

Метаболические сдвиги у пациентов с ишемической болезнью сердца перед коронарной реваскуляризацией

DOI: 10.34687/2219-8202.JAD.2021.04.0005

© Т.Ф. Субботина, Н.С. Молчан, А.А. Жлоба, Ю.С. Полушин

ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Санкт-Петербург

Для цитирования: Субботина Татьяна Федоровна: <http://orcid.org/0000-0002-2278-8391>, Молчан Николай Сергеевич: <https://orcid.org/0000-0002-8472-2048>, Жлоба Александр Анатольевич: <http://orcid.org/0000-0003-0605-7617>, Полушин Юрий Сергеевич: <https://orcid.org/0000-0002-6313-5856>. Метаболические сдвиги у пациентов с ишемической болезнью сердца перед коронарной реваскуляризацией. Атеросклероз и дислипидемии. 2021;4(45):41–50. DOI: 10.34687/2219-8202.JAD.2021.04.0005

Абстракт

Гомоаргинин (гАрг) наряду с другими производными аргинина влияет на продукцию оксида азота. Показано, что гАрг участвует в регуляции артериального давления, ингибировании агрегации тромбоцитов, секреции инсулина. Недостаток данных о связях уровней гАрг с уровнями других метаболитов затрудняет диагностическую интерпретацию количественных данных о содержании гАрг в крови при сердечно-сосудистых заболеваниях. Цель состояла в изучении связи уровней гАрг с уровнями участников метилирования – метионина (Мет) и гомоцистеина (Гци) – в сопоставлении с другими метаболическими отклонениями у пациентов с ишемической болезнью сердца при необходимости плановой реваскуляризации.

Материалы и методы. В исследование были включены 74 пациента с ишемической болезнью сердца (57 мужчин и 17 женщин) в возрасте 62 (57–67) лет перед плановой операцией аортокоронарного шунтирования и 27 близких по возрасту здоровых лиц. Уровни гАрг, аминокислот и оГци определяли методами ВЭЖХ-анализа со спектрофотометрическим и флуориметрическим детектированием.

Результаты. У пациентов уровень гАрг был почти в 2 раза ниже ($p < 0,05$), чем у здоровых лиц, и у 50% – ниже 1,4 мкМ. Понижению уровня гАрг соответствовало статистически значимое снижение ($p = 0,0025$) соотношения Мет/оГци. Это соотношение не коррелировало с уровнем глюкозы или индексом массы тела. По отдельности уровни Мет и оГци коррелировали с уровнем гАрг с меньшей статистической значимостью. В подгруппе с уровнем гАрг выше 2,1 мкМ отмечена меньшая частота инфарктов миокарда.

Заключение. У пациентов с ишемической болезнью сердца пониженный уровень гАрг связан с нарушением обмена серосодержащих аминокислот, участвующих в процессах трансметилирования. Соотношение Мет/оГци, тесно коррелируя с уровнем гАрг, по-видимому, обнаруживает связь реакций образования креатина и трансметилирования, выделяя когорту пациентов с наиболее глубокими и опасными изменениями тканевого метаболизма.

Ключевые слова: гомоаргинин, метионин, гомоцистеин, аминокислоты, ишемическая болезнь сердца.

Metabolic shifts in patients with coronary heart disease before myocardial revascularization

T.F. Subbotina, N.S. Molchan, A.A. Zhloba, Yu.S. Polushin

Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, Biochemistry Department of Scientific and Educational Institute of Biomedicine, Saint Petersburg, Russia

Abstract

Homoarginine (hArg), along with other arginine derivatives, affects the production of nitric oxide. It has been shown that hArg is involved in the regulation of blood pressure, inhibition of platelet aggregation, and insulin secretion. The lack of data on the relationship between the levels of hArg and the levels of other metabolites complicates the diagnostic interpretation of quantitative data on the content of hArg in the blood in cardiovascular diseases. The aim was to study the relationship between the levels of hArg and the levels of methylation participants – methionine (Met) and homocysteine (tHcy), in comparison with other metabolic abnormalities in coronary heart disease patients with the need for elective revascularization surgery.

Material and methods. The study included 74 patients with ischemic heart disease (57 men and 17 women) aged 62 (57–67) years before elective coronary artery bypass grafting and 27 healthy persons of similar age. The levels of gArg, amino acids, and oHcy were determined by HPLC analysis with spectrophotometric and fluorometric detection.

Results. In patients, the level of hArg was almost 2 times lower ($p < 0.05$) than in healthy individuals and in 50% it was lower than $1.4 \mu\text{M}$. The decrease in the level of hArg corresponded to a statistically significant decrease ($p = 0.0025$) in the Met / oHcy ratio. This ratio did not correlate with glucose levels or body mass index. Separately, the levels of Met and oHcy correlated with the level of hArg with less statistical significance. A lower incidence of myocardial infarction was noted in the subgroup with an hArg level above $2.1 \mu\text{M}$. Thus, in patients with ischemic heart disease, a reduced level of hArg is associated with impaired metabolism of sulfur-containing amino acids involved in transmethylation processes. The Met / oHcy ratio, closely correlating with the level of hArg, apparently reveals a relationship between the reactions of creatine formation and transmethylation, highlighting the cohort of patients with the most profound and dangerous changes in tissue metabolism.

