

*Жлоба А.А., Субботина Т.Ф.***ОЦЕНКА ФОЛАТНОГО СТАТУСА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ОБЩЕГО ГОМОЦИСТЕИНА У ПАЦИЕНТОВ С ГИПЕРТОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ**

ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Минздрава России, 197022, Санкт-Петербург

♦ В большом количестве исследований установлена связь прогрессирования гипертонической болезни (ГБ) с дефицитом фолиевой кислоты (ФК). Из-за дефицита ФК наблюдается повышение уровня общего гомоцистеина (оГци). Контрольная точка отсечения для оГци, которая не связана с токсическим эффектом самого Гци, а обозначает нарастание ФК-дефицитного состояния, четко не определена до настоящего времени.

Целью данной работы была оценка начального значения повышенного уровня оГци, для обнаружения функционального дефицита ФК у пациентов с ГБ, в том числе с хронической болезнью почек (ХБП).

Материал и методы. В исследование были включены образцы плазмы крови 60 пациентов ГБ в возрасте 61 (45-70) лет, из них 31 без ХБП и 29 с диагностированным заболеванием почек и образцы 30 здоровых доноров старшего возраста. Были оценены клинические и биохимические данные, включая оГци, ФК и витамин В₁₂.

Результаты и выводы. Гипергомоцистеинемия у пациентов при ХБП была значительно выше, чем у пациентов без ХБП. Уровень оГци у всех пациентов обратно коррелировал с уровнем ФК в крови. У части пациентов без недостатка ФК и В₁₂ обнаружился повышенный уровень оГци, свидетельствующий о функциональном дефиците ФК. Кроме того, дефицит ФК в плазме крови пациентов не всегда сопровождался гипергомоцистеинемией, то есть у них не было функционального дефицита ФК. Часто используемая точка отсечения гипергомоцистеинемии выше 15 мкМ указывает на начальную точку концентраций оГци, связанных с токсическим действием самого Гци. Чтобы определить функциональный дефицит ФК в отсутствие ее снижения в плазме крови, следует использовать предельный уровень оГци выше 10,9 мкМ.

Ключевые слова: фолиевая кислота; гомоцистеин; витамин В12; артериальная гипертензия; хроническая болезнь почек.

Для цитирования: Жлоба А.А., Субботина Т.Ф. Оценка фолатного статуса с использованием общего гомоцистеина у пациентов с гипертонической болезнью. *Российский медицинский журнал*. 2019; 25(3): 158-165.
DOI <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2106-2019-25-3-158-165>

Для корреспонденции: Жлоба Александр Анатольевич, доктор мед. наук, профессор, врач клинической лабораторной диагностики, руководитель отдела биохимии научно-образовательного института биомедицины ПСПбГМУ им. И.П. Павлова; 197022, Санкт-Петербург, E-mail: zhlobaaa@1spbmgmu.ru

*Zhloba A.A., Subbotina T.F.***THE EVALUATION OF FOLATE STATUS USING TOTAL HOMOCYSTEINE IN HYPERTENSIVE PATIENTS**

I.P. Pavlov First Saint Petersburg State Medical University; 197022, Saint-Petersburg, Russian Federation

♦ A large number of studies have established a link between the progression of arterial hypertension (AH) and folic acid (FA) deficiency. Due to the deficiency of FA, an increase in the level of total homocysteine (tHcy) is observed. The cut-off point for total homocysteine (tHcy), which is not associated with the toxic effect of Hcy itself, indicating the increase in FA deficient state, has not been clearly defined to date.

The purpose of this work was to assess the cutoff value of tHcy applied to assessment of functional FA deficiency in hypertensive patients, including group with chronic kidney disease (CKD).

Material and methods. The study included blood samples from 60 hypertensive patients aged 61 (45-70) without (N=31) and with (N=29) diagnosed kidney disease and also samples from 30 healthy donors. Clinical and biochemical data, including tHcy, FA and vitamin B12 of blood plasma were assessed.

Results and conclusion. Hyperhomocysteinemia in patients with CKD was significantly higher than in patients without CKD. The level of tHcy in all patients was inversely correlated with the level of FA in the blood plasma. Some patients without a deficiency of FA and B12 had an increased level of tHcy, which indicated a functional deficiency of FA. Another situation in few patients without functional deficiency of FA was observed, in which the decreased FA level without increasing level of tHcy established. Frequently used cutoff point for hyperhomocysteinemia above 15 μM indicates the starting point of tHcy concentrations associated with the toxic effects of Hcy by itself. To determine the functional deficiency of FA in the absence of its deficiency in the plasma, the cutoff level of tHcy from 10.9 μM should be used.

