

Метаболический предшественник карнитина триметил-L-лизин и метилированные продукты аргинина у пациентов с заболеваниями сердечно-сосудистой системы

А. А. Жлоба^{1,2}, Т. Ф. Субботина^{1,2}, Е. С. Алексеевская^{1,2},
О. М. Моисеева², Т. А. Дружкова², Е. В. Жидулева²,
Н. Д. Гаврилюк², О. Б. Иртыга², Е. В. Лоцман¹

¹ Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Российская Федерация

² Федеральное государственное бюджетное учреждение «Северо-Западный федеральный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Российская Федерация

Контактная информация:

Жлоба Александр Анатольевич,
ГБОУ ВПО ПСПбГМУ им. И. П. Павлова
Минздрава России, ул. Л. Толстого,
д. 6–8, корп. 3, Санкт-Петербург, Россия,
197022.
Тел.: +7(812)338–71–08.
E-mail: zhloba@mail.spbnit.ru

*Статья поступила в редакцию
02.06.15 и принята к печати 02.09.15.*

Резюме

Цель исследования — оценить концентрацию метилированных производных L-лизина и L-аргинина у пациентов с нарушением кровообращения. **Материалы и методы.** Исследованы образцы плазмы крови 151 пациента с заболеваниями сердечно-сосудистой системы, в том числе 86 пациентов с аневризмой аорты и 47 — с аортальным стенозом, а также здоровых лиц двух возрастных групп. Концентрацию триметил-L-лизина (ТМЛ), асимметричного диметил-L-аргинина (АДМА) и симметричного диметил-L-аргинина (СДМА) определяли методом жидкостной хроматографии после твердофазной экстракции. **Результаты.** У всех пациентов вне зависимости от диагноза наблюдалось снижение уровня ТМЛ, но повышение концентрации АДМА и СДМА относительно здоровых лиц ($p < 0,001$). Эти сдвиги сопровождались параллельным увеличением концентрации молочной кислоты у пациентов. Снижение концентрации ТМЛ в подгруппе пациентов с аортальным стенозом, характеризовавшейся отсутствием различий со здоровыми лицами по значениям соотношения лактат/пируват и уровню гомоцистеина, было менее выражено в сравнении с лицами с аневризмой аорты ($p < 0,05$). Статистической связи между уровнями ТМЛ и АДМА, СДМА в исследовании не обнаружено. **Выводы.** У пациентов с различными причинами нарушения кровообращения обнаружен сдвиг в содержании в крови маркеров митохондриальной и эндотелиальной дисфункции. Определение уровня ТМЛ в крови позволяет на системном уровне оценить нарушение метилирования белков в организме. Кроме того, ТМЛ, являясь предшественником карнитина, характеризует вклад в дисфункцию митохондрий изменения транспорта жирных кислот.

Ключевые слова: триметиллизин, асимметричный диметиларгинин, симметричный диметиларгинин, эндотелиальная дисфункция, митохондриальная дисфункция

Для цитирования: Жлоба А. А., Субботина Т. Ф., Алексеевская Е. С., Моисеева О. М., Дружкова Т. А., Жидулева Е. В., Гаврилюк Н. Д., Иртыга О. Б., Лоцман Е. В. Метаболический предшественник карнитина триметил-L-лизин и метилированные продукты аргинина у пациентов с заболеваниями сердечно-сосудистой системы. Артериальная гипертензия. 2015;21(6):587–594. doi: 10.18705/1607-419X-2015-21-6-587-594.

Trimethyl-L-lysine, the metabolic precursor of carnitine, and methylated derivatives of arginine in patients with cardiovascular diseases

A. A. Zhloba^{1,2}, T. F. Subbotina^{1,2}, E. S. Alekseevskaya^{1,2}, O. M. Moiseeva², T. A. Druzhkova², E. V. Zhiduleva², N. D. Gavrilyuk², O. B. Irtyuga², E. V. Lotzman¹

¹ First Pavlov State Medical University of St. Petersburg, St Petersburg, Russia

² V. A. Almazov Federal North-West Medical Research Centre, St Petersburg, Russia

Corresponding author:

Aleksandr A. Zhloba,
First Pavlov State Medical University of St. Petersburg, 6–8 L. Tolstoy street, building 3, St Petersburg, 197022 Russia.
Phone: +7(812)338–71–08.
E-mail: zhloba@mail.spbnit.ru

Received 2 June 2015; accepted
2 September 2015.

Abstract

Objective of the present study was to estimate the concentrations of methylated derivatives of L-lysine and L-arginine in patients with blood circulation disorders. **Design and methods.** We examined plasma samples of 151 patients with cardiovascular diseases, including 86 patients with aortic aneurysm and 47 with aortic stenosis, as well as normal subjects divided in two age groups. The concentrations of trimethyl-L-lysine (TML), symmetric dimethyl-L-arginine (SDMA) and asymmetric dimethyl-L-arginine (ADMA) were determined by liquid chromatography after solid phase extraction. **Results.** Decreased TML level was found in all patients, regardless of diagnosis, but there was an increase in ADMA and SDMA concentrations in comparison to healthy individuals ($p < 0,001$). These changes were accompanied by an increase in the concentration of lactic acid. TML decline was lower in the subgroup of patients with aortic stenosis compared to the subgroup with aortic aneurysm ($p < 0,05$), and there was no difference in lactate/pyruvate ratio and homocysteine level compared to healthy people. No significant correlations between TML and ADMA, TML and SDMA were found. **Conclusions.** Patients with different cardiovascular disorders demonstrate an altered level of markers of mitochondrial and endothelial dysfunction. Determination of blood TML level allows monitoring of protein methylation in the body. Being a precursor of carnitine, TML may characterize the changes in fatty acids transport relating to mitochondrial dysfunction development.