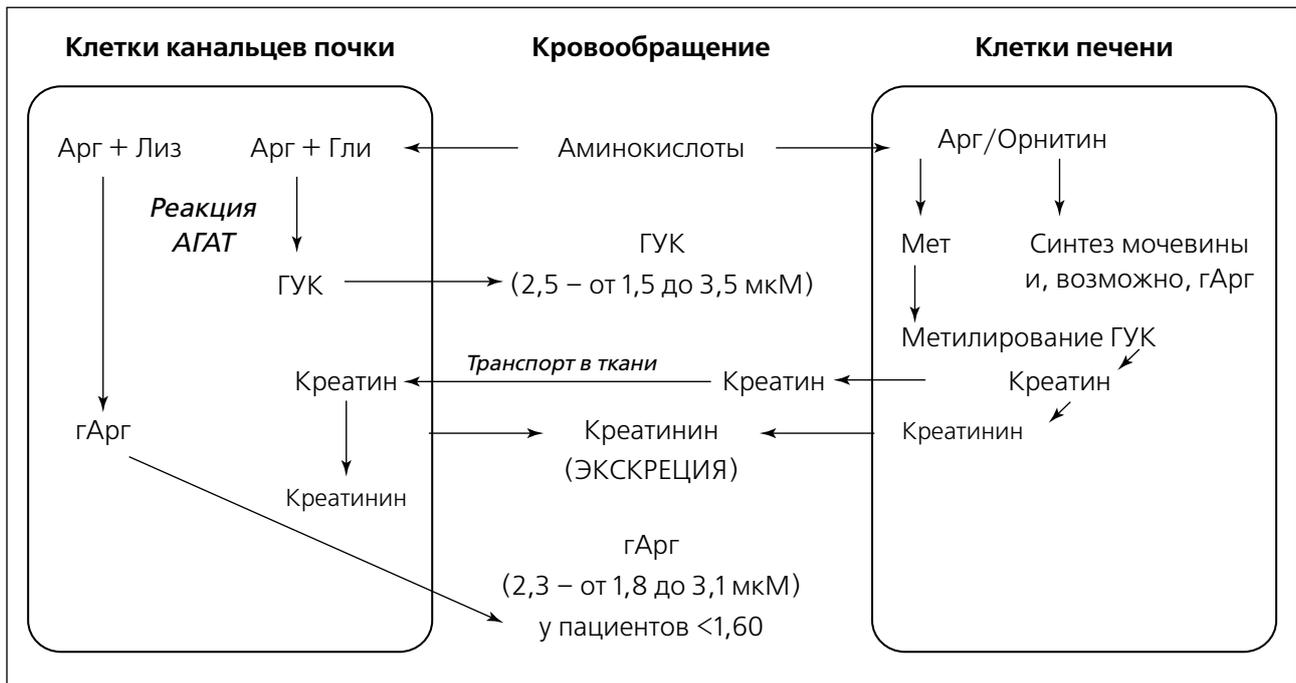
Keywords: homoarginine, methionine, total homocysteine, amino acids, ischemic heart disease.

Введение

Данные лабораторного обследования в значительной мере объективизируют оценку сердечно-сосудистых рисков, поскольку позволяют охарактеризовать степень нарушения метаболизма. Ведущую роль играют метаболические показатели липидного и углеводного обмена: дислипидемия (общий холестерин (ОХС) $> 4,9$ ммоль/л, ХС ЛПНП $> 3,0$ ммоль/л, ХС ЛПВП $< 1,0$ ммоль/л, триглицериды $> 1,7$ ммоль/л), нарушение гликемии натощак ($5,6$ – $6,9$ ммоль/л) и нарушение толерантности к глюкозе, что закреплено в действующих клинических рекомендациях. Терапевтические воздействия, направленные на нормализацию этих показателей, а также на контроль АД, способствуют увеличению продолжительности жизни за счет уменьшения выраженности корректируемых факторов риска, однако не устраняют их полностью. В настоящее время известны устойчивые метаболомные прогностические маркеры угрозы ишемического инсульта и инфаркта миокарда, к числу которых относится уровень гомоаргинина (гАрг) [1, 2]. гАрг можно рассматривать как интегральный показатель нарушения энергетического метаболизма и одновременно как регулятор доступности аргинина в качестве субстрата NO-синтазы в эндотелиоцитах. Понижение уровня гАрг в плазме

менее $1,4 \mu\text{M}$ приводит к появлению статистически значимого риска острых ишемических событий с неблагоприятными исходами с встречаемостью в 25%, а дальнейшее снижение гАрг ниже $0,84 \mu\text{M}$ удваивает этот риск [1, 3, 4]. Ранее нами показано существенное снижение данного метаболита у пациентов с ишемической болезнью сердца (ИБС) [5]. К настоящему времени показано, что среди пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями снижение гАрг обнаруживается не у всех. Так, среди пациентов с признаками стенокардии или с нарушениями сердечного ритма отмечена слабая связь данных состояний с пониженными уровнями гАрг [6]. В статье, опубликованной нами ранее, приведены данные о том, что отсутствие этой связи может быть обусловлено высокими уровнями аргинина и лизина – аминокислот, высвобождающихся в больших количествах при активации фибринолиза [5, 7]. Можно ожидать, что гАрг, как и другие известные метаболические маркеры, приобретает большую диагностическую значимость, если рассматривается в группе с другими метаболитами. Недостаток данных о связях уровней гАрг с уровнями других метаболитов затрудняет понимание его роли в патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний. Метаболическое происхождение гАрг известно (рис. 1), но не изучены метаболические изменения, которые

Рисунок 1. Метаболический источник гАрг – это ключевая АГАТ-реакция биосинтеза креатина, локализованная преимущественно в клетках проксимальных извитых канальцев почки



Примечания: дополнительные сокращения: ГУК – гуанидинуксусная кислота, Арг – аргинин, Лиз – лизин, Гли – глицин.

тесно связаны со снижением его уровня. Сам гАрг является менее подходящим, чем аргинин, субстратом эндотелиальной NO-синтазы. В настоящее время общепринятая точка зрения заключается в том, что гАрг в эндотелиальных клетках, сильно ингибируя аргиназы, повышает содержание внутриклеточного аргинина и тем самым активность эндотелиальной NO-синтазы, т.е. способствует вазодилатации [4]. Известно, что атеросклеротическое поражение артерий, в том числе коронарных, сопряжено с многолетним отклонением в потреблении, метаболизме и эндогенном транспорте липидов, что может быть описано как «нарушение эндозеологии» с системными устойчивыми нарушениями других звеньев метаболизма [8, 9].

