

БИОХИМИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2023

Жлоба А.А., Субботина Т.Ф., Рейпольская Т.Ю.

УРОВЕНЬ ЦИТРУЛЛИНА КРОВИ У ПАЦИЕНТОВ С АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ И НАРУШЕНИЕМ ЭКСКРЕТОРНОЙ ФУНКЦИИ ПОЧЕК

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

Развитие артериальной гипертензии (АГ) на начальном этапе протекает бессимптомно и приводит к развитию необратимого изменения метаболических функций в органах мишенях. К этим нарушениям относится метаболический путь поддержания уровня субстрата NO-синтазы аргинина за счет цитруллина. Цель исследования – оценить уровни цитруллина (Cit) и аргинина (Arg) в сравнении с другими, в том числе, рутинными лабораторными данными у пациентов с умеренными нарушениями клубочковой фильтрации при артериальной гипертензии. В исследование были включены образцы плазмы крови 105 пациентов обоего пола с АГ в возрасте 35-75 лет и 30 здоровых лиц. Помимо рутинных показателей, определяли аминокислоты, включая гомоаргинин, Cit, Arg, в виде ортофталевых дериватов с использованием хроматографа Ultimate 3000 с фото- и флуориметрическим детекторами, а общий гомоцистеин определяли в виде производных тионитробензойной кислоты с использованием хроматографии с фотометрическим детектированием. В условиях АГ значительно ($p < 0,0001$) повышается уровень Cit в крови – до 62,7 (52,5-72,4) мкМ, по сравнению с здоровыми лицами – 41,5 (33,0-48,0) мкМ. Понижается также и уровень гомоаргинина ($p < 0,0001$). Наблюдается также некоторое повышение уровня аргинина у этих пациентов, по-видимому, в связи с нарушением утилизации Arg для биосинтеза мочевины. При этом уровни цитруллина, общего гомоцистеина и метионина обнаруживают прямые корреляции с содержанием креатинина. В соответствии с ROC-анализом, у пациентов с АГ установлено превышение порогового уровня цитруллина ("Cut-off"), равного 53 мкМ. Таким образом, при прогрессировании артериальной гипертензии наблюдаются стойкие сдвиги в метаболических путях. Торможение метаболизма цитруллина с его превращением в аргинин проявляется значительным, выше 53 мкМ, его содержанием в крови.

Ключевые слова: цитруллин; аргинин; аминокислоты; артериальная гипертензия.

Для цитирования: Жлоба А.А., Субботина Т.Ф., Рейпольская Т.Ю. Уровень цитруллина крови у пациентов с артериальной гипертензией и нарушением экскреторной функции почек. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2023; 68 (3): 133-140. DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2023-68-3-133-140>

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

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки и выполнено в рамках выполнения государственного задания.

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

Поступила 21.01.2023

Принята к печати 06.02.2023

Опубликовано 20.03.2023

Zhloba A.A., Subbotina T.F., Reypolskaya T.Yu.

THE LEVEL OF BLOOD CITRULLINE IN HYPERTENSIVE PATIENTS WITH ABNORMAL RENAL EXCRETORY FUNCTION

Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, 197022, Saint-Petersburg, Russian Federation

Initial stage of Arterial hypertension (AH) is asymptomatic and leads to irreversible change in metabolic functions in the target organs. These disorders affect metabolic pathway for maintaining the level of the NO-synthase substrate arginine (Arg) and its precursor – citrulline (Cit). The aim of the study was to evaluate the levels of Cit and Arg in comparison with others, including routine laboratory data in patients with moderate glomerular filtration disorders in hypertension. The study included blood plasma samples from 105 patients of both sexes with AH aged 35-75 years and 30 healthy individuals. In addition to routine procedures, amino acids including homoarginine, Cit, Arg, were determined as orthophthalic derivatives using an Ultimate 3000 chromatograph with photo- and fluorimetric detectors, and total homocysteine was determined as thionitrobenzoic acid derivatives using chromatography with photometric detection. Results. In hypertensive patients, the blood level of Cit increased ($p < 0.0001$) – up to 62.7 (52.5-72.4) μM , compared with healthy individuals – 41.5 (33.0-48.0) μM . The level of homoarginine decreased ($p < 0.0001$). There was also some increase in the level of Arg in these patients, apparently due to impaired utilization of Arg for urea biosynthesis. At the same time, the levels of Cit, total homocysteine and methionine shown direct correlations with the content of creatinine. In accordance with ROC-analysis, in patients with AH, an excess of the Cut-off level of Cit equal to 53 μM was found. Metabolic pathways stable changes are observed with the AH progression. So, down regulation of Cit to Arg conversion is manifested by increase plasma level of Cit above 53 μM .

Key words: citrulline; arginine; amino acids; arterial hypertension.

For citation: Zhloba A.A., Subbotina T.F., Reypolskaya T.Yu. The level of blood citrulline in hypertensive patients with abnormal renal excretory function. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2023; 68 (3): 133-140. (in Russ.) DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2023-68-3-133-140>

For correspondence: Zhloba A.A., Dr. Sci. Med., Professor, Head of Biochemistry Department of Scientific and Educational Institute of Biomedicine; e-mail: zhlobaaa@1spbgmu.ru

Information about authors:

Zhloba A.A., <https://orcid.org/0000-0003-0605-7617>;

Subbotina T.F., <https://orcid.org/0000-0002-2278-8391>;

Reypolskaya T.Yu., <https://orcid.org/0000-0002-4183-1148>.

