

## БИОХИМИЯ

© ЖЛОБА А.А., СУББОТИНА Т.Ф., 2021

Жлоба А.А., Субботина Т.Ф.

### ТЕСТ НА ГОМОАРГИНИН ДЛЯ ОЦЕНКИ МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ ДИСФУНКЦИИ ПОЧКИ

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

Низкая концентрация L-гомоаргинина (hArg) в плазме является независимым предиктором неблагоприятных сердечно-сосудистых исходов и общей смертности, а также прогрессирования хронической болезни почек (ХБП). Фермент L-аргинин: глицинамидинотрансфераза (АГАТ, КФ 2.1.4.1) функционирует в мембране митохондрий эпителия канальцев почек, образуя предшественник креатина – гуанидинуксусную кислоту – и в качестве побочного продукта – hArg. Недавно было показано, что на поздних стадиях ХБП наблюдается пониженный уровень hArg, однако осталось не изученным состояние уровня hArg на ранних стадиях ХБП. Целью настоящего исследования было определение диагностических пороговых уровней hArg в крови пациентов с 1 и 2 стадиями ХБП. У пациентов с начальными стадиями ХБП (n=44) в возрасте 58(45-67) лет по сравнению с группой доноров (n=30) в возрасте 55(42-58) лет обнаружено значительное понижение уровня hArg. В подгруппе с ХБП 2 стадии порог отсечения составил 1,59 мкМ и характеризовался большей чувствительностью и специфичностью, чем в подгруппе с ХБП 1 стадии с пороговым уровнем hArg 1,66 мкМ. Для всей группы порог отсечения hArg составил 1,60 мкМ, что на 0,2 мкМ ниже нижней границы референсного интервала для здоровых лиц. Можно предположить, что ещё до формирования симптомов протеинурии и альбуминурии у значительной популяционной когорты лиц формируется состояние пониженной активности АГАТ, так как экспрессия этого энзима связана с определенным регуляторным торможением обратной связью на уровне организма. В результате проведенного исследования можно отметить, что у пациентов на ранних стадиях ХБП в возрастной группе 45-67 лет отмечается нарушение метаболической функции почек. Эти метаболические изменения могут быть выявлены путем теста на уровень hArg.

**Ключевые слова:** гомоаргинин; гомоцистеин; фолиевая кислота; хроническая болезнь почек; сердечно-сосудистые риски.

**Для цитирования:** Жлоба А.А., Субботина Т.Ф. Тест на гомоаргинин для оценки метаболической дисфункции почки. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2021; 66 (12): 709-717. DOI: <https://dx.doi.org/10.51620/0869-2084-2021-66-12-709-717>

**Для корреспонденции:** Жлоба Александр Анатольевич, д-р. мед. наук, проф., рук. отд. биохимии научно-образовательного института биомедицины; e-mail: zhlobaaa@1spbmgmu.ru

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

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Финансирование.** Исследование выполнено в рамках государственного задания.

Поступила 01.07.2021

Принята к печати 21.07.2021

Опубликовано 22.12.2021

Zhloba A.A., Subbotina T.F.

#### НОМОАРГИНИН ТЕСТ ДЛЯ ОЦЕНКИ МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ ДИСФУНКЦИИ ПОЧКИ

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

Low plasma L-homoarginine (hArg) concentration is an independent predictor of adverse cardiovascular outcomes and overall mortality, as well as the progression of chronic kidney disease (CKD). The enzyme L-arginine:glycinamidinotransferase (AGAT, EC 2.1.4.1) acts in the mitochondrial membrane of the renal tubular epithelium, forming the precursor of creatine, guanidinoacetic acid, and additionally by-product hArg. As it was shown recently, there is a decreased level of hArg in the late stages of CKD, however, the level of hArg in the early stages of CKD remained unexplored. The aim of this study was to determine the diagnostic threshold levels of hArg in the blood of patients with stages 1 and 2 of CKD.

In patients with the initial stages of CKD (n = 44) at the age of 58 (45-67) years, compared with the group of donors of 55 (42-58) years (n = 30), a significant decrease of hArg level was found. In the subgroup with stage CKD 2, the cut-off point of 1.59  $\mu$ M threshold was characterized by greater sensitivity and specificity than in the subgroup with stage CKD 1 with 1.66  $\mu$ M threshold level of hArg. For the full group, the hArg cut-off threshold was 1.60  $\mu$ M, which is about 0.2  $\mu$ M lower than the lower limit of the reference interval for healthy individuals. It can be assumed that even before the formation of symptoms of proteinuria and albuminuria, a significant part of individuals from population cohort develops a state of decreased AGAT activity, since the expression of this enzyme is associated with a certain regulatory feedback inhibition at the body level. As a result of the study, it can be noted that in patients with early stages of CKD in the age group 45-67 years, there is a disturbance of the kidneys metabolic function. These metabolic changes can be detected by testing the level of hArg.

**Key words:** homoarginine; homocysteine; folic acid; chronic kidney disease; cardiovascular risks.

**For citation:** Zhloba A.A., Subbotina T.F. Homoarginine test for evaluation of metabolic renal dysfunction. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2021; 66 (12): 709-717 (in Russ.)  
DOI: <https://dx.doi.org/10.51620/0869-2084-2021-66-12-709-717>

**For correspondence:** Zhloba A.A., Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of Biochemistry Department of Scientific and Educational Institute of Biomedicine; e-mail: zhlobaaa@1spbmgmu.ru.