В этом аспекте связи уровня гАрг с регуляцией и ремоделированием клеточного метаболизма изучены недостаточно. Реакция, за счет которой образуется гАрг, катализируется аргинин: глицинамидинотрансферазой (АГАТ) и одновременно является ключевой реакцией биосинтеза креатина. Поэтому падение уровня гАрг в кровотоке может отражать интенсивность метаболических процессов в тканях, богатых креатинфосфатом. Из важных устойчивых сдвигов на уровне организма отмечают существенные изменения соотношения мышечной массы и жировой ткани с превалированием последней. Из интенсивно используемых в азотистом обмене исходных субстратов для обновления тканей в настоящее время достаточно изучены колебания уровней аминокислот в крови. Особенно значительные сдвиги при сердечно-сосудистых заболеваниях наблюдаются со стороны метионина

(Мет), группы разветвленных аминокислот валина (Вал), изолейцина (Иле), лейцина (Лей), а также глутамина (Глн) и глутамата (Глу) [10]. Мет, как незаменимая аминокислота, необходима в качестве нутриента во всех возрастных группах независимо от состояния организма. Недостаток Мет и пониженная концентрация его в крови ведут к гипометилированию, нарушению инициации и регуляции синтеза белков, а также низкомолекулярных метаболитов, участвующих в углеводном и липидном обменах [11, 12]. Содержание Мет в плазме или сыворотке крови по данным ведущих руководств по клинической лабораторной диагностике может колебаться в очень широких пределах: от 6 до 40 мкМ [13]. При рассмотрении же однородных групп пациентов или динамики Мет у отдельных пациентов уровень этого показателя в плазме крови, взятой натощак, группируется в узком диапазоне концентраций [14-16]. Несмотря на значительные межлабораторные и географические различия в референтных уровнях Мет и других аминокислот, направления их сдвигов в патологических условиях оказываются сопоставимо близкими. Обычно уровень аминокислот, за исключением уровня серина (Сер), во всех возрастных группах на 5–15% выше у мужчин. В частности, у мужчин уровень Мет и общего гомоцистеина (оГци) несколько выше, чем у женщин репродуктивного возраста. У последних реметилирование гомоцистеина (Гци) с образованием Мет протекает более эффективно [17]. В возрастном и географическом аспектах также можно отметить некоторые особенности в содержании аминокислот, включая Мет [18, 19]. Уровень

Мет в крови возрастает после поступления белков, богатых этой аминокислотой, включая казеин молочных продуктов и яичный альбумин. Однако в промежутках между приемами пищи уровень Мет быстро возвращается к исходному благодаря процессам трансметилирования и последующей утилизации образующегося Гци в цистатиониновом пути [20]. Исследования с привлечением взрослых лиц показали отсутствие неблагоприятных последствий умеренных колебаний в потреблении Мет с пищей, но потребление, более чем в 5 раз превышающее норму, приводило к повышению уровня оГци. Таким образом, уровень Мет связан с генетическими факторами, образом жизни, пищевыми предпочтениями и поэтому определяется не только наличием тех или иных патологических состояний, полом и возрастом. Как справедливо отмечают в различных исследованиях, при определении отклонений от референтного уровня Мет у пациентов в конкретном регионе необходимо опираться на значения показателя в группе здоровых лиц с более или менее близкими параметрами образа жизни.

Уровни Мет и оГци не часто одновременно используют для характеристики пациентов. Несмотря на очевидную взаимосвязь этих серосодержащих аминокислот, их совместное определение и анализ связей с другими метаболическими изменениями, наблюдаемыми при сердечно-сосудистых заболеваниях, не проведены. Нам представляется важным изучение сдвигов в содержании этих аминокислот и гАрг у пациентов с ИБС, у которых одновременно наблюдается снижение эффективности поступления энергетических ресурсов и нарушается обмен серосодержащих аминокислот.

Это, возможно, позволит установить или отклонить не только патогенетическую роль, но также возможное значение серосодержащих аминокислот для диагностической оценки ишемических состояний.

Цель данного исследования заключалась в изучении сдвигов метаболизма аминокислот, метаболических источников интермедиатов цикла Кребса и пути биосинтеза креатина, включая уровни метионина и общего гомоцистеина у пациентов с ишемической болезнью сердца и в соответствующей группе здоровых лиц, а также оценки статистической связи этих сдвигов и уровней гАрг в качестве прогностического показателя сохраняющейся угрозы обострения ишемических состояний.

Материалы и методы

В исследование включены 74 пациента с ИБС (57 мужчин и 17 женщин) в возрасте 62 (57–67) лет, находившихся на стационарном лечении в клиниках ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова с августа 2014 по октябрь 2016 г. в связи с плановой операцией аортокоронарного шунтирования в условиях искусственного кровообращения. Все пациенты имели

многососудистое (у большинства трехсосудистое) поражение коронарного русла с необходимостью реваскуляризации, хроническую сердечную недостаточность 3 функционального класса, (фракция выброса левого желудочка снижена, но не менее 50% от должного) и артериальную гипертензию, требующую медикаментозной коррекции.

Исследование было одобрено этическим комитетом ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова. Обязательным условием включения пациента в исследование являлось его информированное согласие. Критериями невключения являлись: отсутствие согласия пациента, поражение клапанного аппарата, перенесенный острый инфаркт миокарда (ОИМ) в предшествующие 6 недель, сахарный диабет, сердечная недостаточность с фракцией выброса левого желудочка менее 50%, хроническая болезнь почек >3Б ст.

В среднем фракция выброса левого желудочка у пациентов составила $61,5 \pm 6,0\%$ должного. 39 пациентов (53%) имели ОИМ в анамнезе. Только 12 пациентов (16%) имели нормальную массу тела (ИМТ <25 кг/м²). У 39 пациентов (53%) отмечалась избыточная масса тела, а у 23 (31%) – ожирение (ИМТ >30 кг/м²). Различия у пациентов с нормальной массой тела и ожирением отмечены только по уровням фибриногена: у лиц с ожирением он был достоверно выше, хотя и находился в границах референтного диапазона. Группа пациентов в целом характеризуется тем, что основные биохимические показатели, как правило, не показывают значительных отклонений: глюкоза – 5,3 (4,9–5,6) мМ, общий холестерин – 4,2 (3,6–5,2) мМ, креатинин – 84 (75–97) мкМ, мочевины – 5,4 (4,7–6,2) мМ. Общий белок плазмы составлял 73 (70–75) г/л. Лишь уровень общего гомоцистеина (оГци) у большинства пациентов был ближе к верхней границе референтного диапазона: 8,1 (6,4–10,5) мкМ, а у 15 пациентов (20%) превышал 12 мкМ. Фоновая терапия пациентов была представлена β-блокаторами (100% пациентов), ингибиторами ангиотензинпревращающего фермента (82%), антитромботическими препаратами различного механизма действия (85%), нитратами (53%), диуретиками (25%).

Венозную кровь для исследования получали из кубитальной вены после 12-часового голодания непосредственно перед операцией аортокоронарного шунтирования. Образцы крови, взятые в вакутейнеры с ЭДТА, немедленно помещали в холодильник (+4 °С), а затем отделяли плазму путем центрифугирования (1500 об/мин, 10 мин) не позднее 30 минут после взятия. Аликвоты полученной плазмы хранили при минус 80 °С вплоть до анализа.