Key words: trimethyllysine, asymmetric dimethylarginine, symmetrical dimethylarginine, endothelial dysfunction, mitochondrial dysfunction

For citation: Zhloba AA, Subbotina TF, Alekseevskaya ES, Moiseeva OM, Druzhkova TA, Zhiduleva EV, Gavrilyuk ND, Irtyuga OB, Lotzman EV. Trimethyl-L-lysine, the metabolic precursor of carnitine, and methylated derivatives of arginine in patients with cardiovascular diseases. Arterial'naya Gipertenziya = Arterial Hypertension. 2015;21(6):587–594. doi: 10.18705/1607-419X-2015-21-6-587-594.

Введение

Производные основных аминокислот — триметил-L-лизин (ТМЛ), асимметричный диметил-L-аргинин (АДМА) и симметричный диметил-L-аргинин (СДМА) — имеют различное значение для метаболизма и его регуляции. В отличие от СДМА и АДМА, ТМЛ является исходным эндогенным метаболитом, используемым в биосинтетической цепи реакций. В результате этого пути биосинтеза в клетках образуется переносчик жирных кислот карнитин [1]. Сам же ТМЛ образуется в результате протеолиза внутриклеточных белков, прежде всего гистонов, в которых остаток аминокислоты лизина интенсивно метилируется [2]. В связи с этим, с одной стороны, концентрация свободного ТМЛ в плазме крови зависит от протеолиза метилированных гистонов и других белков [3], а с другой — дает представление об интенсивности эндогенного образования карнитина. АДМА и СДМА высвобождаются в плазму крови также в результате протеолиза клеточных белков, но уровень эндогенного ингибитора NO-синтаз АДМА в крови в большей степени зависит от скорости его катаболизма, а уровень СДМА — от нарушения экскреторной функции почек [4, 5]. Диагностическое значение метилированных продуктов аргинина изучено в большей степени, чем ТМЛ. С учетом значения ТМЛ в образовании карнитина диагностическое значение этого метаболита может состоять в прояснении причин нарушения транспорта жирных кислот в клетке и ацилкарнитинов в крови.

Материалы и методы

Были исследованы образцы крови 151 пациента (94 мужчины и 57 женщин) в возрасте 61 (54–64) года. Аневризма восходящего отдела аорты ($n = 86$) и аортальный стеноз ($n = 47$) диагностированы у 133 пациента. Диагноз аортального стеноза и дилатации аорты подтвержден на основании стандартного протокола трансторакального эхокардиографического исследования на аппарате «Vivid 7» (GE, США) согласно Европейским/Американским рекомендациям по эхокардиографии [6]. Основным критерием отбора пациентов в исследование была пиковая скорость на аортальном клапане (V_{max}) более 3,0 м/с и расширение восходящего отдела аорты более 40 мм. В качестве подгруппы без патологии аорты и аортального клапана были обследованы пациенты с факторами риска (артериальная гипертензия, дислипидемия, ожирение, сахарный диабет) и больные ишемической болезнью сердца (ИБС) ($n = 18$). У большинства пациентов в анамнезе была системная артериальная гипертензия ($n = 136$). У 23 пациентов из 151 был диагностиро-

ван сахарный диабет 2 типа и у 13 пациентов — нарушение толерантности к глюкозе. Функция почек у всех пациентов была сохранной. Для группы сравнения были исследованы образцы от добровольных доноров крови: (1) 34 человека (6 мужчин и 28 женщин) в возрасте от 18 до 25 лет; (2) 30 здоровых лиц (11 мужчин и 19 женщин) в возрасте от 30 до 61 года. Критериями включения в группы сравнения были удовлетворительное самочувствие, отсутствие хронических заболеваний и острых воспалительных процессов по результатам анкетирования. Артериальное давление у всех здоровых лиц на момент забора крови не превышало нормативных значений, индекс массы тела находился в пределах от 19 до 25 кг/м². Во всех случаях было дано информированное согласие на анонимное использование полученных в результате исследования данных. Материал исследования — плазма крови, взятая из кубитальной вены утром натощак в вакутейнеры с цитратом натрия в качестве антикоагулянта. Образцы плазмы до анализа хранили при температуре -80°C .