**Information about authors:**

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

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

**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.*

Received 01.07.2021

Accepted 21.07.2021

Published 22.12.2021

**Введение.** Низкая концентрация L-гомоаргинина (гАрг) в плазме является независимым предиктором неблагоприятных сердечно-сосудистых исходов и общей смертности, а также прогрессирования хронической болезни почек (ХБП) в различных популяциях [1-5]. Ткани почек регулируют состав и объём жидкостей организма, сохраняя оптимальную среду для остальных тканей, поддерживают гомеостаз. Почки взрослого человека могут весить около 0,08% от общего веса организма, но забирают не менее 20% от объёма сердечного выброса [6]. Наряду с экскреторной и эндокринной функциями, почки выполняют важные метаболические функции, которые при ХБП не могут быть в полной мере компенсированы за счет метаболизма в других тканях. К числу таких метаболических функций можно отнести роль почек в образовании эндогенного креатина. Метаболическая функция почек по обеспечению эндогенного пула креатина локализована в составе внутренней мембраны митохондрий клеток проксимальных извитых канальцев [7, 8]. Клетки канальцев почек для этого содержат L-аргинин: глицинамидинотрансферазу (АГАТ, КФ 2.1.4.1) [9]. Этот фермент проявляет свою функцию в мембране митохондрий канальцевого эпителия, образуя предшественник креатина – гуанидинуксусную кислоту (ГУК). Образование ГУК происходит в реакции, катализируемой АГАТ, в основном в почках и может обеспечивать более 20% от общего ее биосинтеза. На стадиях 1 и 2 развития ХБП большое значение для снижения риска быстрого прогрессирования имеет оценка основных клинико-биохимических сдвигов, включая интегральные показатели, такие как скорость клубочковой фильтрации и альбумино/протеинурию. На наш взгляд, альбумино/протеинурия в значительной мере связана со способностью нефрона реабсорбировать компоненты из просвета тубулярного пространства. Эта способность в значительной мере может зависеть от энергетической обеспеченности трансмембранных процессов.

ГУК поступает в кровоток и используется в реакции метилирования, катализируемой гуанидинацетат-N-метилтрансферазой (ГАМТ, КФ 2.1.1.2), преимущественно в ткани печени и, в меньшей степени, в других тканях, например, в тканях мозга и миокарда с образованием креатина. Несмотря на важную роль почек в обеспечении ГУК, о нарушении АГАТ-реакции известно недостаточно, чтобы судить о её диагностическом значении в отношении ранних стадий

ХБП. Показано нарушение метаболизма ГУК при уремии со снижением активности АГАТ почек примерно на 71% [10]. Одновременно с ГУК в АГАТ-реакции образуется и секретируется в кровь некодируемая аминокислота гомоаргинин (гАрг), при этом амидиновый остаток аргинина переносится на эпсилон-аминогруппу лизина, а не на аминогруппу глицина. В отличие от ГУК, гАрг почти не используется в биосинтетических реакциях, сохраняя в крови более высокую стабильность. Это и обеспечивает этому продукту АГАТ-реакции большое диагностическое значение. Образование гАрг преимущественно в почках обнаружено и у мышей с нокаутом соответствующего гена, и у пациентов с дефицитом АГАТ [11-14]. В результате проведенных исследований было показано, что на поздних стадиях ХБП наблюдается пониженный уровень гАрг, однако осталось не изученным состояние уровня гАрг на ранних стадиях ХБП. Следует ожидать, что от метаболической функции почки зависит сохранение потенциала макроэргических фосфатов креатина, и это в значительной мере связано с активностью фермента АГАТ в проксимальных канальцах почки. Изменение уровня гАрг у пациентов с минимальным нарушением функций почек, в том числе со скоростью клубочковой фильтрации (СКФ) выше 60 мл/мин/1,73 м<sup>2</sup> до настоящего времени не изучено. Для понимания роли АГАТ-реакции и энергетического метаболизма в целом при ХБП, нами проведена оценка уровней гАрг у пациентов на ранних стадиях ХБП.

Целью настоящего исследования было определение диагностических пороговых уровней гАрг в крови, характерных для пациентов с ХБП 1 и ХБП 2 стадиями.

**Материал и методы.** Сбор клинического материала проходил с апреля 2018 по декабрь 2019 г. на базе клиник ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И.П. Павлова Минздрава России. В исследование были включены образцы крови 44 пациентов с начальными стадиями ХБП, находившихся на стационарном лечении в клиниках терапевтического профиля. Критерием включения в исследование было наличие ХБП 1 стадии ( $n=21$ ) или 2 стадии ( $n=23$ ). ХБП определяли при наличии любых маркеров повреждения почек, персистирующих в течение 3 месяцев и более, а определенные стадии проводили с использованием величины скорости клубочковой фильтрации (СКФ): > 90 мл/мин/1,73 м<sup>2</sup> для 1 стадии и 60-89 мл/мин/1,73 м<sup>2</sup> для

2 стадии [15]. 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 показатели, характеризующие экскреторную функцию почек, во всей группе и в подгруппах пациентов представлены в табл. 1.

Материалом исследования служила плазма крови, взятой утром натощак из кубитальной вены в вакутейнеры с гепарином в качестве антикоагулянта. Отделение форменных элементов крови путем centrifугирования (580 g, 15 мин) проводили в течение 1 ч после взятия крови. Образцы плазмы до анализа хранили аликвотами по 1,0 мл при температуре  $-80^{\circ}\text{C}$ . 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 для биохимического анализатора Cobas Integra 400 Plus. Расчет СКФ проводили по уровню креатинина крови с использованием формулы СКД-ЕРІ. Концентрацию фолиевой кислоты (ФК) и витамина  $\text{B}_{12}$  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. Концентрацию общего гомоцистеина в плазме (oГци) осуществляли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ), как описано нами ранее [16-17]. Концентрацию гАрг определяли методом ВЭЖХ по разработанному нами методу [18].