Conflict of interests. *The authors declare absence of conflict of interests.*

Funding. *The study had no sponsor support.*

Acknowledgment. *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 21.01.2023

Accepted 06.02.2023

Published 20.03.2023

Артериальная гипертензия (АГ) сопровождается значительными сдвигами липидного метаболизма, включая участников построения мембранных структур (холестерин, фосфолипиды), гормонов, нейтральных жиров, а также участников энергетического метаболизма [1]. В настоящее время метаболомные исследования привлекли внимание к другим метаболитам, обнаруженным в общем кровотоке при прогрессировании АГ. Развитие АГ на начальном этапе протекает бессимптомно и приводит к развитию необратимого ремоделирования сосудов и других тканей. В частности, за счет нарушений метаболизма в органах-мишенях, в том числе, в почечной ткани наблюдается торможение ключевой реакции биосинтеза креатина [2]. Нарушения метаболизма и его регуляции при АГ за счет дисфункции почек могут обнаруживаться еще в относительно молодом возрасте. Исследование 147 пациентов в возрасте 25–45 лет с АГ и сниженной расчетной скоростью клубочковой фильтрации (рСКФ) менее 90 мл/мин/1,73 м², показало у них некоторое возрастание уровня симметричного диметиларгинина [3]. В последние годы значительно возрос интерес к роли цитруллина (Цит) в патогенезе АГ. Его определение можно использовать в целях обнаружения метаболических сдвигов в органе-мишени, в частности, в почечных тканях. Это позволяет на ранних этапах выявить развитие почечной недостаточности за счет нарушения метаболической функции проксимальных канальцев и, тем самым, оценить степень поражения почек при АГ [4]. В модельных экспериментах с инфарктом почки крыс установлено, что повышение уровня цитруллина в крови наблюдается за счет снижения активности аргининосукцинатсинтазы и аргининосукцинатлиазы [5].

Так как в тканях почек из цитруллина образуется аргинин, который пополняет пул этого субстрата NO-синтазы, естественно предположить, что повышение уровня Цит может способствовать вазодилатации [6-8]. При нарушении метаболических функций проксимальных канальцев следует ожидать снижения пополнения циркулирующего аргинина за счет цитруллина. В норме циркулирующий цитруллин интенсивно извлекается тканями почек, а у пациентов с хронической болезнью почек (ХБП) на поздних стадиях обна-

ружено значительное возрастание уровня цитруллина в крови [9]. Источниками цитруллина крови у взрослых обычно не могут быть органы, в которых протекают реакции синтеза мочевины, например, печень и мозг [10]. Это связано с тем, что в указанных органах цикл мочевины протекает во внутримитохондриальном пространстве, и его промежуточные метаболиты, включая цитруллин, в кровоток почти не попадают [11-12]. Было показано, что поглощение цитруллина клетками проксимальных канальцев почечного эпителия может происходить как апикально из первичной мочи, так и базолатерально из капиллярной системы [10]. Одна из специализированных метаболических функций ткани почек связана с образованием аргинина из цитруллина и гуанидинуксусной кислоты из аргинина для биосинтеза креатина. Таким образом, за счет метаболизма цитруллина в почках поддерживается уровень аргинина и гуанидинуксусной кислоты в крови.

Сдвиги в содержании цитруллина в крови при прогрессировании АГ с возникновением ранних нарушений метаболической функции почек изучены недостаточно.

Цель исследования заключалась в оценке уровней цитруллина и аргинина в сравнении с другими, в том числе, рутинными лабораторными данными у пациентов с умеренными нарушениями клубочковой фильтрации при артериальной гипертензии.

Материал и методы. В исследование были включены образцы крови 105 пациентов с АГ в возрасте 35-75 лет, находившихся на стационарном лечении в клиниках Первого СПбГМУ им. Павлова и в качестве группы сравнения 30 здоровых лиц – регулярных доноров старшего возраста, приближенного к возрасту обследуемых пациентов.

Критерием включения в группу пациентов было наличие артериальной гипертензии (МКБ 10: I10/ I11/ I12/ I13/ I15) и расчетная скорость клубочковой фильтрации (рСКФ) не менее 45 мл/мин/1,73 м² (соответствует критерию ХБП не выше 3А). Длительность артериальной гипертензии составляла от 2 до 39 лет, и она была документирована признаками гипертрофии левого желудочка по данным ЭКГ или ЭхоКГ. Критериями исключения были: наличие печеночной

недостаточности, онкогематологических и других онкопролиферативных заболеваний, острых нарушений кровообращения и воспалительных процессов, а также состояние беременности. Поскольку в группе сравнения не встретились доноры, страдающие ожирением, дополнительным фактором исключения являлся индекс массы тела (ИМТ) более 30 кг/м². Пациенты были разделены на две подгруппы. Подгруппа 1 – 32 пациента с рСКФ ≥ 90 мл/мин/1,73 м². Подгруппа 2 – 73 пациента с незначительным либо умеренным снижением рСКФ в диапазоне 89,9–45 мл/мин/1,73 м². Демографические данные, факторы риска и основные общелабораторные показатели представлены в табл. 1.

Материалом исследования являлась плазма крови, взятая утром натощак из кубитальной вены в вакутейнеры с гепарином. Отделение форменных элементов

крови путем центрифугирования (580 g, 15 мин) проводили в течение 1 ч после взятия крови. Образцы плазмы до анализа хранили при температуре –80 °С. Основные биохимические показатели определяли с помощью стандартных наборов фирмы Roche для биохимического анализатора Cobas Integra 400 Plus (Швейцария). Расчет СКФ проводили по уровню креатинина крови с использованием формулы СКД-ЕРІ. Определение концентрации общего холестерина проводили с использованием наборов реактивов фирмы Abbott Clinical Chemistry (США).