Концентрацию ТМЛ, АДМА и СДМА в плазме определяли методом жидкостной хроматографии с флуоресцентным детектором после твердофазной экстракции с использованием катионообменных картриджей «Oasis MCX 1 cc 30 мг» (Waters Corp., США) с последующей дериватизацией ортофталевым альдегидом (OPA) [7–9]. В нашей модификации пробы готовили следующим образом: 500 мкл 12,5 мкМ раствора гомо-Арг на фосфатном буфере (рН 6,86) в качестве внутреннего стандарта смешивали с 500 мкл образца (плазма крови), через 30 минут центрифугировали в течение 15 минут при 8000 об/мин при комнатной температуре. Образцы плазмы с внутренним стандартом подвергались процедуре твердофазной экстракции: картриджи, помещенные в прибор для экстракции под контролируемым пониженным давлением (вакуумный насос «GAST DOA-P 504 BN», Gast Manufacturing, США), промывали 1 мл метанола; уравнивали путем медленного (1 мл/мин) пропускания фосфатного буфера рН 6,86. Приготовленный образец плазмы крови с внутренним стандартом наносили на поверхность твердой фазы картриджа, пропускали через картридж (0,5 мл/мин) и промывали последовательно 1 мл воды и 1 мл метанола. Элюцию положительно заряженных аминокислот и их производных со скоростью 0,1 мл/мин проводили с использованием 250 мкл смеси концентрированного водного аммиака/воды/метанола в пропорции 10:40:50, доведенной 10N NaOH до рН 12,6. Полученную пробу использовали в ходе автоматического ввода 0,5 мкл в хроматографическую систему

с аутосамплером «Agilent 1100» (Agilent Technologies, США), позволяющую получение флуоресцентных производных одновременно с вводом. Для этого был использован раствор ОРА (5,4 мг/мл) в боратном буфере рН 8,5 с 0,4% меркаптопропионовой кислоты. Для анализа использовали обращенно-фазные колонки производства Zorbax, специализированные для аминокислотного анализа, как это описано ранее [10]. Измерение флуоресценции элюата проводили при длине волны возбуждения 340 нм и испускания 455 нм. Коэффициент вариации результатов при многократном введении одной и той же пробы в отношении ТМЛ составлял 5,2%, а при анализе проб, приготовленных отдельно друг от друга — 5,5%. Предел детектирования ТМЛ с указанным разбросом данных составлял $0,03 \pm 0,01$ мкМ.

Концентрацию молочной кислоты (МК, лактат) в плазме крови определяли колориметрически с помощью лактатоксидазного теста по набору Витал Девелопмент Корпорэйшн (Россия). Концентрацию пировиноградной кислоты (ПВК, пируват) определяли в безбелковом ультрафильтрате плазмы энзиматическим методом с использованием лактатдегидрогеназы [11].

Концентрацию общего гомоцистеина (оГци) определяли ранее описанным методом [12–14].

Исследование уровня глюкозы, креатинина, трансаминаз и сывороточного уровня С-реактивного белка (СРБ) в периферической крови осуществляли с помощью стандартных наборов фирмы Roche для биохимического анализатора «Cobas Integra 400 Plus». Определение концентраций общего холестерина, холестерина липопротеинов низкой плотности (ЛПНП), холестерина липопротеинов высокой плотности (ЛПВП) и триацилглицеридов (ТАГ) в сыворотке крови определяли с использованием стандартных наборов реактивов фирмы «Abbott Clinical Chemistry».

Статистическую обработку результатов выполняли с использованием пакета программ SPSS 16. Степень соответствия закона распределения данных нормальному распределению оценивали с помощью критериев Шапиро-Уилка и Колмогорова-Смирнова. Данные представлены в виде медианы и межквартильного размаха (Ме (Q1–Q3)). Для оценки межгрупповых различий использован непараметрический критерий Манна-Уитни. В случае сравнения более двух групп уровни значимости различий приведены с учетом поправки Бонферрони. Корреляционный анализ проведен с применением критерия Спирмена. Критический уровень значимости нулевой статистической гипотезы принимали равным 0,05.

Таблица 1

ХАРАКТЕРИСТИКА ПОДГРУПП ПАЦИЕНТОВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ВИДА И НАЛИЧИЯ ПАТОЛОГИИ ВЫХОДНОГО ТРАКТА ЛЕВОГО ЖЕЛУДОЧКА

Показатель, Ме (25–75 перцентиль)	Пациенты с аневризмой аорты	Пациенты с аортальным стенозом	Пациенты с ИБС
Количество пациентов, n	86	47	18
Возраст, годы	60 (52–63)	62 (58–66)	59 (53–63)
Гендерный состав, м/ж	64/22	21/26	9/9
ИМТ, кг/м ²	28,7 (25,7–31,6)	28,7 (24,0–32,9)	32,7 (28,1–36,2)
Офисное САД, мм рт. ст.	140 (120–150)	140 (130–150)	140 (120–155)
Офисное ДАД, мм рт. ст.	80 (70–90)	80 (75–90)	80 (80–95)
Глюкоза, мМ	5,4 (4,9–5,8)	5,6 (5,2–6,1)	6,0 (5,4–6,8) *p < 0,01
Креатинин, мкМ	77 (66–90)	70 (64–83)	80 (70–98)
Общий холестерин, мМ	4,9 (4,0–5,8)	5,1 (4,2–6,0)	5,3 (4,7–6,0)
Холестерин ЛПНП, мМ	2,9 (2,1–3,7)	3,2 (2,4–3,9)	3,0 (2,2–3,9)
Холестерин ЛПВП, мМ	1,2 (1,0–1,3)	1,2 (0,9–1,4)	1,1 (1,0–1,3)
Триглицериды, мМ	1,4 (1,0–1,9)	1,4 (1,0–1,8)	1,8 (1,4–2,6) *#p < 0,05
С-реактивный белок, мг/л	1,7 (0,7–5,0)	1,9 (0,8–3,5)	2,0 (1,3–3,2)
Аланинаминотрансфераза, Е/л	20,5 (17,5–25,3)	19,0 (17,3–23,3)	22,0 (16,0–36,0)
Аспаратаминотрансфераза, Е/л	21,0 (18,0–28,0)	24,0 (20,0–26,0)	20,0 (17,0–27,0)
Общая креатинкиназа, Е/л	89,5 (60,5–102,3)	68,5 (37,5–95,0)	78,0 (43,0–139,0)