Keywords: folic acid; homocysteine; vitamin B12; arterial hypertension; chronic kidney disease.

For citation: Zhloba A.A., Subbotina T.F. The evaluation of folate status using total homocysteine in hypertensive patients. *Rossiiskii meditsinskii zhurnal* (Medical Journal of the Russian Federation, Russian journal). 2019; 25(3): 158-165. (in Russ)
DOI <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2106-2019-25-3-158-165>

For correspondence: Aleksandr A. Zhloba, doctor of medical sciences, professor, Head of Biochemistry Department of Scientific and Educational Institute of Biomedicine "I.P. Pavlov First Saint Petersburg State Medical University", 197022, Saint Petersburg, Russian Federation, E-mail: zhlobaaa@1spbmgmu.ru

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

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

Acknowledgments. The study had no sponsorship.

Введение

В ряде когортных и эпидемиологических исследований показана связь прогрессирования гипертонической болезни (ГБ) с дефицитом фолиевой кислоты (ФК) [1–4], а также снижение показателей артериального давления (АД) под влиянием фармакотерапии препаратами ФК [5]. Механизм этой связи часто объясняют повышением чувствительности эндотелия к модуляторам, влияющим на выработку оксида азота [4], в том числе за счет коррекции гипергомоцистеинемии (ГГЦ) [6–9]. Дефицит ФК вызывает ГГЦ и влечет за собой не только понижение функциональной активности клеток, прежде всего нейронов, но и снижение скорости деления и дифференцировки клеток, что важно для гемопоэтических клеток и кишечного эпителия. Нарушения в каждом звене на пути переноса ФК из кишечника в клетку, включая связь с транспортными белками, удержание ФК в тканях с образованием полиглутаматных производных и тетрагидрофолиевой кислоты (ТГФК), генетические дефекты ФК-зависимых ферментов и транспортных белков, депонирование в печени и потери в ходе экскреторной функции почек вносят большой вклад в формирование дефицита ФК [10, 11]. В большинстве случаев нарушение коферментной функции ФК проявляется в виде устойчивого снижения содержания 5-метил-ТГФК в плазме крови [12]. Дефицит ФК и витамина В₁₂ в настоящее время рассматривается в различных областях медицины и биохимии питания, поскольку затрагивает все возрастные группы и является серьезной проблемой общественного здравоохранения во всем мире [13]. Обнаружение доказательных признаков фолиевого дефицита обеспечивает врачу неоспоримые и понятные для пациентов установки для рекомендуемой терапии и для изменения образа жизни. Так как дефицит ФК, в частности, возникает при хронических токсических воздействиях, включая воздействие этанола [14], объективное обнаружение ранних признаков дефицита ФК обеспечивает мотивацию для коррекции пищевых предпочтений и отказа от актуальных зависимостей.

Недостаток ФК в плазме крови чаще всего сопровождается нехваткой ее активной формы ТГФК в тканях, то есть функциональным дефицитом ФК. Вследствие функционального дефицита ФК всегда возникает ГГЦ, но не всякая ГГЦ возникает только из-за недостатка активности метилентетрагидрофолатредуктазы (МТГФР), в составе которой ТГФК выполняет коферментную функцию, обеспечивая реметилирование гомоцистеина (Гци) в метионин [15]. Поэтому, очень важно иметь точное представление о том, когда же ГГЦ связана именно с дефицитом ФК, и какую роль в диагностическом процессе следует закрепить за данными лабораторных исследований. Для этого, в частности, следует остановиться на роли пограничных значений референтных интервалов для содержания ФК в плазме крови и возникновения ГГЦ. Широко известна следующая классификация ГГЦ. Умеренной называют ГГЦ, когда уровень общего гомоцистеина (оГци) находится в пределах от 10–15 до 30 мкМ, промежуточной или средней – от 30 до 100 и тяжелой — выше 100 мкМ [3, 16, 17]. В этой классификации отразилась необходимость определиться с влиянием ГГЦ на прогрессирование атеросклероза, усиление склонности к тромбозам и влияниям на развитие плода [18, 19]. Таким образом, отрицательные токсические воздействия Гци в тканях и крови начинают проявляться при возрастании уровня оГци выше 15

мкМ. При терапии ГГЦ целевой уровень оГци ниже и локализован ближе к значениям в 4–6 мкМ, так как он в большей степени соответствует ожиданиям «правильного» метаболизма коферментных форм витаминов В₆, В₁₂ и ФК [19, 20].

