации симпато-адреналовой системы и вазоконстрикции. В частности, этот механизм может быть связан с метаболизмом астроцитов, которые подготавливают подходящую для нейронов метаболическую среду. Астроциты быстро реагируют на снижение перфузии головного мозга, предотвращая повышение симпатической активности, то есть частоты сердечных сокращений и повышения АД [28]. В свою очередь, нарушение метаболизма в астроцитах связано с уменьшением поступления фолиевой кислоты [29]. Метаболизм фолата связан с выживанием астроцитов в головном мозге, о чем свидетельствует наблюдение, что метотрексат индуцирует апоптоз астроцитов, нарушая метаболизм фолата [30]. Фолат и витамин В₁₂ играют решающую роль в метаболизме Мет и Гци в большинстве типов клеток, включая астроциты. Когда уровни фолата низкие, истощаются запасы активной формы метионина (S-аденозилметионина), что приводит к снижению метилирования цитозина в ДНК; одновременно уменьшается метилирование ДНК и тем самым ослабляется регуляция транскрипции генов [31].

Настоящее исследование показало, что ослабление ассимиляции организмом фолатов наблюдается при низкой концентрации гАрг в плазме крови (см. рисунок, *б*, *в*). Рассмотрение случаев, в которых сочетается низкий уровень гАрг и связанное с ним понижение уровней ФК, показывает неоднородность этой когорты пациентов. В её состав входят пациенты с хронической болезнью почек, больные с нарушениями мозгового кровообращения и пациенты с ИБС. У них наблюдается снижение концентраций гАрг менее 1,8 мкМ. В этой когорте проявляется прямая зависимость между уровнями ФК и гАрг. Тогда как обратное - не обнаруживается, то есть отсутствует связь уровней гАрг и ФК при её содержании ниже 13,5 нМ. Таким образом, нами обнаружено самое значительное снижение ФК у пациентов с АГ при уровнях гАрг ниже 1,8 мкМ и еще более значимое при гАрг ниже 1,03 мкМ. Как следует из данных литературы, это обусловлено нарушенным энергетическим метаболизмом у этих пациентов. В свою очередь, нарушение энергетического метаболизма приводит к снижению экспрессии аргинин:глицинамидинотрансф

еразы (АГАТ), являющегося ключевым энзимом биосинтеза креатина и одновременно катализатором реакции образования гАрг [10]. Окислительно-восстановительные реакции энергетического метаболизма играют большую роль в трансформации ФК и ТГФК, как в клетке, так и в их ассимиляции и депонировании.

Значение нарушений метаболизма коферментных форм фолиевой кислоты, в особенности их дефицита в нервных тканях при прогрессировании артериальной гипертензии, требует дальнейшего изучения. В результате проведенной работы можно сделать вывод о том, что при различных исходных причинах развития АГ вклад понижения уровней ФК за пределы 13,5 нМ в значительной мере может быть связан с нарушениями энергетического метаболизма. Маркером существенного нарушения энергетического метаболизма может быть принят уровень гАрг ниже 1,5-1,8 мкМ. Уровни перехода содержания гАрг в область значений с высоким риском сердечно-сосудистых осложнений требуют дальнейшего изучения у пациентов с артериальной гипертензией, сочетающейся с различными нарушениями органов-мишеней.

Благодарности. Авторы выражают благодарность менеджменту ПСПбГМУ им. И.П. Павлова за поддержку в организации исследования.

Финансирование. Исследование выполнено в рамках выполнения государственного задания.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА (пп. 1-5, 7, 8, 10-18, 21, 24, 27-31 см. REFERENCES)

- Кулюцина Е.Р., Татарченко И.П., Левашова О.А., Денисова А.Г., Дружинина Т.А. Взаимосвязь показателей фолатов у здорового населения. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2017; 62(2): 82-7.
- Жлоба А.А., Субботина Т.Ф. Оценка фолатного статуса с использованием общего гомоцистеина у пациентов с гипертонической болезнью. *Российский медицинский журнал*. 2019; 25(3): 158-65. DOI <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2106-2019-25-3-158-165>.
- Жлоба А.А., Субботина Т.Ф., Молчан Н.С., Полушин Ю.С. Уровень гомоаргинина и баланс метионин-гомоцистеин у пациентов с ишемической болезнью сердца. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2019; 64(9): 516-24. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2019-64-9-516-524>.
- Жлоба А.А. Лабораторная диагностика при гипергомоцистеинемии. *Клинико-лабораторный консилиум*. 2009; 26(1): 49-60.
- Жлоба А.А., Субботина Т.Ф., Шипаева К.А. Способ определения содержания гомоаргинина в плазме крови и других биологических жидкостях человека. Патент РФ № 2609873; 2017.
- Бокерия Л.А., Самуилова Д.Ш., Апполонова М.В., Сурганов В.А., Ключников И.В., Мерзляков В.Ю. и др. Гомоцистеин у больных до и после коронарного шунтирования на работающем сердце и в условиях искусственного кровообращения. *Бюллетень НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН. Сердечно-сосудистые заболевания*. 2008; 9(S3): 147.
- Зорилова И.В., Суслина З.А., Иллариошкин С.Н., Кистенев Б.А. Наследственно обусловленная гипергомоцистеинемия в патогенезе ишемического инсульта у лиц молодого возраста. *Неврологический журнал* 2005; 10(2): 14-7.
- Литвиненко И.В., Одинак М.М., Сологуб О.С., Могильная В.И., Шмелева В.М., Сахаровская А.А. Гипергомоцистеинемия при болезни Паркинсона – новый вариант осложнений проводимой терапии или специфический биохимический маркер заболевания? *Анналы клинической и экспериментальной неврологии*. 2008; 2(2): 13-7.