Таблица 1

Характеристика обследованных пациентов с начальными стадиями ХБП

Показатель (референсный интервал)	Группа в целом (n=44)	Подгруппа с ХБП 1 (n=21)	Подгруппа с ХБП 2 (n=23)	p*
Демография и факторы риска				
Возраст, годы	58 (45 – 67)	53 (45 – 60)	63 (48 – 70)	0,056
Мужчины / Женщины	15 / 29	7 / 14	8 / 15	0,92
Курение: да / нет	13 / 31	11 / 10	2 / 21	0,0015
Сахарный диабет, n	10	4	6	0,58
Аутоиммунные заболевания, n	8	6	2	0,088
Наличие основного заболевания почек и МВП, n	12	6	6	0,85
САД, мм рт. ст.	130 (120 – 140)	130 (120 – 140)	130 (120 – 140)	0,73
ДАД, мм рт. ст.	80 (73 – 85)	80 (75 – 90)	80 (70 – 80)	0,37
ИМТ, кг/м <sup>2</sup>	26,1 (22,7 – 30,0)	24,6 (22,4 – 31,7)	27,7 (24,6 – 29,5)	0,22
Маркеры повреждения почек				
Аномалии развития почек, кисты, n	6	3	3	0,91
A0	1	1	0	
A1	25	15	10	
Стадии альбуминурии				
A2	10	3	7	0,037
A3	5	0	5	
A4	3	2	1	
Креатинин, мкМ (53 – 115)	69,5 (59 – 86)	63 (56 – 65)	84 (71 – 96)	0,000057
СКФ, мл/мин/1,73 м <sup>2</sup> (>90)	88 (73,6 – 97,7)	97,7 (93,7 – 110,3)	74,7 (68,9 – 79,6)	<0,00001
Мочевина, мМ (2,5 – 7,3)	4,7 (3,9 – 6,6)	3,9 (3,1 – 4,8)	6,1 (4,5 – 8,3)	0,00052
Мочевая кислота, мкМ (155 – 428)	303 (230 – 380)	233 (220 – 310)	360 (277 – 394)	0,080

Примечание. \* – достоверность различий между подгруппами пациентов с ХБП 1 и 2 оценивали с помощью теста Манна-Уитни (количественные данные), хи-квадрата Пирсона (категориальные данные, две группы) и точного критерия Фишера (категориальные данные, более двух групп). САД – систолическое артериальное давление; ДАД – диастолическое артериальное давление; ИМТ – индекс массы тела; МВП – мочевыводящие пути.

Лабораторные показатели обследованных пациентов в зависимости от стадии ХБП

Показатели (референсный интервал)	Подгруппа с ХБП 1 (n=21)	Подгруппа с ХБП 2 (n=23)	p*
гАрг, мкМ (> 1,80)	1,38 (1,05 - 1,91)	1,13 (0,85 - 1,40)	0,034
Глюкоза, мМ (3,9 – 6,1)	5,3 (4,8 - 5,6)	5,1 (4,7 - 6,2)	0,67
Общий холестерин, мМ (3,1 – 5,2)	4,8 (4,3 - 5,5)	4,7 (3,9 - 5,4)	0,57
Коэффициент атерогенности (< 3,0)	2,5 (1,7 - 3,0)	1,9 (1,4 - 2,4)	0,28
Триглицериды, мМ (0,40- 1,54)	1,33 (0,76 - 1,99)	1,20 (0,90 - 2,88)	0,62
Билирубин общий, мкМ (3,4 – 20,5)	9,6 (7,1 - 13,9)	11,0 (8,1 - 14,6)	0,43
Белок плазмы, г/л (65 – 85)	69 (65 – 73)	68 (64 – 74)	0,57
Фолиевая кислота, нМ (>13,4)	13,9 (8,3 - 22,7)	14,1 (10,6 - 21,4)	0,85
Витамин В <sub>12</sub> , пМ (133 – 675)	274 (182 – 352)	236 (181 – 338)	0,86
оГци, мкМ (<10,9)	10,2 (7,9 - 13,6)	10,8 (6,2 - 14,9)	0,63
Гемоглобин, г/л (130 – 160)	127 (114 – 137)	122 (115 – 131)	0,50
Эритроциты, *10 <sup>12</sup> /л (4,1-5,1)	4,4 (4,2 - 4,8)	4,2 (3,6 - 4,5)	0,12
Лейкоциты, *10 <sup>9</sup> /л (4,0 – 8,8)	6,3 (4,9 - 8,0)	5,7 (4,8 - 6,9)	0,22
СОЭ, мм/ч (1 – 10)	19 (10 – 26)	18 (10 – 26)	0,86
СРБ, мг/л (0,1 – 8,2)	3,0 (3,0 - 18,3)	3,0 (1,0 - 8,4)	0,21
Фибриноген, г/л (1,8 – 3,5)	4,0 (3,2 - 4,6)	3,7 (2,7 - 4,4)	0,56

Примечание. \* – достоверность различий между подгруппами пациентов с ХБП 1 и 2 стадии оценивали с помощью теста Манна-Уитни. СОЭ – скорость оседания эритроцитов; СРБ – С-реактивный белок.

Статистическую обработку результатов выполняли с использованием пакета программ Statistica 10. Степень соответствия закона распределения данных нормальному распределению оценивали с помощью критериев Шапиро-Уилки и Колмогорова-Смирнова. Распределение большинства переменных отличалось от нормального, поэтому данные в таблицах и в тексте представлены в виде медианы и межквартильного размаха (Me(Q1-Q3)). Для оценки межгрупповых различий в независимых выборках использованы непараметрические критерии Манна-Уитни и Краскела-Уоллиса для количественных данных, а также хи-квадрата Пирсона и точного критерия Фишера в случае категориальных данных. Оценка корреляционной связи между показателями проводилась с применением рангового коэффициента Спирмена. Нулевую статистическую гипотезу об отсутствии различий и связей отвергали при  $p < 0,05$ , а значение  $0,05 < p < 0,1$  рассматривали как тенденцию. Построение ROC-кривых и их анализ проведены с помощью соответствующего модуля программы MedCalc в соответствии с рекомендациями [19]. Для создания прогностической модели «здоровый – больной» были сформированы две группы: основная – вышеописанные пациенты с ХБП (n=44), и группа сравнения – доноры сопоставимого возраста 55 (42 – 58 лет, n=30). Критериями включения в группу сравнения были: удовлетворительное самочувствие,

нормальное артериальное давление, отсутствие хронических заболеваний, в том числе заболеваний почек, а также признаков острого воспалительного процесса. Все пациенты и доноры давали письменное согласие на анонимное использование получаемых лабораторных данных.