Концентрацию общего гомоцистеина (оГци) осуществляли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ), как описано нами ранее [13]. Концентрацию аминокислот, включая цитруллин (Цит), аргинин (Арг), серин (Сер), метионин

Таблица 1

Характеристика групп пациентов с АГ и группы сравнения (здоровые доноры)

Показатель (референсный интервал)	Группа пациентов с АГ (n=105)	Подгруппа 1 – пациенты с АГ и рСКФ ≥ 90 (n=32)	Подгруппа 2 – пациенты с АГ и 90>рСКФ>45 (n=73)	Группа сравнения (n=30)	p
Возраст, годы	62 (54–67)	58 (47–64)	64 (57–67)	55 (42–58)	0,000065
Мужчины / Женщины	48 / 57	17 / 15	31 / 42	11 / 19	0,41
Индекс массы тела, кг/м ²	25,5 (23,4–28,0)	24,4 (21,8–26,4)	26,4 (23,7–28,3)	25,0 (21,9–27,5)	0,11
Сахарный диабет или НТГ	22	6	16	0	0,83
Ишемическая болезнь сердца	31	9	22	0	0,84
рСКФ, мл/мин/1,73 м ² (≥ 90)	77,1 (65,0–91,7)	95,3 (92,2–102,1)	72,3 (61,8–80,2)	–	<0,0000001
Курение	23	9	14	0	0,31
Систолическое АД, мм рт. ст.	130 (120–140)	130 (120–140)	130 (120–140)	120 (115–130)	0,095
Диастолическое АД, мм рт. ст.	80 (75–85)	80 (73–90)	80 (75–85)	80 (75–88)	0,66
Глюкоза, мМ (3,9–6,1)	5,3 (4,9–5,6)	5,2 (5,0–5,6)	5,3 (4,9–5,7)	–	0,81
Общий холестерин, мМ (3,1–5,2)	4,7 (3,9–5,5)	4,6 (4,0–5,6)	4,8 (3,9–5,5)	–	0,96
Гемоглобин, г/л (132–164)	132 (122–141)	130 (119–137)	133 (123–142)	–	0,19
Эритроциты, $\times 10^{12/l}$ (4,1 – 5,1)	4,4 (4,1–4,8)	4,4 (4,1–4,7)	4,5 (4,2–4,8)	–	0,29
Цветной показатель (0,85–1,05)	0,89 (0,86–0,93)	0,91 (0,81–0,93)	0,89 (0,86–0,93)	–	0,98
Креатинин, мкМ (53–115)	80 (67–95)	65 (60–71)	87 (75–100)	–	<0,0000001
Мочевина, мМ (2,5–7,3)	5,6 (4,4–6,7)	3,9 (3,3–4,8)	6,0 (5,2–7,1)	–	0,000014
Мочевая кислота, мкМ (155–428)	356 (280–407)	279 (230–360)	370 (305–414)	–	0,025
ГНД, мкМ (по Сакагучи)	382 (282–472)	279 (265–293)	402 (368–505)	–	<0,0000001
Общий белок, г/л (65–85)	70 (66–74)	69 (65–73)	70 (67–74)	–	0,33
Общий билирубин, мкМ (3,4–20,5)	11,3 (8,5–15,0)	10,2 (7,2–13,5)	11,6 (9,2–17,8)	–	0,063
АСТ, Е/л (10–40)	18 (15–24)	16 (13–21)	18 (15–25)	–	0,18
АЛТ, Е/л (10–42)	14 (11–20)	13 (10–17)	16 (12–20)	–	0,12
Лейкоциты, $\times 10^9/l$ (4,0–8,8)	6,3 (5,0–7,3)	6,3 (5,2–7,2)	6,2 (5,0–7,3)	–	0,64
Скорость оседания эритроцитов, мм/час (1–10)	15 (9–25)	19 (11–30)	15 (8–20)	–	0,16
С-реактивный белок, мг/л (0,1–8,2)	3,0 (2,9–5,5)	3,0 (3,0–14,5)	3,0 (1,9–4,2)	–	0,13

Примечание. Прочерк – без отклонения от референсного интервала по данным анамнеза; p – достоверность различий между подгруппами пациентов и группой сравнения оценивали с помощью теста Краскела-Уоллиса (количественные данные) и точного критерия Фишера (категориальные данные); результаты попарного сравнения отражены в тексте при необходимости. В случае отсутствия данных для группы сравнения, приведены значения p по критериям Манна-Уитни и хи-квадрат. НТГ – нарушение толерантности к глюкозе; рСКФ – расчетная скорость клубочковой фильтрации (формула СКД-ЕРІ); АСТ – аспаргатаминотрансфераза; АЛТ – аланинаминотрансфераза; ГНД – сумма гуанидинсодержащих веществ.