Группу сравнения составили 27 здоровых лиц, сопоставимых по возрасту с исследуемой группой пациентов – регулярные доноры старшей возрастной группы 55 (42–58) лет. Забор образцов крови проводили из кубитальной вены после 10-часового

голодания. Процессирование и хранение образцов осуществляли аналогично группе пациентов.

Спектр аминокислот плазмы крови (включая гАрг, но за исключением аминотиолов) определяли методом обращенно-фазного ВЭЖХ-анализа на хроматографе Agilent 1100 (Agilent Technologies, США) так же как и ранее [5], с использованием ортофталевого альдегида для предколоночной дериватизации и колонки Zorbax Eclipse AAA C18 (150x4,6) мм, 3,5 мкм. Концентрации аминокислот рассчитывали, используя норвалин в качестве внутреннего стандарта. В описанных условиях времена удерживания аминокислот составляют (мин): Цит – 11,56; гАрг – 14,14; Вал – 18,89; Мет – 19,35; Норвалин – 20,00; Иле – 22,08; Лей – 23,30. В отношении гАрг, предел обнаружения (limit of detection, LOD) составляет 0,10 пмоль, а предел количественного определения (limit of quantification, LOQ) равен 0,20 мкм для модельных растворов и 0,33 мкм для плазмы.

Концентрации оГци и общего глутатиона (оГлт) определяли также с помощью ВЭЖХ (Agilent 1100), но со спектрофотометрическим детектированием [21].

Данные анализировали с применением программы Statistica 10.0 (Dell, Inc., USA). Степень соответствия распределения данных нормальному закону оценивали с помощью критериев Шапиро-Уилка и Колмогорова–Смирнова. Для сравнения групп применяли U-критерий Манна–Уитни. Анализ распределения частот проводили с помощью критерия согласия Пирсона и точного критерия Фишера. Статистическую связь между данными анализировали путем вычисления коэффициента ранговой корреляции Спирмена. Статистически значимыми считали различия данных и корреляции при $p < 0,05$.

Результаты

В изученных нами образцах плазмы крови, взятых у пациентов с ИБС и хронической сердечной недостаточностью 3 функционального класса перед оперативным вмешательством по реваскуляризации миокарда, сохранялся пониженный уровень гАрг и соотношения Мет/оГци. Уровень гАрг у пациентов, составляя 1,4 (1,0–2,0) мкм, был почти в 2 раза ниже, чем у здоровых доноров ($p = 1 \times 10^6$), у которых его содержание было 2,1 (1,8–3,1) мкм. У половины пациентов уровень гАрг был ниже 1,4 мкм – референтной границы понижения его содержания для обозначения высокого риска угрозы инсульта или инфаркта. У доноров-женщин уровень гАрг имел значительно больший межквартильный размах – от 1,8 до 3,1 мкм, чем у мужчин (от 1,9–2,5 мкм) при одинаковом значении медианы – 2,1 мкм. При этом уровень гАрг у доноров-женщин в нескольких случаях был ниже 1,4 мкм. У пациентов-женщин наблюдалась тенденция к более низкому уровню Глу+Глн ($p = 0,08$) и оГци ($p = 0,07$), чем у мужчин. Со стороны

других биохимических показателей к моменту операции можно отметить редкую встречаемость отклонений. Содержание цитруллина у пациентов и доноров достоверно не различалось, колеблясь примерно от 20 до 34 мкм, не выходя за пределы референтного интервала (табл. 1). Как показало настоящее исследование, разницы в содержании гАрг не наблюдалось между пациентами с ИМТ выше и ниже 25 кг/м². У пациентов с ИМТ больше 25 кг/м² обнаруживался более высокий уровень глюкозы ($p = 0,04$). В зависимости от ИМТ уровни Мет, ни оГци или каких-либо других аминокислот и азотистых веществ не имели различий.

Наличие избыточного веса у пациентов не было связано с уровнями Мет, оГци и гАрг. Как показало дальнейшее изучение корреляций уровней аминокислот, с одной стороны, и гАрг – с другой, только уровни Мет ($R = 0,23$, $p = 0,076$) и оГци ($R = -0,30$, $p = 0,021$) являлись статистически значимыми (рис. 2 А, Б). Помимо аминокислот и другие клинико-биохимические показатели не имели значимых корреляционных связей с гАрг, включая ИМТ, уровни глюкозы или креатинина (рис. 2 Ж). Оценка связей этих показателей между собой показала, что ИМТ коррелирует положительно с уровнем глюкозы ($R = 0,36$, $p = 0,011$), но не креатинина. Наиболее сильная положительная корреляционная связь была обнаружена между гАрг и соотношением Мет/оГци ($R = 0,39$, $p = 0,0025$, рис. 2 В), а также Глн+Глу ($R = 0,31$, $p = 0,0064$, рис. 2 И). Соотношение Мет/оГци, имея достоверную корреляционную положительную связь с уровнем гАрг, не коррелирует с уровнем глюкозы или ИМТ. Корреляционная связь положительная для Мет (рис. 2 А, Б) и отрицательная для оГци (рис. 2 Б) с уровнями гАрг была значительно слабее. Дальнейшее исследование связи этого соотношения и других изучаемых показателей отражено в таблице 2, которая группирует значения всех показателей в соответствии с поквартильными распределениями уровней гАрг. При сравнении значений изученных показателей в подгруппах, соответствующих поквартильным значениям уровней гАрг, можно видеть тренд соответствия низких значений соотношения Мет/оГци низким значениям гАрг.

Можно отметить более низкую частоту встречаемости в прошлом инфарктов миокарда в подгруппе с уровнем гАрг выше 2,1 мкм. Существенных межквартильных различий остальных показателей не выявлено, включая показатель ИМТ. Соотношение Мет/оГци, отчасти за счет разницы в содержании оГци, между крайними квартилями достоверно различалось ($p = 0,033$). У пациентов с самыми высокими уровнями гАрг (Q4) оно было почти в 2 раза выше.