Референтный уровень верхней границы, который связан не с токсическим влиянием самого Гци, а дефицитом ФК до настоящего времени четко не определен. В связи с этим, наибольший интерес для нас представлял анализ сочетания умеренной ГГЦ не только с пониженным, но в особенности с нормальным уровнем ФК. ГГЦ при отсутствии дефицита ФК в крови может объясняться: 1) функциональным дефицитом ФК в виде коферментных форм в клетке, 2) генетическими дефектами ферментов, а не недостатком их коферментных форм, 3) нарушением его утилизации в почках и печени в цистатиониновом метаболическом пути преобразования Гци в другие серосодержащие метаболиты, включая цистеин, таурин, сульфаты, сероводород и другие, 4) недостатком витамина В₁₂.

Целью настоящей работы была оценка значения оГци при умеренной ГГЦ в качестве показателя дефицита ФК в клетке у пациентов с ГБ, в том числе с хронической болезнью почек.

Материал и методы

Сбор клинического материала проводился с апреля по май 2018 года на базе клиник ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И.П. Павлова Минздрава России. В исследование включены образцы крови от 60 пациентов с гипертонической болезнью (ГБ) (17 мужчин и 53 женщины) в возрасте от 32 до 80 лет с распределением по возрасту 61 (45–70) лет, находящихся на стационарном лечении. Критерием включения в исследование было наличие ГБ с преимущественным поражением сердца и/или почек (МКБ 10 I11- I13), офисным АД свыше 130/80 мм рт. ст. и риском сердечно-сосудистых осложнений 1–4. Критериями исключения были: наличие заболеваний печени, эндокринных желез (за исключением сахарного диабета), онкогематологических и других онкопролиферативных заболеваний, острых воспалительных процессов, а также состояние беременности. Анализ состояния почечной функции пациентов с ГБ позволил разделить всех пациентов на две группы. Группу 1 составили пациенты ($n = 31$) без диагностированного заболевания почек и хронической почечной недостаточности. В группу 2 вошло 29 пациентов ГБ в сочетании с хронической болезнью почек (ХБП) со стадиями 1–5. В качестве группы сравнения использованы образцы от 30 здоровых лиц (11 мужчин и 19 женщин), регулярных доноров без артериальной гипертензии в возрасте от 30 лет до 61 года. Критериями включения в группу сравнения были удовлетворительное самочувствие, отсутствие хронических заболеваний в анамнезе, а также признаков острого воспалительного процесса. Все пациенты и доноры давали письменное согласие на анонимное использование получаемых лабораторных данных. Протокол исследования в соответствии с принципами Хельсинкской декларации был одобрен Этическим комитетом ПСПбГМУ им. И.П. Павлова. Демографические и общеклинические данные всех обследованных групп представлены в табл. 1.

Материал исследования — плазма крови, взятой натощак из кубитальной вены до 10 часов утра в вакутейнеры с гепарином в качестве антикоагулянта. Процеду-

Таблица 1

Демографические и общеклинические данные обследованных лиц

Показатель	Пациенты с ГБ	Пациенты с ГБ без ХБП (Группа 1)	Пациенты с ГБ и ХБП (Группа 2)	Группа здоровых лиц / референтный диапазон
Количество наблюдений	60	31	29	30
Мужчины/женщины, n	17/53	6/25	11/18	11/19
Возраст, лет	61 (45–70)	69 (55–77)	45 (35–66)	55 (42–58)
Курение: никогда/ в прошлом/ в настоящем	63%/13%/24%	71%/16%/13%	56%/10%/34%	70%/13%/17%
ОИМ в анамнезе	5%	6%	3%	0
ОНМК в анамнезе	8%	13%	3%	0
НТГ/сахарный диабет	13%/27%	16%/16%	10%/38%	0
АД систолическое, мм рт. ст.	130 (125–150)	130 (130–140)	135 (125–150)	100–130
АД диастолическое, мм рт. ст.	80 (80–90)	80 (80–85)	85 (80–90)	< 80
Антигипертензивная терапия	Да	Да	Да	Нет

Примечания: Собственные данные представлены как медиана (25-75-й перцентили); ГБ – гипертоническая болезнь; ОИМ – острый инфаркт миокарда; ОНМК – острое нарушение мозгового кровообращения; НТГ – нарушение толерантности к глюкозе; АД – артериальное давление.

ру отделения форменных элементов крови проводили в течение 1 часа от момента взятия крови. Кровь центрифугировали 15 минут при 580 g. Образцы плазмы до анализа хранили порциями по 1,0 мл при температуре –80°C. Основные биохимические показатели определяли в клинично-диагностической лаборатории ПСПбГМУ им И.П. Павлова. Содержание глюкозы, креатинина, трансаминаз и С-реактивного белка (СРБ) определяли с помощью стандартных наборов фирмы Roche для биохимического анализатора Cobas Integra 400 Plus. Определение концентрации общего холестерина проводили с использованием наборов реактивов фирмы «Abbott Clinical Chemistry».