Аминокислоты в плазме обследованных лиц

Показатель (референсный интервал)	Подгруппа 1- пациенты с АГ и рСКФ \geq 90 мл/мин/1,73 м ² (n=32)	Подгруппа 2- пациенты с АГ и 90>рСКФ>45 мл/мин/1,73 м ² (n=73)	Группа сравнения (n=30)	p
Цитруллин, мкМ	47,5 (33,3-65,6)	62,7 (52,5-72,4)	41,5 (33,0-48,0)	0,000069
Аргинин, мкМ (32-138)	78,1 (66,1-95,3)	80,8 (63,6-104,6)	55,0 (46,0-74,0)	0,0001
гАрг, мкМ (> 1,68)	1,45 (0,99-2,04)	1,43 (1,00-1,98)	2,27 (1,80-3,10)	0,000012
Лизин, мкМ (83-255)	176 (139-193)	212 (179-240)	156 (122-184)	0,00012
Серин, мкМ (65-193)	114 (96-134)	107 (78-128)	103 (80-127)	0,17
oГци, мкМ (< 10,9)	8,4 (6,3-12,5)	9,9 (6,6-13,5)	8,1 (6,5-10,3)	0,31
Цит/Арг	0,67 (0,43-0,77)	0,76 (0,59-0,95)	0,67 (0,56-0,86)	0,032
Цит/Лиз	0,29 (0,20-0,37)	0,29 (0,25-0,36)	0,27 (0,23-0,35)	0,63

Примечание. p – достоверность различий между подгруппами пациентов и группой сравнения оценивали с помощью теста Краскела-Уоллиса. Результаты попарного сравнения (тест Манна-Уитни с поправкой Бонферрони) при необходимости отражены в тексте. гАрг – гомоаргинин; oГци – общий гомоцистеин.

(Мет), лизин (Лиз) и гомоаргинин (гАрг), определяли в рамках единого анализа методом обращенно-фазовой ВЭЖХ [14] после предколоночной дериватизации ортофталевым альдегидом.

Сумму гуанидинсодержащих веществ (ГНД) определяли в депротенизированных образцах по методу Сакагучи [15]. Депротенизация достигалась добавлением к образцу 5% сульфосалициловой кислоты в соотношении 1:1 по объему с последующим центрифугированием (2000 g, 5 мин) после 30-минутной экспозиции при 4°C.

Статистический анализ выполняли с использованием пакета программ Statistica 10. Соответствие распределения данных нормальному закону оценивали с помощью критерия Шапиро-Уилка. Распределение большинства переменных отличалось от нормального, поэтому данные в таблицах и в тексте представлены в виде медианы и межквартильного размаха. Для оценки различий между двумя подгруппами пациентов применяли критерий Манна-Уитни, а при наличии трех независимых выборок (подгруппы пациентов 1 и 2 и группа сравнения) использовали критерий Краскела-Уоллиса (количественные данные) и точный критерий Фишера (категориальные данные). При необходимости попарного сравнения использовали тест Манна-Уитни с поправкой Бонферрони при оценке уровня значимости. Оценка корреляционной связи между показателями проводилась с применением рангового коэффициента Спирмена. Критический уровень достоверности нулевой статистической гипотезы принимали равным 0,05.

Во всех случаях имелось информированное согласие обследуемых на анонимное использование полученных данных. Протокол исследования в соответствии с принципами Хельсинкской декларации был одобрен Этическим комитетом ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И. П. Павлова Минздрава России.

Результаты. Данные табл. 1 показывают отсутствие значимых различий между обследуемыми подгруппами пациентов с АГ по возрасту, гендерному составу, частоте курения и по уровню артериального

давления. В подгруппе 1 значительно чаще встречается сахарный диабет, однако он у большинства пациентов носит компенсированный характер, поскольку различий между группами по уровню глюкозы не выявлено. Подгруппы, сформированные в зависимости от рСКФ, ожидаемо обнаруживают и другие различия по показателям, характеризующим функцию почек, тогда как различия по показателям функции печени не обнаруживаются. Например, уровни суммы ГНД, выявленные реакцией Сакагучи, значимо выше в подгруппе 2 пациентов со сниженной рСКФ от 90 до 45 мл/мин/1,73 м².

Как следует из данных табл. 2, уровень аргинина у пациентов на начальных стадиях нарушения функций почек при АГ существенно выше в подгруппах 1 и 2 по сравнению с группой доноров ($p=0,00079$; $p=0,00013$ соответственно). В отличие от аргинина, уровень цитрулина значимо выше только в подгруппе пациентов со сниженной рСКФ (90 – 45 мл/мин/1,73 м²). При рСКФ выше 90 мл/мин/1,73 м², содержание цитрулина в крови пациентов с АГ не отличается от его уровня в группе доноров. По сравнению с аргинином, цитрулином и лизином, аминокислота серин не выявляет каких-либо различий между подгруппами пациентов с АГ и каждой из них от группы доноров. Содержание гомоаргинина (гАрг), образующегося в канальцах почек, в ключевой реакции биосинтеза креатина, параллельно гуанидинуксусной кислоте, понижено в подгруппах 1 и 2 по сравнению с группой доноров. Производный показатель Цит/Арг, в отличие от показателя Цит/Лиз сохраняет отличие подгруппы 2 от подгруппы 1 ($p=0,042$) без отклонения от группы доноров.

Дальнейший корреляционный анализ проведен в отношении пациентов подгруппы 2 с пониженной рСКФ. При нарушении экскреторной функции почек наблюдается уменьшение экскреции креатинина и повышение его концентрации в крови, что используется для расчета рСКФ. На рис. 1 отражены распределения исследуемых показателей Цит, Арг, oГци, Мет, Лиз и Сер в зависимости от уровней креатинина в крови.