Примечание: ИБС — ишемическая болезнь сердца; ИМТ — индекс массы тела; САД — систолическое артериальное давление; ДАД — диастолическое артериальное давление; ЛПНП — липопротеины низкой плотности; ЛПВП — липопротеины высокой плотности; * — различия с подгруппой пациентов с аневризмой аорты; # — различия с подгруппой пациентов с аортальным стенозом. Данные представлены в виде медианы и квартилей.

Результаты и обсуждение

Группа пациентов в целом характеризовалась умеренными отклонениями концентраций рутинных биохимических показателей от референтных значений: глюкоза 5,5 (5,1–5,9) мМ, креатинин 76,0 (66,0–90,0) мкМ, общий холестерин 5,0 (4,2–5,8) мМ, холестерин ЛПНП 3,0 (2,2–3,8) мМ, холестерин ЛПВП 1,2 (1,0–1,4) мМ, ТАГ 1,5 (1,0–1,9) мМ, СРБ 1,8 (0,8–4,0) мг/л, аланинаминотрансфераза (АЛТ) 20 (17–24) Е/л, аспаратаминотрансфераза (АСТ) 21 (19–27) Е/л и общая креатинфосфокиназа (КФК) 83 (54–100) Е/л. У пациентов с факторами риска и ИБС без патологии аорты в сравнении с остальными пациентами был выявлен более высокий уровень ТАГ ($p < 0,05$ для обеих подгрупп), а также существенно более высокий уровень глюкозы по отношению к лицам с аневризмой аорты ($p = 0,009$) (табл. 1).

Маркеры эндотелиальной дисфункции — АДМА и СДМА — не различаясь между обследованными подгруппами пациентов, были выше ($p < 0,001$) в каждой из подгрупп по сравнению с обеими группами доноров (табл. 2) (рис. 1, А). По уровню АДМА доноры не различались, в то время как СДМА у более молодых лиц был ниже ($p < 0,001$), чем в группе доноров 2 (Рис. 1, Б).

Уровень ТМЛ, в отличие от метилированных производных аргинина, в группе пациентов в целом по сравнению со здоровыми донорами снижался — в 1,61 и 1,75 раза (по медиане) для групп сравнения 1 и 2 соответственно ($p < 0,001$). Снижение концентрации ТМЛ относительно здоровых лиц наблюдалось во всех подгруппах пациентов (рис. 2), сопровождаясь в каждой подгруппе повышением

уровня МК (табл. 2). Следует отметить, что у лиц с аортальным стенозом снижение уровня ТМЛ было менее выражено, чем у пациентов с аневризмой ($p = 0,045$) (табл. 2, рис. 2).

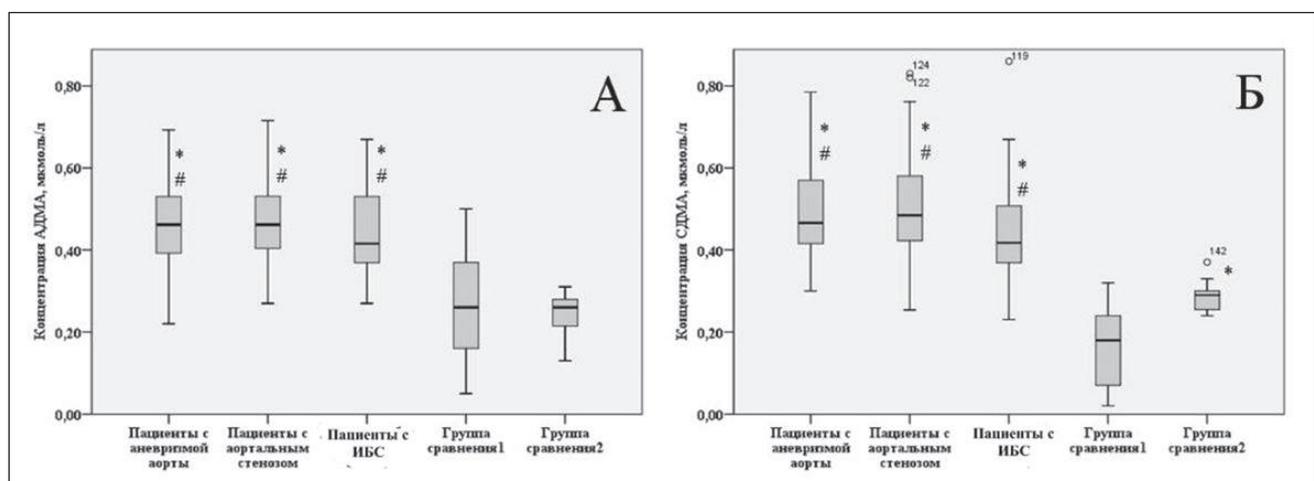
Кроме этого, пациенты с аортальным стенозом, в отличие от пациентов других подгрупп, характеризовались отсутствием различий с группой сравнения 1 по уровню оГци и соотношению МК/ПВК (табл. 2). Уровень ТМЛ между группами сравнения не различался, хотя у лиц старшего возраста (группа сравнения 2) наблюдался больший разброс значений данного анализа (рис. 2).