**Результаты.** Данные, приведенные в табл. 1, показывают, что подгруппы пациентов с ХБП 1 и ХБП 2 стадии по демографическим показателям и факторам риска не различались существенно, за исключением частоты курения, которая была больше в подгруппе с ХБП 1 стадии. Выраженность альбумин-/протеинурии – одного из важных маркеров повреждения почек – была ожидаемо выше в подгруппе пациентов с ХБП 2 стадии, а именно стадии альбуминурии 2 и 3 в ней встречались чаще. Что касается экскреторной функции почек, оцениваемой по показателям креатинина, СКФ и мочевины, то она оценивалась как минимально нарушенная и достоверно различалась между подгруппами с ХБП 1 и ХБП 2 (см. табл. 1).

Уровень гАрг в группе пациентов в целом составил 1,28 (0,86 – 1,60) мкМ, что значительно ниже, чем в группе здоровых лиц – 2,3 (1,8 – 3,1) мкМ [4] ( $p < 0,000001$ ). Медианные уровни гАрг на стадии ХБП 1 понижены по сравнению со здоровыми лицами в 1,67 раза, а на стадии ХБП 2 в – 2,04 раза. При этом у пациентов с ХБП 2 стадии они также были значительно ниже, чем при ХБП 1 стадии ( $p = 0,034$ , табл.

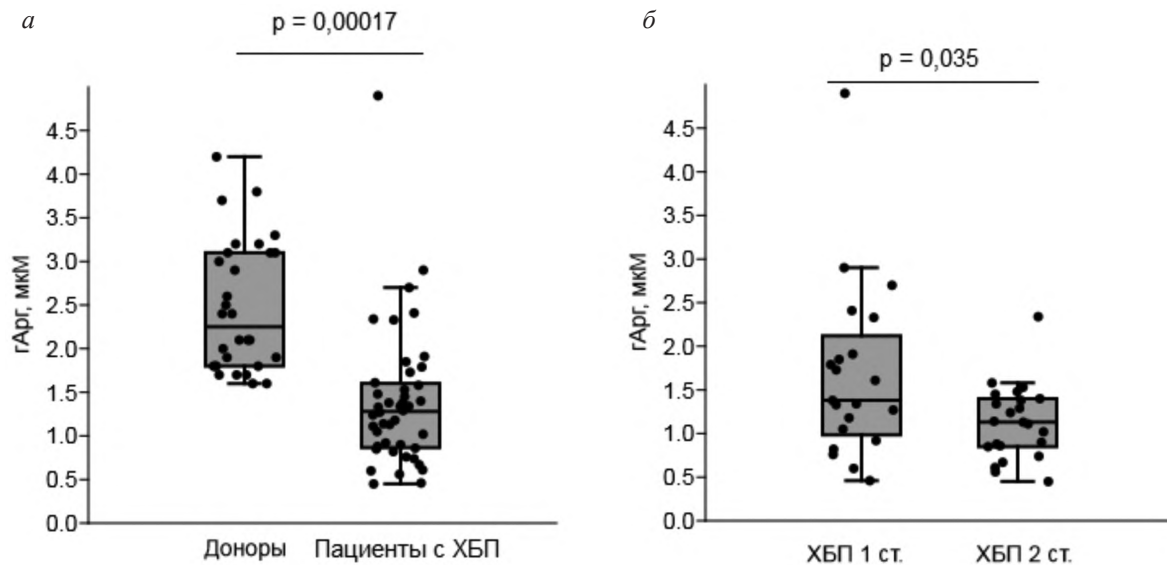


Рис. 1. Сравнение уровней гАрг и разброс показателей в группах сравнения (доноры) и пациентов с ХБП (а) и в подгруппах пациентов с ХБП 1 и 2 стадии (б).

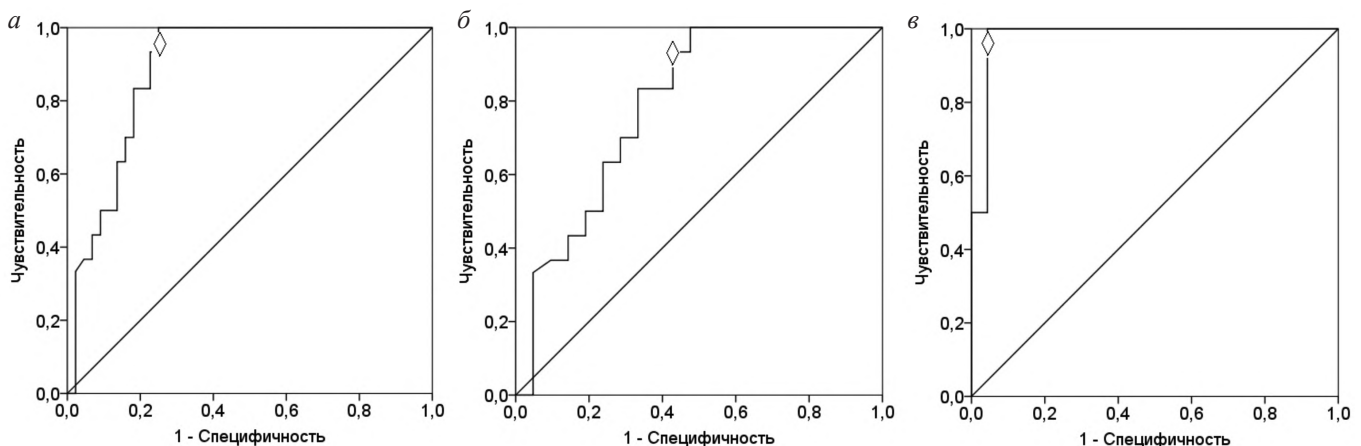


Рис. 2. ROC-кривая диагностической способности уровня гАрг плазмы крови в модели «здоровый – больной ХБП». Точка J, соответствующая наибольшей дистанции от биссектрисы до кривой, определяет значение “Cut off” уровня гАрг. а – группа пациентов в целом; б – подгруппа пациентов с ХБП 1 стадии; в – подгруппа пациентов с ХБП 2 стадии.