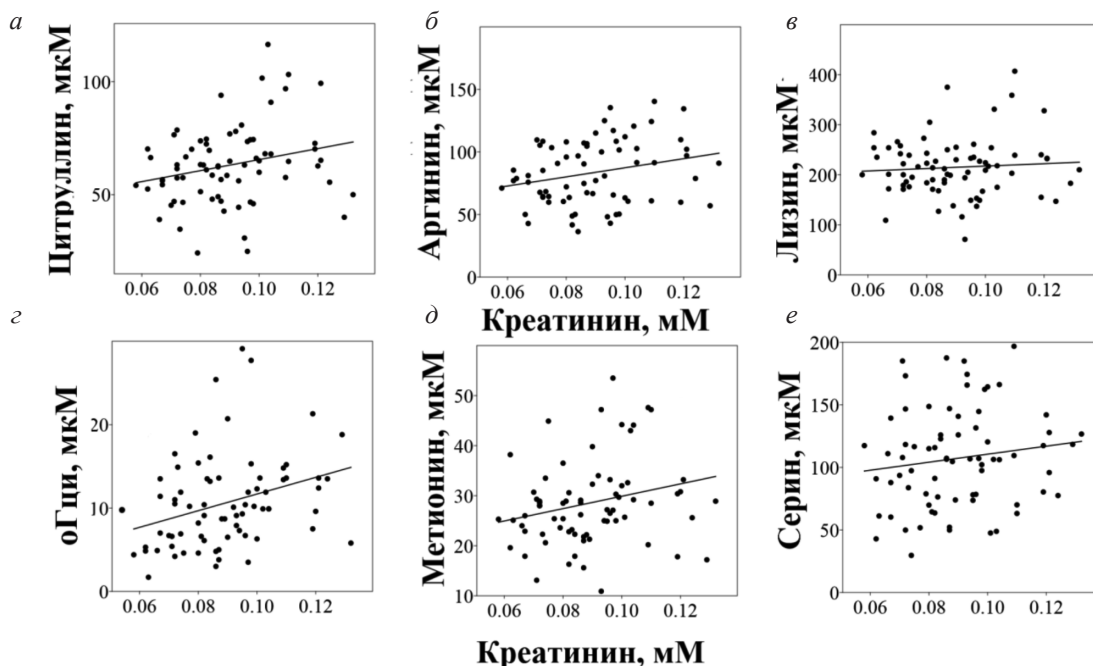


Рис. 1. Корреляции уровней креатинина крови и аминокислот.

a – цитруллин, $R_s = 0,26$; $p=0,028$; *б* – аргинин, $R_s = 0,23$; $p=0,060$; *в* – лизин, $R_s = 0,01$; $p=0,98$; *г* – оГци, $R_s = 0,38$; $p=0,0011$; *д* – метионин, $R_s = 0,29$; $p=0,014$; *е* – серин, $R_s = 0,15$; $p=0,21$.

Как видно из представленных данных, только уровень Сер и Лиз не коррелирует с повышением уровня креатинина. Уровни Цит, оГци и Мет обнаруживают прямые корреляции с содержанием креатинина в крови пациентов с АГ подгруппы 2. Таким образом, выраженность экскреторной дисфункции почек при АГ соответствует все более высоким уровням цитрулина. При изучении корреляционных связей аминокислот с уровнями ГНД, показана положительная их корреляция с уровнями аминокислот. В частности, они оказались аналогичны корреляциям их уровней с содержанием креатинина: с Цит – ($R_s = 0,31$, $p = 0,011$), с Арг – ($R_s = 0,217$, $p = 0,084$), с Мет ($R_s = 0,381$, $p = 0,0013$), за исключением оГци – ($R_s = 0,16$, $p = 0,19$).

ROC-анализ модели, включающей сравнительную группу и подгруппу пациентов 2 (рис. 2), определил величину порога отсечения в 53 мкМ Цит, что соответствует 90% чувствительности и 75,3% специфичности при хорошем качестве данной диагностической модели: $AUC = 0,876$ (0,809-0,942). Предсказательная значимость положительного теста (Цит > 53 мкМ) составляет 94,7%, а предсказательная значимость отрицательного теста (Цит ≤ 53 мкМ) равна 58,7%. Таким образом, наиболее ценным является возможность выявления ранних стадий метаболической дисфункции почек по повышенному уровню Цит. Диагностическая эффективность теста, вычисленная как процентное отношение истинных результатов к общему числу полученных результатов, составляет 78,6%. В подгруппе 1 с $pСКФ \geq 90$ мл/мин/1,73 м² из 32 пациентов 14 (44%) имеют уровни Цит выше порога отсечения, то есть недостаточный уровень извлекаемого из крови Цит. Тогда как в подгруппе 2 таких пациентов не менее 74%. Недостаточное извлечение Цит из крови

частично совпадало с понижением уровня гАрг. В частности, из указанных 14 пациентов первой подгруппы пониженный уровень гАрг (<1,88 мкМ, [2]) встретился у 8. Таким образом, у 8 пациентов (25% от численности подгруппы 1) наблюдали отклонение за пределы порогового уровня обоих показателей, что допустимо расценивать, как убедительное лабораторное подтверждение начальной фазы ренальной метаболической дисфункции при АГ. В подгруппе 2 отклонение обоих показателей встречалось значительно чаще: пониженный уровень гАрг встречается в 51 случае из 73, что указывает на более выраженную метаболическую дисфункцию почек у 70% пациентов 2-й подгруппы, сочетающих понижение уровня гАрг и повышение содержания Цит.