Обсуждение результатов

У пациентов с многососудистым поражением коронарного русла имелась артериальная гипертензия

Таблица 1. Уровни аминокислот (мкМ) у пациентов с ИБС

АК, мкМ	Все пациенты (n = 74)	Подгруппы пациентов				Референтные интервалы [13]
		Мужчины (n = 57)	Женщины (n = 17)	ИМТ ≤25 кг/м ² (n = 12)	ИМТ >25кг/м ² (n = 62)	
гАрг	1,4 (1,0–2,0)	1,5 (1,1–2,0)	1,3 (0,8–2,0)	1,4 (1,2–2,1)	1,5 (1,1–1,9)	>1,4
Цитруллин	25 (21–30)	25 (21–30)	26 (21–28)	26 (20–34)	25 (21–29)	12–55
Мет	23 (18–28)	24 (19–28)	20 (17–24)	21 (18–26)	23 (17–28)	6–40
оГци	8,1 (6,4–10,5)	8,5 (6,8–11,9)	7,7 (5,5–8,8)	8,2 (5,4–10,5)	8,1 (6,5–10,4)	<12
оГлт	3,5 (2,6–4,7)	3,5 (2,8–4,5)	3,5 (2,2–4,7)	3,1 (2,5–4,2)	3,6 (2,7–4,7)	2–8
Асп и Асн	39 (32–49)	40 (35–50)	34 (28–39)	37 (34–46)	39 (32–50)	30–100
Глу и Глн	500 (43–583)	502 (36–588)	471 (359–538)	456 (423–567)	502 (433–579)	400–1000
Вал	219 (180–254)	220 (182–253)	205 (176–247)	223 (192–232)	212 (178–265)	141–317
Иле	55 (47–58)	55 (48–68)	52 (40–69)	51 (48–62)	55 (46–69)	37–98
Лей	122 (106–147)	125 (110–149)	119 (92–141)	118 (97–149)	123 (108–145)	75–175

Примечания: данные представлены в виде медианы и межквартильного интервала; достоверных различий между подгруппами не выявлено (тест Манна-Уитни); АК – аминокислоты; оГци – общий гомоцистеин; оГлт – общий глутатион; гАрг – гомоаргинин.

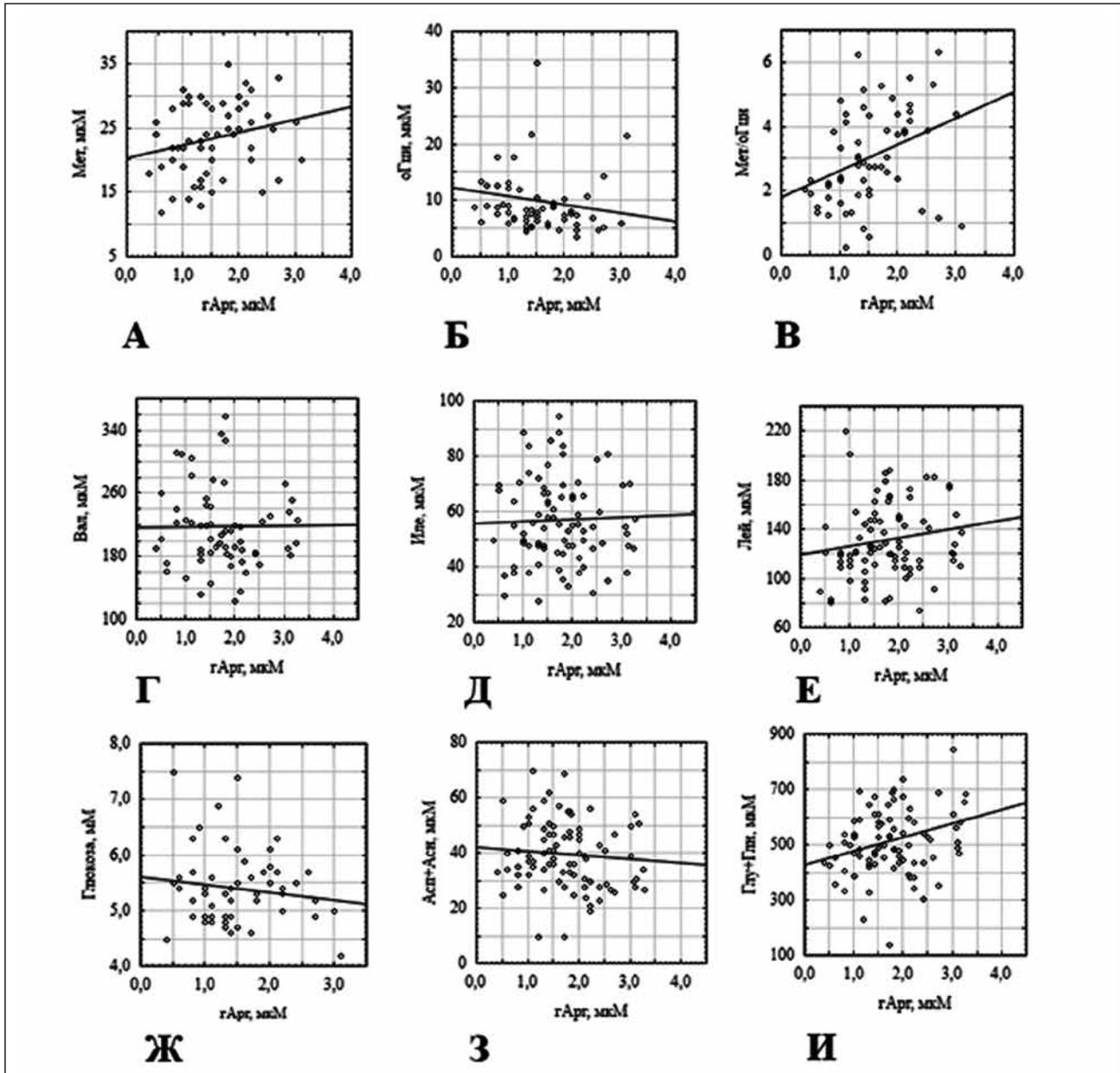
и хроническая сердечная недостаточность III функционального класса (фракция выброса левого желудочка не менее 50% от должного уровня). Кроме того, у большинства пациентов к моменту операции была избыточная масса тела, составившая в среднем $28,4 \pm 3,6$ кг/м². ИМТ у них положительно коррелировал с уровнем глюкозы, но не гАрг или соотношением Мет/оГци. Нарушение обмена липидов привело у обследованных пациентов к существенному нарушению кровотока в сердечной мышце. К моменту операции при рассмотрении поквартильного распределения лабораторно-диагностических показателей в зависимости от ИМТ различий между ними, как правило, не наблюдалось. У четверти пациентов (n = 18) ИМТ был ниже 25,3 кг/м², а пониженный уровень гАрг <1,4 мкМ встречался у 8 из них. Остальные 56 пациентов с повышенным ИМТ в 47% имели пониженный уровень гАрг. Таким образом, пониженный уровень гАрг часто встречался у пациентов с пониженным и повышенным ИМТ. Как показало настоящее исследование, уровень гАрг ниже 1,4 мкМ наблюдался примерно у половины обследованных и не зависел

от ИМТ и уровня глюкозы. По данным современной литературы, эта часть пациентов может быть отнесена к группе более высокого риска возникновения острых ишемических осложнений [2, 6].