Референтный интервал для ТМЛ по группам сравнения 1 и 2 составил 0,36–0,76 и 0,32–0,78 мкмоль/л соответственно (диапазон концентраций у здоровых лиц с 10 по 90 перцентиль). Полученные результаты сопоставимы с данными других исследований [15].

У пациентов в целом обнаружена отрицательная статистическая связь между концентрацией ТМЛ и значением соотношения МК/ПВК ($r_s = -0,39$; $p < 0,001$), в то время как в отношении показателей АДМА, СДМА, СРБ, индекса массы тела, АЛТ, АСТ и КФК связей с уровнями МК/ПВК и ТМЛ не обнаружено.

При сердечно-сосудистых заболеваниях параллельно с эндотелиальной дисфункцией нарастает нарушение митохондриального энергетического метаболизма [16]. Увеличение содержания МК и ПВК в крови связывают с торможением использования интермедиатов катаболизма глюкозы в цикле трикарбоновых кислот [17]. При отсутствии первичной митохондриальной дисфункции развитие

Рисунок 1. Концентрации метилированных производных аргинина в группах сравнения и пациентов с патологией аорты и аортального клапана



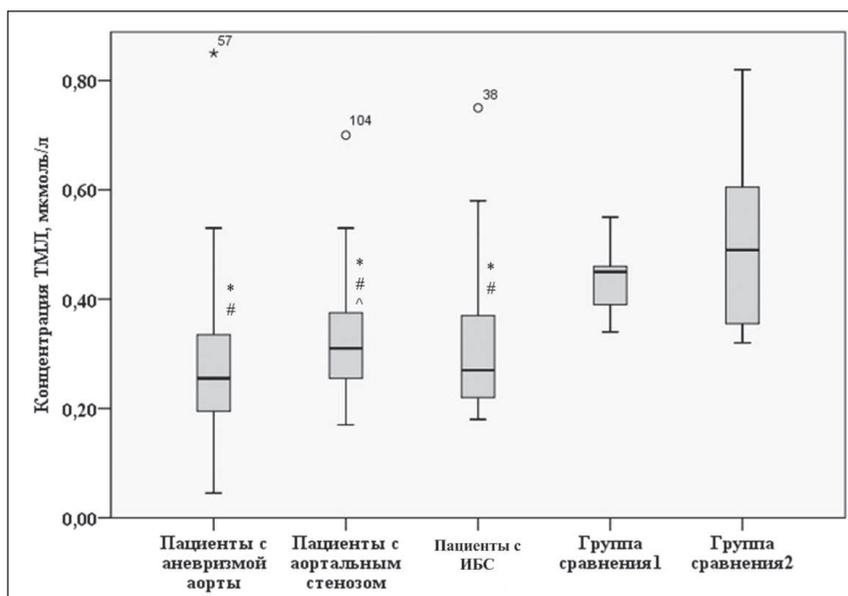
Примечание: А) АДМА — асимметричный диметиларгинин; ИБС — ишемическая болезнь сердца; * — значимые различия с группой сравнения 1 ($p < 0,001$); # — значимые различия с группой сравнения 2 ($p < 0,001$). Б) СДМА — симметричный диметиларгинин; ИБС — ишемическая болезнь сердца; * — значимые различия с группой сравнения 1 ($p < 0,001$); # — значимые различия с группой сравнения 2 ($p < 0,001$).