Обсуждение. В настоящем исследовании показано, что АГ с нарушением функции почек сопровождается повышением уровня цитрулина в крови. Как показано на рис. 1, уровни Цит, Арг, оГци, Мет и Лиз обнаруживают корреляции с содержанием креатинина в крови пациентов подгруппы 2. Это указывает на значительную роль почек в поддержании уровней указанных аминокислот. Уровень цитрулина у пациентов подгруппы 2 повышен по сравнению с группой здоровых доноров и подгруппой с показателем $pСКФ$ выше 90, и положительно коррелирует со снижением экскреторной функции уже на ранних стадиях развития АГ. Ранее показано, что это наблюдается при более тяжелых нарушениях экскреторных функций [16]. Метаболические функции почек, включая реакции цистатионинового пути утилизации гомоцистеина, образование гуанидинуксусной кислоты, Арг из Цит, не могут в полной мере замещаться за счет метаболизма в других тканях. Из-за этого при ХБП развивается

гипергомоцистеинемия, понижается уровень гАрг в крови и повышается уровень цитруллина. Проведенный нами ROC-анализ позволил определить пограничное значение- 53 мкМ для содержания цитруллина в крови, при котором более высокий уровень этой аминокислоты с большой вероятностью можно объяснить нарушением метаболической функции почек. Метаболическая дисфункция почек подтверждается, если при возрастании уровня Цит наблюдается увеличение соотношения оГци/Мет [17] и(или) понижение уровня гАрг [2, 7]. Определение указанных метаболитов позволяет установить ранние нарушения метабо-

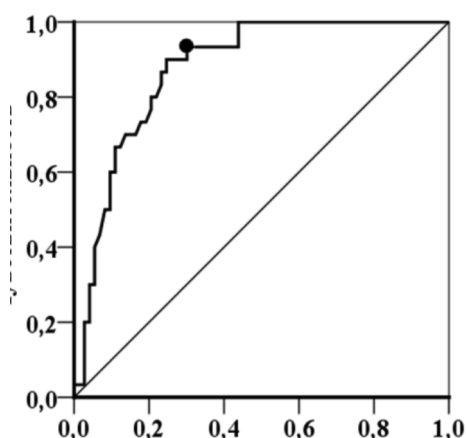


Рис. 2. ROC-кривая диагностической способности показателя цитруллина в модели «здоровый (группа сравнения) – пациент с АГ 90 > рСКФ > 45 мл/мин/1,73 м² (подгруппа 2)». Отмеченная на графике точка определяет значение «Cut off» цитруллина, соответствующее 53 мкМ.

лической функции почек при АГ, протекающей бессимптомно, в том числе, при запаздывании изменения рСКФ. В частности, показано, что изменение рСКФ обычно отстает от метаболических нарушений [18].

Циркулирующий в общем кровотоке цитруллин, в основном формируется за счет пищевых источников и других аминокислот, продуцируемых в кишечнике – глутамина, аргинина, пролина (рис. 3). Образованный в эндотелии после синтеза оксида азота Цит, в основном, не поступает в кровоток. Эндотелиальные клетки сосудов содержат ферменты аргининосукцинатного пути, необходимые для ресинтеза аргинина из цитруллина после синтеза NO [19]. Так как эпителий кишечника является основным источником цитруллина в кровотоке, то понижение его уровня рассматривают в качестве биомаркера уменьшения функциональной массы энтероцитов тонкой кишки [20]. Известно, что не менее 83% перорально принятого цитруллина, достигает почек и превращается в аргинин в проксимальных канальцах [21]. В связи с этим, повышенные концентрации цитруллина в крови чаще всего свидетельствует о снижении доли активных проксимальных канальцев (рис. 3).

Экзогенный цитруллин усваивается кишечником в гораздо большей степени, чем его аналог аргинин, и приводит к более высокому уровню аргинина в плазме [22]. Всасывается цитруллин благодаря многочисленным натрий-зависимым транспортерам. [23]. В свою очередь, цитруллин в крови воротной вены, образованный кишечником из аргинина и других аминокислот, рассматривается в качестве способа избежать чрезмерного печеночного метаболизма Арг. Так что цитруллин можно рассматривать как промежуточный метаболит для последующего биосинтеза Арг в почках. Аргинин, образованный



Рис. 3. Образование цитруллина в тонком кишечнике и его роль в биосинтезе аргинина, гуанидинуксусной кислоты и креатина у взрослых.



Рис. 4. Пограничные уровни содержания цитруллина в плазме крови для диагностики метаболических дисфункций почек и кишечника.

в тканях почки, стабилизирует оптимальную концентрацию Арг в крови и участвует в образовании гуанидинуксусной кислоты (см. рис. 3) на пути биосинтеза креатина.

Таким образом, к метаболической функции почек относятся: образование неэндокринных предшественников внутриклеточных субстратов, таких, как гуанидинуксусная кислота, необходимая для биосинтеза креатина; участие в обеспечении водно-солевого гомеостаза, и фосфорно-кальциевого равновесия; участие в поддержании уровня метионина (Мет) в плазме за счет реакций реметилирования Гци; обеспечение метаболического пути утилизации Гци по пути транссульфирования через его превращение в цистеин с последующим полным окислением. [17, 24]. Полученные нами результаты и данные других исследователей указывают на то, что АГ инициирует глубокие изменения гомеостаза метаболитов крови, в том числе, за счет нарушения метаболической функции почек при АГ [25, 26]. Следует подчеркнуть, что за счет нарушения биосинтеза и мембранного транспорта Арг при АГ возникают предпосылки для понижения гибкости в регуляции образования оксида азота в качестве фактора эндотелийзависимой вазодилатации.