Некодируемая минорная аминокислота гАрг известна в качестве предиктивного маркера острых ишемических событий у пациентов с нарушениями кровообращения, она обладает некоторыми преимуществами перед другими, в том числе уретическими, пептидами [1]. Низкие уровни гАрг тесно связаны с повышенной смертностью: относительные риски сердечно-сосудистых заболеваний и смерти от всех причин более чем удвоились (+120%) на единицу снижения величины гАрг (мкМ) [3]. März W. и соавт. выявили, что у пациентов с уровнем гАрг меньше 0,87 мкМ смертность в 2 раза выше, чем у пациентов с уровнем гАрг выше 1,4 мкМ, для которых обнаружено статистически значимое увеличение смертности на 25% по сравнению с популяционной когортой.

В нашей работе показано, что у близких по возрасту доноров мужчин и женщин гАрг варьируется в пределах 2,3 (1,8–3,1) мкМ [5], что несколько

Рисунок 2. Уровень гАрг и содержание других аминокислот, связанных с его образованием, а также с уровнями глюкозы и аминокислот – источников её метаболитов после дезаминирования: Мет (А), оГци (Б), соотношением Мет/оГци (В), Вал (Г), Иле (Д), Лей (Е), глюкозой (Ж), Асп+Асн (З), Глу+Глн (И)



Примечания: Мет – метионин, оГци – общий гомоцистеин, Вал – валин, Иле – изолейцин, Лей – лейцин, Асп – аспарагиновая кислота, Асн – аспарагин, Глу – глутаминовая кислота, Глн – глутамин.

выше, чем в общей популяции из европейского исследования – 1,9 (1,7–2,4) мкМ [4, 5], и значительно выше, чем в обследованной группе пациентов с ИБС – 1,4 (1,0–2,0) мкМ. Кроме того, в предыдущем нашем исследовании [7] показано, что значительное высвобождение аминокислот предшественников гАрг, в частности Арг и Лиз, наблюдающееся при активации фибринолиза, может вызывать повышение уровней гАрг. Это следует учитывать при значительной активации внутрисудистого свертывания и фибринолиза.

С появлением современных методов анализа спектра аминокислот плазмы нами обнаружены

новые связи в сдвигах аминокислот у пациентов с ИБС в результате длительного течения болезни. Установлены некоторые устойчивые закономерности, прежде всего в сдвигах аминокислот, которые после трансаминирования сразу становятся кетокислотами-участниками цикла Кребса, как, например, глутамат, и разветвленными кетокислотами, которые способны, превращаясь в пропионил-СоА, и далее через метилмалонил-СоА-мутазную реакцию пополнять цикл Кребса. Продукты дезаминирования этих аминокислот могут в клетках быть источниками начальных субстратов для биосинтеза глюкозы или заменять её в окислительном

Таблица 2. Распределение показателей в соответствии с уровнем гАрг в плазме пациентов

Показатели	Квартили гАрг				pQ1-Q4
	Q1 ≤1,0мкМ	Q2 1,1–1,4 мкМ	Q3 1,5–2,0 мкМ	Q4 ≥2,1 мкМ	
Возраст, годы	62 (60–67)	64 (59–65)	58 (57–65)	60 (54–62)	0,20
ИМТ, кг/м ²	29,6 (25,1–32,5)	29,2 (25,6–30,8)	28,7 (26,0–30,1)	27,0 (25,3–29,1)	0,50
Мет, мкМ	22 (19–28)	23 (17–27)	25 (20–28)	26 (20–29)	0,27
оГци, мкМ	9,2 (7,8–12,8)	7,2(5,6–10,2)	7,9(6,4–9,6)	6,9(5,2–8,2)	0,022
оГлт, мкМ	3,0 (2,3–4,4)	4,1 (3,0–4,7)	3,2 (2,7–4,4)	3,0 (1,3–5,4)	0,98
Мет/оГци	2,2 (1,7–2,4)	3,0 (1,6–4,3)	2,8 (2,4–4,4)	4,2 (3,8–4,7)	0,033
Цит, мкМ	25 (21–29)	27 (21–29)	30 (22–36)	25 (20–29)	0,79
Вал, мкМ	223 (172 –261)	220 (183–254)	212 (192–221)	170 (160–200)	0,145
Иле, мкМ	52 (40–68)	52 (48–68)	64 (55–70)	53 (40–70)	0,82
Лей, мкМ	115 (99–121)	125 (111–143)	148 (115–163)	116 (108–167)	0,62
Глюкоза, мМ	5,4 (4,9–5,7)	4,9 (4,8–5,4)	5,6 (5,3–5,9)	5,4 (5,0–5,6)	0,72
Асп+Асн, мкМ	37 (32–50)	43 (36–54)	46 (38–50)	31 (27–47)	0,36
Глу+Глн, мкМ	473 (409–531)	464 (428–603)	543 (463–593)	456 (384 – 528)	0,89
Холестерин, мМ	3,9 (2,9–5,1)	4,4 (3,8–5,3)	4,1 (3,7–4,8)	4,7 (3,4–6,8)	0,20
Общий белок, г/л	71 (68–74)	73 (70–79)	73 (71–74)	74 (71–75)	0,15
Фибриноген, г/л	3,2 (2,9–3,3)	3,1 (2,9–3,6)	3,2 (2,8–3,5)	3,2 (2,5–4,2)	0,57
АлАТ, Ед/л	18 (14–33)	22 (16 – 31)	25 (17–35)	21 (18–38)	0,46
АсАТ, Ед/л	17 (15–23)	21 (19–26)	22 (21–30)	21 (18–35)	0,075
Мочевина, мМ	5,8 (4,6–6,1)	5,5 (5,0–6,5)	5,5 (4,3–6,5)	5,0 (4,8–6,1)	0,61
Креатинин, мкМ	84 (71–92)	84 (76–102)	96 (78–107)	83 (74–89)	0,98
ОИМ в анамнезе, %	58	56	64	53	0,37

Примечания: данные представлены в виде медианы и межквартильного интервала; оГци – общий гомоцистеин; оГлт – общий глутатион; гАрг – гомоаргинин; ИМТ – индекс массы тела; ОИМ – острый инфаркт миокарда.