ЗНАЧЕНИЯ ИССЛЕДОВАННЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ В ГРУППАХ ЗДОРОВЫХ ЛИЦ И ПАЦИЕНТОВ

Показатель, Ме (25–75 перцентиль)	Группа сравнения 1	Пациенты с аневризмой аорты	Пациенты с аортальным стенозом	Пациенты с ИБС
Количество пациентов, n	34	86	47	18
Возраст, годы	22 (21–22)	60 (52–63)	62 (58–66)	59 (53–63)
Гендерный состав, м/ж	6/28	64/22	21/26	9/9
АДМА, мкМ	0,26 (0,16–0,37)	0,46 (0,39–0,53) *p < 0,001	0,46 (0,39–0,53) *p < 0,001	0,42 (0,36–0,53) *p < 0,001
СДМА, мкМ	0,18 (0,07–0,24)	0,47 (0,41–0,57) *p < 0,001	0,48 (0,42–0,60) *p < 0,001	0,42 (0,36–0,52) *p < 0,001
Общий гомоцистеин, мкМ	5,8 (4,8–6,7)	8,0 (5,7–9,8) *p < 0,001	6,2 (4,6–9,0)	7,0 (6,4–8,2) *p < 0,05
ТМЛ, мкМ	0,45 (0,39–0,47)	0,25 (0,19–0,34) *p < 0,001	0,31 (0,25–0,38) *p < 0,001 #p < 0,05	0,27 (0,21–0,38) *p < 0,001
МК, мМ	0,62 (0,50–0,73)	1,08 (0,83–1,46) *p < 0,001	1,07 (0,85–1,49) *p < 0,001	1,32 (1,01–2,48) *p < 0,001
Пировиноградная кислота, мкМ	66,0 (32,6–87,0)	64,4 (40,3–75,3)	81,0 (49,1–97,1)	48,3 (38,8–58,4) ^p < 0,05
МК/ПВК	14 (8–18)	20 (15–25) *p < 0,001	15 (11–21)	27 (22–41) *p < 0,001 #p < 0,01 ^p < 0,001

Примечание: ИБС — ишемическая болезнь сердца; АДМА — асимметричный диметиларгинин; СДМА — симметричный диметиларгинин; ТМЛ — триметиллизин; МК — молочная кислота; МК/ПВК — отношение лактат/пируват; * — различия с группой сравнения; # — различия с подгруппой пациентов с аневризмой аорты; ^ — различия с подгруппой пациентов с аортальным стенозом. Данные представлены в виде медианы и квартилей.

Рисунок 2. Концентрация триметиллизина в группах сравнения и у пациентов с патологией аорты и аортального клапана



Примечание: ТМЛ — триметиллизин; ИБС — ишемическая болезнь сердца; * — значимые различия с группой сравнения 1 (p < 0,001); # — значимые различия с группой сравнения 2 (p < 0,01); ^ — значимые различия с подгруппой пациентов с аневризмой аорты (p < 0,05).

заболевания, в данном клиническом случае — патологии аорты, аортального клапана и ИБС, связано с формированием вторичной митохондриальной дисфункции и нарушением сигнальных путей, ведущих к обновлению митохондрия [11]. При этом помимо окислительного фосфорилирования в той или иной степени могут быть затронуты другие митохондриальные метаболические процессы, включая реакции пируват- и глициндекарбоксилазного комплексов, утилизацию аминокислот с разветвленной цепью и донаторов пропионилкарнитина (анаплеротическая дисфункция) [18], реакции биосинтеза мочевины, липоевой кислоты, креатина, стероидных гормонов и других метаболитов. В частности, функция митохондрия в части транспорта жирных кислот у пациентов изученных групп зависит от снижения уровня ТМЛ, в особенности у пациентов с аневризмой аорты. Рассматривая этот метаболит не только как продукт протеолиза, но и в качестве предшественника карнитина, допустимо предположить, что при снижении продукции ТМЛ ограничивается возможность образования ацилкарнитинов.

Гипометилирование по остатку лизина специфических сайтов ядерных гистонов связано с нарушением накопления жировой ткани и, в частности, реализуется через гены, регулируемые ядерным рецептором PPAR γ (peroxisome proliferator-activated receptor gamma рецептора, активируемого пероксисомным активатором, гамма) [19]. Ранее нами было показано снижение в плазме крови концентрации PGC1 α (PPAR γ coactivator-1 alpha) — транскрипционного коактиватора многих ядерных рецепторов (включая и PPAR γ) и факторов транскрипции, являющегося ключевым регулятором экспрессии генов митохондриальных белков и биогенеза митохондрий, на фоне прогрессирования лактоацидоза и роста концентрации ПВК в крови пациентов с патологией выходного тракта левого желудочка [11]. С учетом обнаруженной в ходе данного исследования ассоциации низкого уровня ТМЛ с повышением соотношения МК/ПВК можно предположить, что гипометилирование (или активация деметилирования) гистонов вносит вклад в нарушение ядерно-митохондриального взаимодействия у обследованных пациентов.

Как показано в данной работе, содержание ТМЛ в плазме крови, в отличие от уровней метилированных продуктов аргинина, снижается. АДМА, СДМА и ТМЛ возникают в результате процессов протеолиза [3]. Различия в белковых источниках АДМА и СДМА, с одной стороны, и ТМЛ — с другой, состоит в том, что источники первых, помимо гистонов, сосредоточены не только в хроматине,

а также и в быстро обновляемых регуляторных белках и белках, связанных с процессом трансляции [20]. Этим, возможно, объясняется разнонаправленное изменение в содержании ТМЛ и АДМА в крови пациентов изученных групп и отсутствие статистической связи между концентрациями данных аналитов.

Выводы

Таким образом, у пациентов с различными причинами нарушения кровообращения обнаружен сдвиг в содержании в крови маркеров митохондриальной и эндотелиальной дисфункции. Использование общепринятых метаболических показателей нарушения функции митохондрий, дополненное определением уровня ТМЛ в крови позволяет более полно оценить реакции нарушения метилирования белков и развитие митохондриальной дисфункции у больных с нарушениями кровообращения. При нарушениях кровообращения различного генеза нарушается не только транспорт жирных кислот в крови в составе липопротеинов, но и клеточный их транспорт. Значительное нарушение клеточного метаболизма обнаруживается в виде сдвига в спектре метилированных продуктов основных аминокислот. По-видимому, нарушение метаболических процессов, связанных с утилизацией жирных кислот, может быть дополнительно охарактеризовано определением ТМЛ в плазме крови.