В практических целях в настоящее время используют определение цитруллина для диагностики заболеваний кишечника (рис. 4). Поскольку цитруллин синтезируется, в основном, энтероцитами, считалось, что его концентрация в плазме является неинвазивным маркером аномалий ворсинок и длины тонкой кишки при синдроме короткой кишки. В отличие от других аминокислот, цитруллин плохо усваивается гепатоцитами и, как отмечено ранее, большая часть цитруллина минует печень и попадает в системный кровоток. Наиболее распространенными причинами низкого уровня цитруллина в плазме являются: 1) энтеропатические заболевания; 2) синдром короткой кишки; 3) некротический энтероколит; 4) мукозит, вызванный химиотерапевтическими препаратами,

и неонатальный некротический энтероколит [27].

С другой стороны, установленный нами порог отсечения концентрации цитруллина в плазме (≥ 53 мкМ) (см. рис. 4), помимо энзимопатий аргининосукцинатсинтазы, аргининосукцинатлиазы, может объясняться торможением активности этих ферментов в условиях прогрессирования артериальной гипертензии.

Выводы. Проведенное исследование показало, что уже на начальных стадиях АГ с нарушением метаболической функции почек отмечается повышение уровня цитруллина (≥ 53 мкМ). При прогрессировании АГ повышение уровня цитруллина, понижение уровня гомоаргинина и нарушение метаболизма серосодержащих аминокислот с повышением уровня оГци в крови указывают на раннее нарушение метаболической функции почек.

ЛИТЕРАТУРА (пп. 4-12,15-16, 18-24, 26-27 см. REFERENCES)

- Шляхто Е.В., Цырлин В.А., Кузьменко Н.В., Плисс М.Г. Нейрофизиологическое обоснование гипотезы Г.Ф. Ланга о возникновении гипертонической болезни. *Артериальная гипертензия*. 2021; 27(5): 499-508. DOI: 10.18705/1607-419X-2021-27-5-499-508.
- Жлоба А.А., Субботина Т.Ф. Тест на гомоаргинин для оценки метаболической дисфункции почки. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2021; 66(12): 709-17. DOI: 10.51620/0869-2084-2021-66-12-709-717.
- Ковалькова Н.А., Худякова А.Д., Каштанова Е.В., Полонская Я.В., Щербакова Л.В., Рагино Ю.И. Выявление потенциальных биомаркеров дисфункции почек при артериальной гипертензии у лиц 25–45 лет. *Терапевтический архив*. 2020; 92(12): 19-24. DOI: 10.26442/00403660.2020.12.200436.
- Жлоба А.А. Лабораторная диагностика при гипергомоцистеинемии. *Клинико-лабораторный консилдум*. 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.
- Жлоба А.А., Субботина Т.Ф. Метионин и общий гомоцистеин крови у пациентов с артериальной гипертензией в условиях экскреторной дисфункции почек. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2022; 67(11): 625-32. DOI: 10.51620/0869-2084-2022-67-11-625-63.

25. Михайлова Л.В., Шупина М.И., Сафонова В.С., Бутова В.В., Шеремет В.В. Функциональное состояние почек и альбуминурия у лиц с факторами риска сердечно-сосудистых заболеваний. *Клиническая нефрология*. 2022; 1: 27-32. DOI: 10.18565/nephrology.2022.1.27-32.