2). Разброс показателя гАрг в упомянутых группах представлен на рис. 1, а, б. Видно, что и у здоровых лиц, и у пациентов с ХБП 1 стадии преобладает разброс в сторону больших значений гАрг.

Общелабораторные данные, отражающие состояние красной крови, признаки воспаления, углеводный и липидный обмен, не выявили различий между подгруппами (табл. 2). То же относится к уровням ФК, витамина В<sub>12</sub> и оГци, отклонения которых часто встречаются при заболеваниях почек.

Если же сравнивать другие показатели пациентов с референсными значениями, то группа в целом характеризуется следующими отклонениями: снижение уровня ФК отмечено у 35% пациентов, умеренная гипергомоцистеинемия (ГГЦ > 10,9 мкМ) – у 40% пациентов, а уровень витамина В<sub>12</sub> у всех был в референсных пределах. Кроме того, примерно у половины пациентов отмечалась небольшая нормо-

ромная анемия, маркеры воспаления были умеренно повышены у четверти пациентов и у такой же части отмечались повышенные уровни общего холестерина и триглицеридов. Уровень общего белка плазмы был несколько понижен у четверти пациентов. Цифры артериального давления и уровень глюкозы были компенсированы.

Результаты ROC-анализа уровня гАрг как диагностического маркера ХБП приведены на рис. 2 для всей группы в целом (а), ХБП 1 стадии (б) и ХБП 2 стадии (в). Во всех случаях в качестве референсной группы использованы данные 30 здоровых лиц сходного возраста. Количественные данные по этому исследованию представлены в табл. 3.

Как видно из данных табл. 3, диагностический тест гАрг отличается хорошими характеристиками чувствительности и специфичности лишь в отношении пациентов с ХБП 2 стадии, тогда как при ХБП

Характеристики показателя гАрг в качестве диагностического маркера ХБП

Показатели	Площадь под кривой (95% ДИ)	<i>p</i>	Порог гАрг, мкМ	Чувствительность, %	Специфичность, %
ХПБ 1-2 стадии, <i>n</i> =44	0,888 (0,813 – 0,964)	<0,000001	1,60	93,3	75,0
ХБП 1 стадии, <i>n</i> =21	0,790 (0,654 – 0,925)	0,00048	1,66 1,88	93,3 70,0	43,0 71,4
ХБП 2 стадии, <i>n</i> =23	0,978 (0,935 – 1,000)	<0,000001	1,59	95,7	95,7

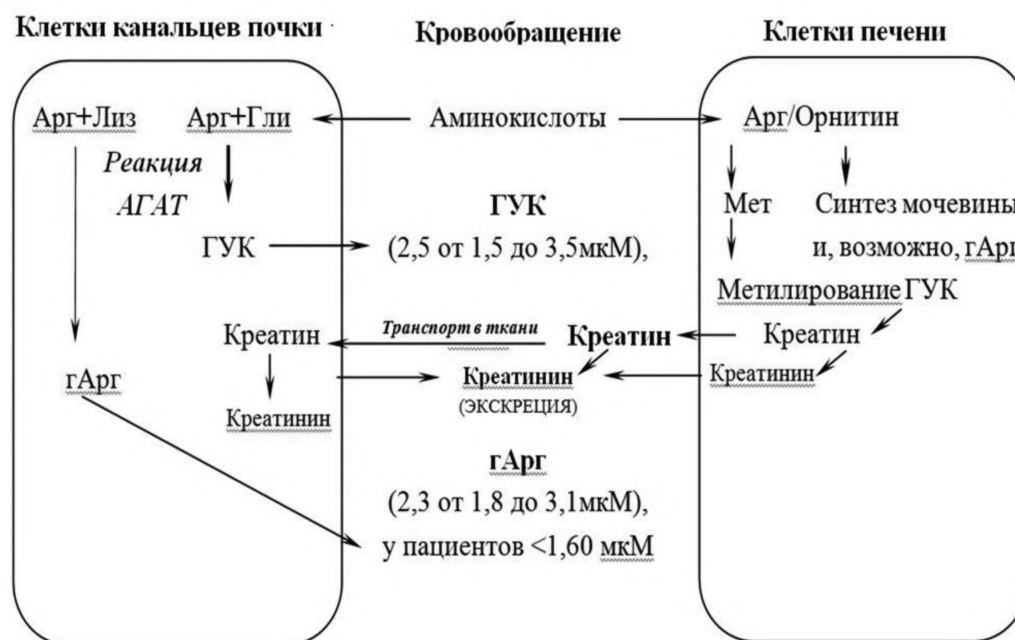


Рис. 3. Образование и гомеостаз гАрг и ГУК клетками проксимального извитого канальца в ключевой реакции биосинтеза креатина, катализируемой L-аргинином: глицинамидиногтрансферазой (АГАТ; ЕС 2.1.4.1).

1 стадии при хорошей чувствительности специфичность теста оказывается низкой. При произвольном определении порога отсечения в 1,88 мкМ в этой подгруппе пациентов обе характеристики оказываются на уровне 70%.

В проведенном исследовании мы обнаруживали уровень гАрг ниже 1,66 мкМ у 77% пациентов, а уровень ниже 1,88 мкМ- у 84%. Обнаружение уровня гАрг ниже указанных предельных значений свидетельствует о снижении активности АГАТ.