Конфликт интересов / Conflict of interest

Авторы заявили об отсутствии потенциального конфликта интересов. / The authors declare not conflict of interest.

Список литературы / References

1. Vaz FM, Wanders RJ. Carnitine biosynthesis in mammals. *Biochem J.* 2002;361(Pt 3):417–429.
2. Paik WK, Kim S, Lim IK. Protein methylation and interaction with the antiproliferative gene, BTG2/TIS21/Pc3. *Yonsei Med J.* 2014;55(2):292–303. doi: 10.3349/ymj.2014.55.2.292.
3. Servillo L, Giovane A, Cautela D, Castaldo D, Balesrieri ML. Where does Ne-trimethyllysine for the carnitine biosynthesis in mammals come from? *PLoS ONE.* 2014;9(1):e84589. doi:10.1371/journal.pone.0084589.
4. Wilson Tang WH, Tong W, Shrestha K, Wang Z, Levison BS, Delfraio B et al. Differential effects of arginine methylation on diastolic dysfunction and disease progression in patients with chronic systolic heart failure. *Eur Heart J.* 2008;29(20):2506–2513. doi: 10.1093/eurheartj/ehn360.
5. Жлоба А. А. Роль АДМА в качестве эндогенного ингибитора eNOS и одного из медиаторов развития вазомоторной эндотелиальной дисфункции. Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2007;6(3):4–14. [Zhloba AA. ADMA as endogenous inhibitor of eNOS and as a marker of endothelial vasomotor dysfunction development. *Regionarnoe krovoobrashchenie i mikrotsirkulyatsiya = Regional Haemodynamics and Microcirculation.* 2007;6(3):4–14. In Russian].

6. Baumgartner H, Hung J, Bermejo J, Chambers JB, Evangelista A, Griffin BP et al. Echocardiographic assessment of valve stenosis: EAE/ASE recommendations for clinical practice. *Eur J Echocardiogr.* 2009;10(1):1–25. doi: 10.1093/ejehocard/jen303.
7. Teerlink T, Nijveldt RJ, de Jong, S, van Leeuwen PA. Determination of arginine, asymmetric dimethylarginine, and symmetric dimethylarginine in human plasma and other biological samples by high-performance liquid chromatography. *Anal Biochem.* 2002;303(2):131–137.
8. Schwedhelm E. Quantification of ADMA: analytical approaches. *Vasc Med.* 2005;10(Suppl. 1): S89–95.
9. Гилинский М. А., Айзман Р. И., Корощенко Г. А., Латышева Т. В., Новоселова Т. И., Петракова Г. М. и др. Метиларгинины у крыс в глицириновой модели острой почечной недостаточности. *Бюллетень СО РАМН.* 2010;30 (4):82–86. [Gilinsky MA, Ayzman RI, Koroshchenko GA, Latysheva TV, Novoselova TI, Petrakova GM et al. Methylarginines in glycerol induced acute renal failure of rat. *Byulleten' SO RAMN = The Bulletin of Siberian Branch of Russian Academy of Medical Sciences.* 2010;30 (4):82–86. In Russian].
10. Zhloba 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. doi: 10.1134/S1990750812030158.
11. Zhloba AA, Subbotina TF, Alekseevskaya ES, Moiseeva OM, Gavrilyuk ND, Irtyuga OB. The level of circulating PGC1 α in cardiovascular diseases. *Biochemistry (Moscow) Supplement Series B: Biomedical Chemistry.* 2015;9(2):143–150. doi: 10.1134/S1990750815020158.
12. Zhloba AA, Blashko EL. Liquid chromatographic determination of total homocysteine in blood plasma with photometric detection. *J Chromatography B.* 2004;800(1–2):275–280.
13. Жлоба А. А. Лабораторная диагностика при гипергомоцистеинемии. *Клинико-лабораторный консилиум.* 2009;(1):49–60. [Zhloba AA. Laboratory diagnosis in hyperhomocysteinemia. *Kliniko-laboratornyi konsilium.* 2009;(1):49–60. In Russian].
14. Zhloba AA, Subbotina TF. Homocysteinylated score of high-molecular weight plasma proteins. *Amino Acids.* 2014;46 (4):893–899. doi: 10.1007/s00726–013–1652–4.
15. Midttun Ø, Kvalheim G, Ueland PM. High-throughput, low-volume, multianalyte quantification of plasma metabolites related to one-carbon metabolism using HPLC–MS/MS. *Anal Bioanal Chem.* 2013;405(6):2009–2017. doi: 10.1007/s00216–012–6602–6.
16. Yu E, Mercer J, Bennett M. Mitochondria in vascular disease. *Cardiovasc Res.* 2012;95(2):173–182. doi: 10.1093/cvr/cvs111.
17. Phypers B, Pierce JMT. Lactate physiology in health and disease. *Contin. Educ. Anaesth. Crit. Care. Pain.* 2006;6(3):128–132. doi: 10.1093/bjaceaccp/mkl018.
18. Жлоба А. А., Маевская Е. Г. Дисфункция анаплеротического пути энергетического метаболизма от аминокислот к сукцинату у лиц старшей возрастной группы. *Артериальная гипертензия.* 2011;17(1):74–78. [Zhloba AA, Maevskaya EG. The dysfunction of anaplerotic pathway of energy metabolism from amino acids to succinate in the elderly. *Arterial'naya Gipertenziya = Arterial Hypertension.* 2011;17(1):74–78. In Russian].
19. Lee J, Saha PK, Yang QH, Lee S, Park JY, Suh Y et al. Targeted inactivation of MLL3 histone H3-Lys-4 methyltransferase activity in the mouse reveals vital roles for MLL3 in adipogenesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2008;105(4):19229–19234. doi: 10.1073/pnas.0810100105.
20. Obianyo O, Thompson PR. Kinetic mechanism of protein arginine methyltransferase 6 (PRMT6). *J. Biol. Chem.* 2012;287 (8):6062–6071. doi: 10.1074/jbc.M111.333609.