REFERENCES

1. Shlyakhto E.V., Tsyrlin V.A., Kuzmenko N.V., Pliss M.G. Neurophysiological justification of the G. F. Lang hypothesis about the occurrence of essential hypertension. *Arterial'naya Gipertenziya*. 2021; 27(5): 499-508. DOI: 10.18705/1607-419X-2021-27-5-499-508. (in Russian)
2. Zhloba A.A., Subbotina T.F. Homoarginine test for evaluation of metabolic renal dysfunction. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2021; 66 (12): 709-17. DOI: 10.51620/0869-2084-2021-66-12-709-717. (in Russian)
3. Koval'kova N.A., Khudyakova A.D., Kashtanova E.V., Polonskaya Y.V., Shcherbakova L.V., Ragino Y.I. Detection of kidney dysfunction potential biomarkers with hypertension in the persons of 25–45 years. *Terapevticheskii arkhiv*. 2020; 92(12): 19-24. DOI: 10.26442/00403660.2020.12.200436. (in Russian)
4. Moinard C., Cynober L. Citrulline: a new player in the control of nitrogen homeostasis. *The Journal of Nutrition*. 2007; 137(6): 1621S–1625S. DOI: 10.1093/jn/137.6.1621S.
5. Chen G.F., Baylis C. *In vivo* renal arginine release is impaired throughout development of chronic kidney disease. *Am. J. Physiol. Renal Physiol*. 2010; 298(1): F95-102. DOI: 10.1152/ajprenal.00487.2009.
6. Pillai S., Seebeck P., Fingerhut R., Huang J.I., Ming X.-F., Yang Z. et al. Kidney mass reduction leads to L-arginine metabolism-dependent blood pressure increase in mice. *J. Am. Heart Assoc*. 2018; 7:e008025. DOI: 10.1161/JAHA.117.008025.
7. Tsikas D. Homoarginine in health and disease. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care*. 2023; 26(1): 42-9. DOI: 10.1097/MCO.0000000000000889.
8. Bahri S., Zerrouk N., Aussel C., Moinard C., Crenn P., Curis E. et al. Citrulline: from metabolism to therapeutic use. *Nutrition*. 2013; 29(3): 479-84. DOI: 10.1016/j.nut.2012.07.002.
9. Lau T., Owen W., Yu Y.M., Noviski N., Lyons J., Zurakowski D. et al. Arginine, citrulline, and nitric oxide metabolism in end-stage renal disease patients. *J. Clin. Invest*. 2000; 105(9): 1217-25. DOI: 10.1172/JCI17199.
10. Maric S., Restin T., Muff J.L., Camargo S.M., Guglielmetti L.C., Holland-Cunz S.G. et al. Citrulline, biomarker of enterocyte functional mass and dietary supplement. metabolism, transport, and current evidence for clinical use. *Nutrients*. 2021; 13(8): 2794. DOI: 10.3390/nu13082794.
11. Osowska S., Moinard C., Neveux N., Loï C., Cynober L. Citrulline increases arginine pools and restores nitrogen balance after massive intestinal resection. *Gut*. 2004; 53(12): 1781-6. DOI: 10.1136/gut.2004.042317.
12. Couchet M., Pestour S., Breuillard C., Corne C., Rendu J., Fontaine E. et al. Regulation of citrulline synthesis in human enterocytes: Role of hypoxia and inflammation. *Biofactors*. 2022; 48(1): 181-9. DOI: 10.1002/biof.1810.
13. Zhloba A.A. Laboratory diagnosis of hyperhomocysteinemia. *Kliniko-laboratornyi konsilium*. 2009; 26(1): 49-60. (in Russian)
14. 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)
15. Sakaguchi S. A new method for the colorimetric determination of arginine. *J. Biochem*. 1950; 37(2): 231–6.
16. Reddy Y.S., Kiranmayi V.S., Bitla A.R., Krishna G.S., Rao P.V., Sivakumar V. Nitric oxide status in patients with chronic kidney disease. *Indian J. Nephrol*. 2015; 25(5): 287-91. DOI: 10.4103/0971-4065.147376.
17. Zhloba A.A., Subbotina T.F. Methionine and total homocysteine in hypertensive patients with renal excretory dysfunction. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2022; 67 (11): 625-32. DOI: 10.51620/0869-2084-2022-67-11-625-632. (in Russian)
18. Su X., Ren R., Yang L., Su C., Wang Y., Lu J. et al. Serum biomarkers for chronic renal failure screening and mechanistic understanding: a global LC-MS-based metabolomics research. *Evid. Based Complement Alternat. Med*. 2022; 7450977. DOI: 10.1155/2022/7450977.
19. Lee T.J., Yu J.G. L-Citrulline recycle for synthesis of NO in cerebral perivascular nerves and endothelial cells. *Ann. N. Y. Acad. Sci*. 2002; 962: 73-80. DOI: 10.1111/j.1749-6632.2002.tb04057.x.
20. Aguayo E., Martínez-Sánchez A., Fernández-Lobato B., Alacid F. L-Citrulline: a non-essential amino acid with important roles in human health. *Appl. Sci*. 2021; 11(7): 3293. DOI: 10.3390/app11073293.
21. Rougé C., Des Robert C., Robins A., Le Bacquer O., Volteau C., De La Cochetière M.F. et al. Manipulation of citrulline availability in humans. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol*. 2007; 293(5): G1061-7. DOI: 10.1152/ajpgi.00289.2007.
22. Curis E., Crenn P., Cynober L. Citrulline and the gut. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care*. 2007; 10(5): 620-6. DOI: 10.1097/MCO.0b013e32829fb38d.
23. Bahri S., Curis E., El Wafi F.Z., Aussel C., Chaumeil J.C., Cynober L. et al. Mechanisms and kinetics of citrulline uptake in a model of human intestinal epithelial cells. *Clin. Nutr*. 2008; 27(6): 872-80. DOI: 10.1016/j.clnu.2008.08.003.
24. Dhar I., Svingen G.F.T., Ueland P.M., Lysne V., Svenningsson M.M., Tell G.S. et al. Plasma cystathionine and risk of incident stroke in patients with suspected stable angina pectoris. *J. Am. Heart Assoc*. 2018; 7(17): e008824. DOI: 10.1161/JAHA.118.008824.
25. Mikhailova L.V., Shupina M.I., Safonova V.S., Butova V.V., Sheremet V.V. The functional state of the kidneys and albuminuria in individuals with cardiovascular risk factors. *Klinicheskaya nefrologiya*. 2022; 1: 27-32. DOI: 10.18565/nephrology.2022.1.27-32. (in Russian)
26. Mahbub M.H., Yamaguchi N., Takahashi H., Hase R., Yamamoto H., Kikuchi S. et al. Relationship of reduced glomerular filtration rate with alterations in plasma free amino acids and uric acid evaluated in healthy control and hypertensive subjects. *Sci. Rep*. 2019; 9: 10252. DOI: 10.1038/s41598-019-46598-7.
27. Singh A., Pooja, Makharia G.K. Citrulline as a marker of villous abnormality and implications for diet and nutrition. In book: Patel V.B., Preedy V.R., eds. *Biomarkers in Nutrition. Biomarkers in Disease: Methods, Discoveries and Applications*. Springer Nature, Switzerland AG; 2022: 1-23. DOI: 10.1007/978-3-030-81304-8_53-1.