метаболизме, пополняя пул кислот цикла Кребса. Другие аминокислоты после декарбоксилирования способны окисляться подобно жирным кислотам по пути утилизации ацетил-СоА.

Настоящее исследование показало, что из всего спектра аминокислот и производных показателей только соотношение Мет/оГци и сами эти аминокислоты характеризуются корреляционной связью с уровнями гАрг. Так же как и в отношении гАрг, у этих аминокислот не обнаружена корреляционная связь с ИМТ. Только у 12 пациентов из 74 был ИМТ ниже 25, но значимого отличия в содержании Мет у них по сравнению с остальными пациентами не обнаружено. Из данных литературы известно,

что уровни аминокислот Глу и Глн повышены у пациентов с ожирением [14]. В нашем исследовании обнаружена положительная корреляционная связь между содержанием Глу и Глн и гАрг (рис. 2 И).

Гци является продуктом использования Мет в реакциях трансметилирования, протекающих особенно интенсивно при росте и обновлении клеток, при активации регуляторных процессов и обновлении клеточных белков [20].

Содержание оГци в крови является результатом соотношения скоростей реакций утилизации Мет, включая путь транссульфирования в тканях и реметилирования Гци в виде S-аденозил-Гци [15]. Таким образом, уровень Мет очень сильно связан

с метаболизмом Гци. Поэтому в случае отсутствия данных о содержании оГци, что часто встречается в литературе, затруднительна интерпертация сдвигов уровня Мет в плазме крови и более точное определение роли Мет в патогенезе и диагностике сердечно-сосудистых заболеваний. Повышенный уровень оГци соответствует высокому содержанию S-аденозилгомоцистеина в клетках. Последний является ингибитором процессов трансметилирования, что приводит в свою очередь к феномену гипометилирования [11, 12]. При рассмотрении данных литературы обращают на себя внимание очень редкие случаи отклонений в содержании Мет от общепринятого референтного интервала 6–40 мкМ. Сдвиги в содержании Мет изучают путем анализа размахов колебаний в когортах с высокими и низкими значениями этой аминокислоты и относительно групп сравнения. Сдвиг уровня Мет в сторону понижения ассоциируется с увеличением риска острого инфаркта миокарда у пациентов с высоким уровнем циркулирующих ЛПНП и других атерогенных липидов. Интерпертация данных существенно улучшается, если одновременно с уровнем Мет имеется возможность оценить уровень оГци, так как высокий уровень этого аминотиола указывает на возможность гипометилирования и недостаточной скорости реметилирования Гци и поступления Мет в общий кровоток не за счет пищевых источников, а за счет реакций с участием витаминов В12 и фолиевой кислоты. Известно, что при гипергомоцистеинемии в тканях наблюдается высокое содержание S-аденозилгомоцистеина, являющегося сильным ингибитором метилтрансфераз, в результате чего для метилирования различных субстратов, включая нуклеиновые кислоты и белки, требуются более высокие уровни Мет в крови и S-аденозилметионина в клетках. Как показало настоящее исследование, у пациентов с уровнем гАрг менее 1,40 мкМ соотношение Мет/оГци в большинстве случаев было в среднем ниже 2. У пациентов с уровнем гАрг выше 1,4 мкМ соотношение Мет/оГци превышало значение 2,5, а при уровне гАрг выше 2,2 мкМ оно превышало значение 3,8 (см. табл. 2). При низком уровне гАрг снижение соотношения Мет/оГци до среднего уровня 1,7 более чем у 62% пациентов наблюдалось при невысоких (до 12 мкМ) значениях оГци за счет понижения содержания Мет. Таким образом, у пациентов одновременно со снижением активности АГАТ – реакции, в которой образуется гАрг и предшественник креатина гуанидинуксусная кислота, наблюдается снижение превалирования уровня Мет над Гци. Это, согласно современным представлениям [11, 12], может приводить к феномену гипометилирования.

Уровни гАрг ниже 1,4 мкМ у пациентов с острым коронарным синдромом, наблюдавшимся в возрасте от 18 до 85 лет, обладают чувствительностью для определения рисков инфаркта или инсульта

на уровне 25% [2]. В настоящем исследовании показано, что понижение соотношения Мет/оГци ниже 1,7 указывает на дополнительное расширение нарушений метаболизма у этих пациентов. Можно считать, что среди характерных метаболических сдвигов, определяющих наиболее важные отклонения, имеются следующие: 1) нарушение обмена липидов, 2) угнетение ключевой реакции образования креатина (АГАТ-реакции), 3) нарушение реакций трансметилирования с участием Мет и реметилирования Гци, а также связанных с этими реакциями метаболизма сигнальных путей. Для развивающейся современной лабораторной диагностики с применением метаболомного анализа указанные метаболические пути и отдельные метаболиты могут быть рекомендованы при учете главных целей аналитического метода.

Выводы

У пациентов с ИБС и недостаточностью кровообращения в результате значительных сдвигов метаболизма липидов наблюдались выраженные отклонения в гомеостазе аминокислот-участников процессов метилирования. Примерно у половины пациентов непосредственно перед операцией по реваскуляризации миокарда обнаружен пониженный уровень гАрг, которому соответствовало снижение уровня Мет/оГци. Показатель Мет/оГци, отражая в основном баланс метилирования (трансметилирования) и реметилирования, в меньшей степени подвержен колебаниям, чем содержание Мет или оГци, и характеризуется более тесной связью с уровнем гАрг. Соотношение Мет/оГци у пациентов с ИБС, тесно коррелируя с уровнем гАрг, обнаруживает связь активации АГАТ-реакции и реакций трансметилирования и реметилирования Гци, выделяя когорту пациентов с наиболее глубокими и опасными изменениями тканевого метаболизма. Соотношение Мет/оГци, уровни гАрг и глутамин у пациентов с ИБС не были связаны с варьированием индекса массы тела и содержанием глюкозы, что указывает на их дополнительное диагностическое и, возможно, прогностическое значение.

Благодарности

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

Acknowledgments

The authors are grateful to the management of the St. I.P. Pavlova for support in organizing the study.