REFERENCES

- Ehret G.B., Munroe P.B., Rice K.M., Bochud M., Johnson A.D., Chasman D.I. et al. Genetic variants in novel pathways influence blood pressure and cardiovascular disease risk. *Nature*. 2011; 478(7367): 103-9. <https://doi.org/10.1038/nature10405>.
- McNulty H., Strain J. J., Hughes C. F., Pentieva, K., Ward M. Evidence of a role for one-carbon metabolism in blood pressure: can B vitamin intervention address the genetic risk of hypertension owing to a common folate polymorphism? *Curr. Dev. Nutr.* 2019; 4(1): nzz102. <https://doi.org/10.1093/cdn/nzz102>.
- Loehrer F.M., Angst C.P., Haefeli W.E., Jordan P.P., Ritz R., Fowler B. Low whole-blood S-adenosylmethionine and correlation between 5-methyltetrahydrofolate and homocysteine in coronary artery disease. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 1996; 16: 727-33.
- Sobczynska-Malefora A., Harrington D.J., Voong K., Shearer M.J. Plasma and red cell reference intervals of 5-methyltetrahydrofolate of healthy adults in whom biochemical functional deficiencies of folate and vitamin B 12 had been excluded. *Adv. Hematol.* 2014; 2014: Article ID 465623: 7 pages. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/465623>.
- Sobczyńska-Malefora A., Harrington D.J. Laboratory assessment of folate (vitamin B9) status. *J. Clin. Pathol.* 2018; 71 (11): 949-56. <https://doi.org/10.1136/jclinpath-2018-205048>.
- Kulyutsina E.R., Tatarchenko I.P., Levashova O.A., Denisova A.G., Druzhinina T.A. The relationship of homocysteine and genetic polymorphisms, causing disturbances of folate metabolism in a healthy population. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2017; 62(2): 82-7. (in Russian)
- Zheng Y., Cantley L. C. Toward a better understanding of folate metabolism in health and disease. *J. Exp. Med.* 2019; 216(2): 253-66. <https://doi.org/10.1084/jem.20181965>.
- Scazzone C., Bono A., Tornese F., Arseno R., Schillaci R., Butera D. et al. Correlation between low folate levels and hyperhomocysteinemia, but not with vitamin B12 in hypertensive patients. *Ann. Clin. Lab. Sci.* 2014; 44(3): 286-90.
- Zhloba A.A., Subbotina T.F. The evaluation of folate status using total homocysteine in hypertensive patients. *Rossiiskii meditsinskii zhurnal*. 2019; 25(3): 158-65. (in Russian) DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2106-2019-25-3-158-165>. (in Russian)
- Choe C.U., Atzler D., Wild P.S., Carter A.M., Boger R.H., Ojeda F. et al. Homoarginine levels are regulated by L-arginine: glycine amidinotransferase and affect stroke outcome: results from human and murine studies. *Circulation*. 2013; 128(13): 1451-61.
- Tommasi S., Elliot D.J., Da Boit M., Gray S.R., Lewis B.C., Mangoni A.A. Homoarginine and inhibition of human arginase activity: kinetic characterization and biological relevance. *Sci. Rep.* 2018; 8(1): 3697. <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-018-22099-x>.
- März W, Meinitzer A, Drechsler C, Pilz S., Krane V., Kleber M.E. et al. Homoarginine, cardiovascular risk, and mortality. *Circulation*. 2010; 122(10): 967-75.
- Atzler D., Gore M.O., Ayers C.R., Choe C.U., Böger R.H., de Lemos J.A., et al. Homoarginine and cardiovascular outcome in the population-based Dallas Heart Study. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2014; 34(11): 2501-7.
- Drechsler C., Kollerits B., Meinitzer A., März W., Ritz E., König P. et al. Homoarginine and progression of chronic kidney disease: results from the mild to moderate kidney disease study. *PLoS One*. 2013; 8(5): e63560.
- Ravani P., Maas R., Malberti F., Pecchini P., Mieth M., Quinn R. et al. Homoarginine and mortality in pre-dialysis chronic kidney disease (CKD) patients. *PLoS One* 2013; 8(9): e72694.
- Raedle-Hurst T., Mueller M., Meinitzer A., März W., Dschietzig T. Homoarginine - A prognostic indicator in adolescents and adults with complex congenital heart disease? Fukumoto Y., ed. *PLoS One* 2017; 12(9): e0184333.
- März W., Meinitzer A., Drechsler C., Pilz S., Krane V., Wanner C. Homoarginine as a biomarker for the risk of mortality. United States Patent US 9,506,909 B2; 2016.
- Atzler D., Appelbaum S., Cordts K., Ojeda F.M., Wild P.S., Münzel T., et al. Reference intervals of plasma homoarginine from the German Gutenberg Health Study. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2016; 54(7): 1231-7.