**Обсуждение.** У пациентов с начальными стадиями ХБП в возрасте 58 (45- 67) лет по сравнению с группой доноров в возрасте 55 (42-58) лет обнаружено значительное понижение уровня гАрг. Устойчивое изменение уровня гАрг мы наблюдали у пациентов на ранних стадиях ХБП (см. табл. 2) и выявили значительное понижение его уровня по сравнению с группой здоровых доноров. В отличие от других биохимических показателей крови, включая показатели азотистого обмена, уровни гАрг в основном были ниже нижней границы референсного интервала,

установленного в популяционных исследованиях -1,80 мкМ [2,4]. Относительно здоровых лиц подгруппа пациентов с ХБП 2 стадии с порогом отсечения 1,59 мкМ, имела бóльшие чувствительность и специфичность, чем группа ХБП 1 стадии с несколько более высоким пороговым уровнем гАрг- 1,66 мкМ, как это отмечено в табл. 3. Для всей группы ранних стадий ХБП порог отсечения гАрг составил 1,60 мкМ, что на 0,2 мкМ ниже нижней границы референсного интервала для здоровых лиц без ССЗ и явлений нефропатии. Это указывает на направление дальнейшего понижения уровней гАрг при прогрессировании ХБП. Как установлено нами в данном исследовании, уже на начальных стадиях ХБП уровни гАрг заметно снижены по сравнению со здоровыми лицами. При ХБП на более поздних до-диализных стадиях отмечается прямая корреляция между скоростью клубочковой фильтрации и уровнем гАрг в крови [20]. Можно предположить, что ещё до формирования симптомов протеинурии и альбуминурии у некоторой популяционной когорты лиц формиру-

ется состояние пониженной активности АГАТ, так как экспрессия этого энзима связана с определенным регуляторным торможением обратной связью на уровне организма [21].

АГАТ – митохондриальный фермент, в наибольших количествах обнаруженный в почках и поджелудочной железе млекопитающих и катализирующий обратимую реакцию образования ГУК или гАрг (рис. 3). АГАТ связана с внутренней мембраной митохондрий и конкурирует с аргиназами за тот же внутриклеточный пул аргинина. Известно, что АГАТ, локализованная на внутренней мембране митохондрий клеток канальцев, катализирует стадию, лимитирующую пул эндогенного креатина и креатинфосфата во всех тканях организма, а не только в почках [22-24]. В пределах нефрона активность и иммунореактивность АГАТ ограничены эпителиальными клетками проксимального извитого канальца [7-9, 25-26]. АГАТ является ферментом, ограничивающим скорость биосинтеза креатина, и этот фермент подвергается репрессии конечным продуктом орнитинном и креатинном [27]. Активность АГАТ в почках снижается при добавлении креатина в рацион [21].

Дисфункция митохондрий играет ключевую роль в нарушении функции почек [28-30]. В свою очередь, креатин и его фосфорилированная форма, фосфокреатин, играют решающую роль в поддержании концентраций аденозинтрифосфата в тканях с высокими энергетическими потребностями, таких как скелетные мышцы, сердце и мозг [31]. Нарушение регуляции баланса креатина происходит при различных хронических заболеваниях, сопровождаемых мышечной дисфункцией и кардиомиопатией, а также при онкологических процессах [32]. Ежесуточные потери креатина в креатинин, достигающие 2% от общего количества креатина в организме, полностью могут восполняться почечным биосинтезом ГУК с последующим метилированием в других тканях [33].

Ранние стадии ХБП в клинике часто устанавливают путём достаточно длительного (до 3 месяцев) наблюдения за пациентом, определяя такие показатели, как альбумин-/протеинурия, стойкие изменения в осадке мочи, начальное, но стойкое снижение СКФ и некоторые другие признаки [15]. За редким исключением эти признаки не удаётся обнаружить в ходе однократного обследования. В этом отношении, показатель гАрг плазмы крови имеет большое преимущество, так как отражает регуляторные воздействия на экспрессию белка АГАТ за длительный промежуток времени и отличается стабильностью своих уровней в течении длительного времени [34-36].

Нарушение экскреторной функции на ранних стадиях ХБП развивается в большинстве случаев на фоне уже сложившейся недостаточности важных для организма метаболических функций почек. Именно в связи с этим нами представлены данные о возможности оценить депрессию энергетического метаболизма с соответствующими клиническими последствиями у пациентов с пониженным (менее 1,60 мкМ) уровнем гАрг. Этот показатель в сопоставлении с другими метаболическими функциями

почек подлежит детальной оценке в качестве диагностического критерия угрозы прогрессирования ХБП на ранних стадиях. В частности, при ХБП 1 и 2 мы наблюдали также повышение уровня оГци по сравнению с группой доноров (Таблица 2), но не между подгруппами пациентов. Следует отметить наличие обратной корреляции между уровнями оГци и ФК, что подтверждает участие почек в регуляции всасывания ФК [37]. Метаболические функции по поддержанию уровней гАрг и оГци и функция по регулированию всасывания ФК в кишечнике, скорее относящаяся к эндокринным функциям почек, по нашим данным, уже на ранних стадиях ХБП являются нарушенными. В тканях и сосудистой стенке исследователи отмечают на молекулярном уровне и другие изменения. Эти изменения и их диагностическую значимость следует рассматривать как результат закономерного влияния нарушений энергетического метаболизма в различных тканях на продукцию белковых регуляторных факторов, либо как результат их генетически опосредованного полиморфизма. По-видимому, на ранних стадиях ХБП частные проявления различных регуляторных нарушений могут значительно усиливаться за счет нарушения энергетического метаболизма в условиях торможения АГАТ-реакции. К настоящему времени связь этих нарушений с выраженностью в почках экспрессии белка АГАТ и её активности остается неизученной. Как показано в настоящей работе, у пациентов на ранних стадиях ХБП наблюдается понижение уровня продукта АГАТ реакции – гАрг. Этот уровень оказался также ниже референсного уровня гАрг, показанного нами ранее, для группы здоровых лиц аналогичного возраста (1,8 – 3,1) мкМ [4]. В результате проведенного исследования можно заключить, что у пациентов на ранних стадиях ХБП в возрастной группе 45- 67 лет отмечается торможение АГАТ реакции и, соответственно, снижение возможности для синтеза эндогенного креатина. Можно предположить, что за счет этого возникает ограничение пула креатина и, соответственно креатинфосфата, что сдерживает возможности энергоёмких процессов в клетках, таких как трансмембранный перенос, поддержание трансмембранного потенциала или разнообразных биосинтетических процессов. Таким образом, за счет теста на пониженный уровень гАрг у пациентов с начальными нарушениями функции почек, возможно предвидеть скорое нарастание других патологических изменений, включая снижение почечного кровотока, склеротические изменения в кортикальном слое почек, атрофию их канальцев, что делает тест на гАрг перспективным для дальнейшего изучения. Кроме того остаётся открытым вопрос о возможности покрытия дефицита этой метаболической функции почек за счёт экспрессии АГАТ в других тканях, в особенности, при прогрессировании ХБП.