Список литературы

1. Schwedhelm E, Song RJ, Vasan RS, van den Heuvel ER, Hammann J, Xanthakis V, et al. Association of lower plasma homoarginine concentrations with greater risk of all-cause mortality in the community: the Framingham offspring study. *J Clin Med*. 2020;9(6):2016.
2. Atzler D, Baum C, Ojeda F, Keller T, Cordts K, Schnabel RB, et al. Low homoarginine levels in the prognosis of patients with acute chest pain. *J Am Heart Assoc*. 2016;5(4):e002565.
3. Mörz 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. Atzler D, Appelbaum S, Cordts K, Ojeda FM, Wild PS, Münzel T, et al. Reference intervals of plasma homoarginine from the German Gutenberg Health Study. *Clin Chem Lab Med*. 2016;54(7):1231-1237.
5. Zgloba AA, Subbotina TF, Molchan NS. The value of determining the level of homoarginine in patients with coronary heart disease during myocardial revascularization operations. *Clinical laboratory diagnostics*. 2018;63(5):281-286. (Жлоба А.А., Субботина Т.Ф., Молчан Н.С. Значение определения уровня гомоаргинина у пациентов с ишемической болезнью сердца при операциях реваскуляризации миокарда. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2018;63(5):281-286).
6. Niekamp C, Atzler D, Ojeda FM, Sinning CR, Lackner KJ, Böger RH, et al. Cross-sectional associations between homoarginine, intermediate phenotypes, and atrial fibrillation in the community—The Gutenberg Health Study. *Biomolecules*. 2018;8(3):pii:E86.
7. Zgloba AA, Subbotina TF, Lupan DS, Bogova VA, Kusheleva OA. Arginine and lysine as products of basic carboxypeptidase activity associated with fibrinolysis. *Biochemistry (Moscow) Supplement Series B: Biomedical Chemistry*. 2012;6(3):261-265.
8. Titov VN, Rozhkova TA, Kaminnaya VI, Alchinova I.B. Atherosclerosis and atheromatosis are two consecutive metabolic disorders, pathology of the biological functions of trophology and the function of endoecology. *Fundamentals of the prevention of coronary heart disease. Clinical laboratory diagnostics*. 2018;63(4):196-204. Russia. (Титов В.Н., Рожкова Т.А., Каминная В.И., Алчинова И.Б. Атеросклероз и атероматоз – два последовательных нарушения метаболизма, патология биологических функций трофологии и функции эндоэкологии. *Основы профилактики ишемической болезни сердца. Клиническая лабораторная диагностика*. 2018;63(4):196-204).
9. Aripovsky AV, Titov VN. Biologically active peptides in the regulation of metabolism. *Peptides, amino acids, fatty acids, lipoproteins, lipids and the effects of nutraceuticals. Clinical laboratory diagnostics*. 2019;64(1):14-23. Russia. (Ариповский А.В., Титов В.Н. Биологически активные пептиды в регуляции метаболизма. Пептоны, аминокислоты, жирные кислоты, липопротеины, липиды и действие нутрицевтиков. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2019;64(1):14-23).
10. Maltais-Payette I, Boulet MM, Prehn C, Adamski J, Tcherno A. Circulating glutamate concentration as a biomarker of visceral obesity and associated metabolic alterations. *Nutr. Metab. (Lond)*. 2018;15:78. doi: 10.1186/s12986-018-0316-5.
11. Yi P, Melnyk S, Pogribna M, Pogribny IP, Hine RJ, James SJ. Increase in plasma homocysteine associated with parallel increases in plasma S-adenosylhomocysteine and lymphocyte DNA hypomethylation. *J Biol Chem*. 2000;275(38):29318-29323.
12. Xiao Y, Su X, Huang W, Zhang J, Peng C, Huang H, et al. Role of S-adenosylhomocysteine in cardiovascular disease and its potential epigenetic mechanism. *Int J Biochem Cell Biol*. 2015;67:158-166.
13. Laposata's Laboratory Medicine: Diagnosis of Disease in the Clinical Laboratory. 3rd ed. Laposata M., ed.; 2019. Available at: <https://accessmedicine.mhmedical.com/content.aspx?bookid=2503§ionid=201361245> (Accessed 7 May 2019).
14. Geidenstam N, Magnusson M, Danielsson APH, Gerszten RE, Wang TJ, Reinius LE, et al. Amino acid signatures to evaluate the beneficial effects of weight loss. *Int J Endocrinol*. 2017;6490473. doi:10.1155/2017/6490473.
15. Dbar I, Svingen GFT, Ueland PM, Lysne V, Svenningsson MM, Tell GS. Plasma cystathionine and risk of incident stroke in patients with suspected stable angina pectoris. *J Am Heart Assoc*. 2018;7(17):e008824.
16. Subbotina TF, Zgloba AA, Alekseevskaya ES, Birulya IV. Interpretation of the amino acid profile of blood plasma using the polymarker approach. *Scientists Notes of St. Petersburg State Medical University*. 2015;22(4):76-80. Russia. (Субботина Т.Ф., Жлоба А.А., Алексеевская Е.С., Бирюля И.В. Интерпретация аминокислотного профиля плазмы крови с использованием полимаркерного подхода. *Ученые Записки СПбГМУ*. 2015;22(4):76-80).
17. Fukagawa NK, Martin JM, Wurthmann A, Prue AH, Ebenstein D, O'Rourke B. Sex-related differences in methionine metabolism and plasma homocysteine concentrations. *Am J Clin Nutr*. 2000;72(1):22-29.
18. Middttun Ø, Theofylaktopoulou D, McCann A, Fanidi A, Muller DC, Meyer K. Circulating concentrations of biomarkers and metabolites related to vitamin status, one-carbon and the kynurenine pathways in US, Nordic, Asian, and Australian populations. *Am J Clin Nutr*. 2017;105(6):1314-1326.
19. Lepage N, McDonald N, Dallaire L, Lambert M. Age-specific distribution of plasma amino acid concentrations in a healthy pediatric population. *Clin Chem*. 1997;43(12):2397-2402.
20. Zhang N. Role of methionine on epigenetic modification of DNA methylation and gene expression in animals. *Anim Nutr*. 2018;4(1):11-16.
21. Zgloba AA, Subbotina TF. Homocysteinylation score of high-molecular weight plasma proteins. *Amino Acids*. 2014;46(4):893-899.