Информация об авторах:

Жлоба Александр Анатольевич — доктор медицинских наук, профессор, руководитель отдела биохимии Научно-исследовательского центра ГБОУ ВПО ПСПбГМУ им. И. П. Павлова Минздрава России, ведущий научный сотрудник, руководитель группы протеомики Института молекулярной биологии и генетики ФГБУ «СЗФМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Субботина Татьяна Федоровна — доктор медицинских наук, профессор, заведующая лабораторией биохимического мониторинга отдела биохимии Научно-исследовательского центра ГБОУ ВПО ПСПбГМУ им. И. П. Павлова Минздрава России, ведущий научный сотрудник группы протеомики Института молекулярной биологии и генетики ФГБУ «СЗФМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Алексеевская Елизавета Сергеевна — научный сотрудник отдела биохимии Научно-исследовательского центра ГБОУ ВПО ПСПбГМУ им. И. П. Павлова Минздрава России, младший научный сотрудник группы протеомики Института молекулярной биологии и генетики ФГБУ «СЗФМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Моисеева Ольга Михайловна — заместитель директора Института сердца и сосудов, заведующая научно-исследовательским отделом некоронарогенных заболеваний сердца Института сердца и сосудов ФГБУ «СЗФМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Дружкова Татьяна Александровна — врач-кардиолог ФГБУ «СЗФМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Жидулева Екатерина Викторовна — младший научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории кардиомиопатий Института сердца и сосудов ФГБУ «СЗФМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Гаврилюк Наталья Дмитриевна — младший научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории кардиомиопатий Института сердца и сосудов ФГБУ «СЗФМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Иртыга Ольга Борисовна — старший научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории кардиомиопатий Института сердца и сосудов ФГБУ «СЗФМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Лоцман Елизавета Викторовна — студентка ГБОУ ВПО ПСПбГМУ им. И. П. Павлова Минздрава России.

Author information:

Aleksandr A. Zhloba, MD, PhD, DSc in Medicine, Professor, Head, Biochemistry Department, Scientific Research Centre, First Pavlov State Medical University of St. Petersburg, Leading Researcher and Head, Proteomics Group, Institute of Molecular Biology and Genetics, V.A. Almazov Federal North-West Medical Research Centre;

Tatyana F. Subbotina, MD, PhD, DSc in Medicine, Professor, Head, Laboratory of Biochemical Monitoring, Biochemistry Department, Scientific Research Centre, First Pavlov State Medical University of St. Petersburg, Leading Researcher, Proteomics Group, Institute of Molecular Biology and Genetics, V.A. Almazov Federal North-West Medical Research Centre;

Elizaveta S. Alekseevskaya, Researcher, Biochemistry Department, Scientific Research Centre, First Pavlov State Medical University of St. Petersburg, Junior Research Associate, Proteomics Group, Institute of Molecular Biology and Genetics, V.A. Almazov Federal North-West Medical Research Centre;

Olga M. Moiseeva, MD, PhD, DSc in Medicine, Professor, Head, Research Department of Noncoronary Heart Disease, Deputy Director, Institute of Heart and Vessels, V.A. Almazov Federal North-West Medical Research Centre;

Tatyana A. Druzhkova, MD, Cardiologist, V.A. Almazov Federal North-West Medical Research Centre;

Ekaterina V. Zhiduleva, MD, Junior Researcher, Research Laboratory for Cardiomyopathies, Institute of Heart and Vessels, V.A. Almazov Federal North-West Medical Research Centre;

Natalya D. Gavrilyuk, MD, Junior Researcher, Research Laboratory for Cardiomyopathies, Institute of Heart and Vessels, V.A. Almazov Federal North-West Medical Research Centre;

Olga B. Irtyuga, MD, PhD, Senior Researcher, Research Laboratory for Cardiomyopathies, Institute of Heart and Vessels, V.A. Almazov Federal North-West Medical Research Centre;

Elizaveta V. Lotsman, Student, First Pavlov State Medical University of St. Petersburg.