**Выводы.** Из полученных данных следует, что у пациентов уже на ранних стадиях ХБП наблюдается нарушение метаболических функций. У 84 % обследованных пациентов на ранних стадиях ХБП мы об-

наруживали уровень гАрг ниже 1,88 мкМ. Из данных, полученных нами в настоящей работе, видно, что медианные уровни гАрг на стадии ХБП 1 понижены по сравнению со здоровыми лицами в 1,67 раза, а на стадии ХБП 2 в – 2,04 раза. В дальнейших исследованиях следует остановиться на детализации пороговых уровней гАрг, в зависимости от пусковых механизмов возникновения ХБП и её коморбидности.

ЛИТЕРАТУРА ( пп. 1–3, 5–14, 17, 20–36  
см. REFERENCES )

4. Жлоба А.А., Субботина Т.Ф., Молчан Н.С. Значение определения уровня гомоаргинина (гАрг) у пациентов с ишемической болезнью сердца при операциях реваскуляризации миокарда. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2018; 63(5): 281-6. <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2018-63-5-281-286>.
15. Смирнов А.В., Шилов Е.М., Добронравов В.А., Каюков И.Г., Бобкова И.Н., Швецов М.Ю. и др. Национальные рекомендации. Хроническая болезнь почек: основные принципы скрининга, диагностики, профилактики и подходы к лечению. *Нефрология*. 2012; 16(1): 89-115. <https://doi.org/10.24884/1561-6274-2012-16-1-89-115>.
16. Жлоба А.А. Лабораторная диагностика при гипергомоцистеинемии. *Клинико-лабораторный консилуим*. 2009; 26(1): 49-60.
17. 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.
18. Кореновский Ю.В., Кудинов А.В., Сузопов Е.В., Поповцева А.В. Сравнение компьютерных программ для проведения описательной статистики и ROC-анализа. *Медицина в Кузбассе*. 2016; 15(3): 40-4.
37. Жлоба А.А., Субботина Т.Ф. Оценка гомоаргинина и фолиевой кислоты у пациентов с артериальной гипертензией. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2020; 65(8): 474-81. <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2020-65-8-474-481>.

REFERENCES

1. Atzler D., Baum C., Ojeda F., Keller T., Cordts K., Schnabel R.B. et al. Low homoarginine levels in the prognosis of patients with acute chest pain. *J. Am. Heart Assoc.* 2016; 5(4): e002565. <https://doi.org/10.1161/JAHA.115.002565>.
2. 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. <https://doi.org/10.1515/cclm-2015-0785>.
3. 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.
4. Zhloba A.A., Subbotina T.F., Molchan N.S. The value of detection of homoarginin level in patients with ischemic heart disease under operations of myocardium revascularization. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2018; 63(5): 281-6. <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2018-63-5-281-286>. (in Russian)
5. Niekamp C., Atzler D., Ojeda F.M., Sinning C.R., Lackner K.J., Böger R.H. et al. Cross-sectional associations between homoarginine, intermediate phenotypes, and atrial fibrillation in the community—The Gutenberg Health Study. *Biomolecules*. 2018; 8(3): 86. <https://doi.org/10.3390/biom8030086>.
6. Herzlinger D., Hurtado R. Patterning the renal vascular bed. *Semin. Cell. Dev. Biol.* 2014; 36: 50-6. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2014.08.002>.
7. Sandell L.L., Guan X.J., Ingram R., Tilghman S.M. GATM, a creatine synthesis enzyme, is imprinted in mouse placenta. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*. 2003; 100(8): 4622-7. <https://doi.org/10.1073/pnas.0230424100>.
8. Sorenson R.L., Stout L.E., Brelje T.C., Van Pilsun J.F., McGuire D.M. Evidence for the role of pancreatic acinar cells in the pro-