19. Zhloba A.A., Subbotina T.F., Molchan N.S., Polushin Yu.S. Homoarginine level and methionine-homocysteine balance in patients with ischemic heart disease. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2019; 64 (9): 516-24. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2019-64-9-516-524>. (in Russian)
20. Zhloba A.A. Laboratory diagnosis of hyperhomocysteinemia. *Kliniko-laboratornyy konsilium*. 2009; 26(1): 49-60. (in Russian)
21. Zhloba A.A., Subbotina T.F. Homocysteinylolation score of high molecular weight plasma proteins. *Amino Acids*. 2014; 46(4): 893-9.
22. Zhloba A.A., Subbotina T.F., Shipaeva K.A. The way for determining the content of homoarginine in blood plasma and other biological fluids of human. Patent RF N 2609873; 2017. (in Russian)
23. Bokeriya L.A., Samuilova D.Sh., Appolonova M.V., Surganov V.A., Klyuchnikov I.V., Merzlyakov V.Yu. et al. Homocysteine in patients before and after coronary artery bypass grafting on a working heart and in cardiopulmonary bypass. *Byulleten' Nauchnogo Tsentra serdechno-sosudistoy khirurgii im. A.N. Bakuleva RAMN. Serdechno-sosudistye zabolevaniya*. 2008; 9(S3): 147. (in Russian)
24. Knowles L., Morris A.A., Walter J.H. Walter treatment with mefolate (5-methyltetrahydrofolate), but not folic acid or folinic acid, leads to measurable 5-methyltetrahydrofolate in cerebrospinal fluid in methylenetetrahydrofolate reductase deficiency // *JIMD Rep*. 2016; 29: 103-7.
25. Zorilova I.V., Suslina Z.A., Illarioshkin S.N., Kistenev B.A. Inherited hyperhomocysteinemia in the pathogenesis of ischemic strokes of young persons. *Nevrologicheskiy zhurnal*. 2005; 10(2): 14-7. (in Russian)
26. Litvinenko I.V., Odinak M.M., Sologub O.S., Mogil'naya V.I., Shmel'eva V.M., Sakharovskaya A.A. Hyperhomocysteinemia with Parkinson's disease: a new variant of complications of the therapy performed or a specific biochemical marker of the diseases? *Annaly klinicheskoy i eksperimental'noy nevrologii*. 2008; 2(2): 13-7. (in Russian)
27. Wu Y., Yang X., Li X., Wang H., Wang T. Elevated cerebrospinal fluid homocysteine is associated with blood-brain barrier disruption in amyotrophic lateral sclerosis patients. *Neurol. Sci*. 2020 Feb 21. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s10072-020-04292-x>. [Epub ahead of print].
28. Marina N., Christie I.N., Korsak A., Doronin M., Brazhe A., Hosford P.S. et al. Astrocytes monitor cerebral perfusion and control systemic circulation to maintain brain blood flow. *Nat. Commun*. 2020; 11(1): 131. DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/s41467-019-13956-y>.
29. Li W., Ma Y., Li Z., Lv X., Wang X., Zhou D. et al. Folic acid decreases astrocyte apoptosis by preventing oxidative stress-induced telomere attrition. *Int. J. Mol. Sci*. 2020; 21(1): E62; <https://doi.org/10.3390/ijms21010062>.
30. Shao Y., Tan B., Shi J., Zhou Q. Methotrexate induces astrocyte apoptosis by disrupting folate metabolism in the mouse juvenile central nervous system. *Toxicol. Lett*. 2019; 301: 146-56.
31. Mattson M.P., Shea T.B. Folate and homocysteine metabolism in neural plasticity and neurodegenerative disorders. *Trends Neurosci*. 2003; 26(3): 137-46.

Поступила 02.04.20
Принята к печати 14.05.20