- duction of ornithine and guanidinoacetic acid by L-arginine:glycine amidinotransferase. *Pancreas*. 1995; 10(4): 389-94. <https://doi.org/10.1097/00006676-199505000-00011>.
9. Reichold M., Klootwijk E.D., Reinders J., Otto E.A., Milani M., Broecker C. et al. Glycine amidinotransferase (GATM), renal fanconi syndrome, and kidney failure. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2018; 29(7): 1849-1858. <https://doi.org/10.1681/ASN.2017111179>.
10. Tofuku Y., Muramoto H., Kuroda M., Takeda R. Impaired metabolism of guanidinoacetic acid in uremia. *Nephron*. 1985; 41(2): 174-8. <https://doi.org/10.1159/000183576>.
11. 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. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.112.000580>.
12. Davids M., Ndika J.D., Salomons G.S., Blom H.J., Teerlink T. Promiscuous activity of arginine:glycine amidinotransferase is responsible for the synthesis of the novel cardiovascular risk factor homoarginine. *FEBS Lett.* 2012; 586(20): 3653-7. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2012.08.020>.
13. Kayacelebi A.A., Langen J., Weigt-Usinger K., Chobanyan-Jürgens K., Mariotti F., Schneider J.Y. et al. Biosynthesis of homoarginine (hArg) and asymmetric dimethylarginine (ADMA) from acutely and chronically administered free L-arginine in humans. *Amino Acids*. 2015; 47: 1893-1908. <https://doi.org/10.1007/s00726-015-2012-3>.
14. Kleber M.E., Seppälä I., Pilz S., Hoffmann M.M., Tomaschitz A., Oksala N. et al. Genome-wide association study identifies 3 genomic loci significantly associated with serum levels of homoarginine: the AtheroRemo Consortium. *Circ. Cardiovasc. Genet.* 2013; 6: 505-13. <https://doi.org/10.1161/CIRCGENETICS.113.000108>.
15. Smirnov A.V., Shilov E.M., Dobronravov V.A., Kayukov I.G., Bobkova I.N., Shvetsov M.Yu. et al. National guidelines. Chronic kidney disease: basic principles of screening, diagnosis, prevention and treatment approaches. *Nephrology (Saint-Petersburg)*. 2012; 16(1): 89-115. <https://doi.org/10.24884/1561-6274-2012-16-1-89-115>. (in Russian)
16. Zhloba A.A. Laboratory diagnosis of hyperhomocysteinemia. *Kliniko-laboratornyi konsilium*. 2009; 26(1): 49-60. (in Russian)
17. Zhloba A.A., Subbotina T.F. Homocysteinylolation score of high molecular weight plasma proteins. *Amino Acids*. 2014; 46(4): 893-9.
18. 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. Патент РФ N 2609873; 2017. (in Russian)
19. Korenovsky Yu.V., Kudinov A.V., Suzopov E.V., Popovtseva A.V. Comparison of computer programs for descriptive statistics and ROC-analysis. *Meditsina v Kuzbasse*. 2016;15(3):40-4.(in Russian)
20. 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. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0072694>.
21. Guthmiller P., Van Pilsun J.F., Boen J.R., McGuire D.M. Cloning and sequencing of rat kidney l-arginine:glycine amidinotransferase. Studies on the mechanism of regulation by growth hormone and creatine. *J. Biol. Chem.* 1994; 269(26): 17556-60.
22. Wyss M., Kaddurah-Daouk R. Creatine and creatinine metabolism. *Physiol. Rev.* 2000; 80(3): 1107-213. <https://doi.org/10.1152/physrev.2000.80.3.1107>.
23. Sharer J.D., Bodamer O., Longo N., Tortorelli S., Wameling M.M., Young S. Laboratory diagnosis of creatine deficiency syndromes: a technical standard and guideline of the American College of Medical Genetics and Genomics. *Genet. Med.* 2017;19(2): 256-63. <https://doi.org/10.1038/gim.2016.203>.
24. Humm A., Fritsche E., Steinbacher S., Huber R. Crystal structure and mechanism of human L-arginine:glycine amidinotransferase: a mitochondrial enzyme involved in creatine biosynthesis. *EMBO J.* 1997;16(12): 3373-85. <https://doi.org/10.1093/emboj/16.12.3373>.



25. 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. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0063560>.
26. McGuire D.M., Gross M.D., Elde R.P., van Pilsom J.F. Localization of L-arginine-glycine amidinotransferase protein in rat tissues by immunofluorescence microscopy. *J. Histochem. Cytochem.* 1986; 34(4): 429-35. <https://doi.org/10.1177/34.4.3512696>.
27. Bera S., Wallimann T., Ray S., Ray M. Enzymes of creatine biosynthesis, arginine and methionine metabolism in normal and malignant cells. *The FEBS Journal*. 2008; 275(23): 5899-5909. <https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2008.06718.x>.
28. Hallan S., Sharma K. The role of mitochondria in diabetic kidney disease. *Curr. Diab. Rep.* 2016; 16(7): 61. <https://doi.org/10.1007/s11892-016-0748-0>.
29. Takemura K., Nishi H., Inagi R. Mitochondrial dysfunction in kidney disease and uremic sarcopenia. *Front. Physiol.* 2020; 11: 565023. <https://doi.org/10.3389/fphys.2020.565023>.
30. Wetzel M.D., Stanley K., Maity S., Madesh M., Bopassa J.C., Awad A.S. Homoarginine ameliorates diabetic nephropathy independent of nitric oxide synthase-3. *Physiol. Rep.* 2021; 9: e14766. <https://doi.org/10.14814/phy2.14766>.
31. Wallimann T., Tokarska-Schlattner M., Schlattner U. The creatine kinase system and pleiotropic effects of creatine. *Amino Acids*. 2011;40(5): 1271-96. <https://doi.org/10.1007/s00726-011-0877-3>.
32. Bonilla D.A., Kreider R.B., Stout J.R., Forero D.A., Kerkick C.M., Roberts M.D. et al. Metabolic basis of creatine in health and disease: a bioinformatics-assisted review. *Nutrients*. 2021;13(4): 1238. <https://doi.org/10.3390/nu13041238>.
33. Edison E.E., Brosnan M.E., Meyer C., Brosnan J.T. Creatine synthesis: production of guanidinoacetate by the rat and human kidney in vivo. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 2007; 293(6): F1799-804. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00356.2007>.
34. Atzler D., Schwedhelm E., Nauck M., Ittermann T., Böger R.H., Friedrich N. Serum reference intervals of homoarginine, ADMA, and SDMA in the study of health in Pomerania. *Clin Chem Lab Med.* 2014; 52(12): 1835-42. <https://doi.org/10.1515/cclm-2014-0314>.
35. 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. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.114.304398>.
36. Vaidya SR, Aeddula NR. Chronic Renal Failure. [Updated 2020 Dec 1]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK535404/>.
37. Zhloba A.A., Subbotina T.F. The evaluation of homoarginine and folic acid in patients with arterial hypertension. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2020; 65(8): 474-81. <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2020-65-8-474-481>. (in Russian)