Определение ФК. Концентрацию ФК в плазме крови определяли методом конкурентного иммунохемилюминесцентного анализа с использованием наборов реагентов и калибраторов, согласно инструкции производителя (Beckman Coulter Inc., США) и иммуноанализатора Access 2 Immunoassay System той же фирмы. Ключевым этапом данной методики является добавление в качестве реагента фолатсвязывающего белка коровьего молока (ФСБ), который позволяет отделить различные моноглутаматные формы ФК, включая основной компонент — 5-метил-ТГФК, от эндогенных транспортных белков [21]. Показано, что процентное соотношение собственно фолиевой кислоты и 5-метил-ТГФК в индивидуальных образцах может существенно различаться [22]. Далее после добавления конъюгата фолиевой кислоты со щелочной фосфатазой, то есть меченной формы ФК образуются, как меченные, так и не меченные комплексы ФСБ-фолаты. Они связываются первичными моноклональными мышинными антителами к ФСБ. Последующее добавление вторичных — козжих антимышиных антител с субмикронными парамагнитными частицами, позволяет перевести реакцию в твердую фазу. После промывания твердой фазы и добавления хемилюминесцентного субстрата щелочной фосфатазы люцинометрически определяют интенсивность свечения, которая обратно пропорциональна концентрации фолата в пробе. Таким образом, использованный нами метод позволяет оценить суммарный уровень фолатов: как собственно фолиевую кислоту экзогенного происхождения, так и ее производное, которое в основном образуется

внутриклеточно, то есть 5-метил-ТГФК без возможности их дифференцирования. В тексте данной статьи этот суммарный уровень фолатов обозначается как концентрация «ФК». Двусторонний референтный интервал для взрослых здоровых лиц составлял 13,4–56,2 нМ. Содержание ФК в плазме крови выше 45,3 нмоль/л рассматривали как значение для «неметаболизированной ФК» или НМФК [23].

Определение концентрации витамина В₁₂. Концентрацию витамина В₁₂ определяли в плазме крови методом конкурентного иммунохемилюминесцентного анализа с использованием наборов реагентов и калибраторов, согласно инструкции производителя и иммуноанализатора Access 2 (Beckman Coulter Inc., США). Данный метод позволяет определить суммарное содержание метил-, дезоксиадеинозил- и цианокобаламина, т.е. большинства форм витамина В₁₂. Референтный диапазон здоровых лиц составляет 133–675 пМ.

Концентрацию общего гомоцистеина в плазме осуществляли методом жидкостной хроматографии, как описано нами ранее [17, 24].

Статистическую обработку результатов выполняли с использованием пакета программ Statistica 10. Степень соответствия закона распределения данных нормальному распределению оценивали с помощью критериев Шапиро–Уилка и Колмогорова–Смирнова. Данные представлены в виде медианы и межквартильного размаха (Me(Q1–Q3)). Для оценки межгрупповых различий использован непараметрический критерий Манна–Уитни. В случае сравнения нескольких независимых групп использовали тест Краскела–Уоллиса с поправкой Бонферрони. Корреляционный анализ проведен с применением критерия Спирмена. Критический уровень достоверности нулевой статистической гипотезы принимали равным 0,05.

Результаты

Данные о биохимических показателях обследованных лиц отражены в табл. 2. У 28 из 60 обследованных пациентов отмечен пониженный уровень ФК. Содержание витамина В₁₂ в плазме крови пациентов групп 1 и 2 между собой достоверно не различалось и колебалось у большинства пациентов в референтном диапазоне. По

Таблица 2

Биохимические отклонения у обследованных лиц

Показатель	Подгруппа пациентов с ГБ без ХБП	<i>p</i>	Подгруппа пациентов с ГБ с ХБП	Группа здоровых лиц / референтный диапазон
Количество наблюдений	31		29	30
Фолиевая кислота в плазме, нМ	14,4 (10,7–22,7)	0,48	13,5 (11,5–14,5)	> 14,9
Общий гомоцистеин в плазме, мкМ*	11,9 (7,5–14,1)	0,012	15,8 (10,5–25,7)	8,1 (6,5–10,9) / < 12,0
Витамин В ₁₂ в плазме, пМ	292 (148–432)	0,80	233 (183–375)	133–675
Креатинин, мкМ		<0,001		
мужчины	0,067 (0,063–0,089)		0,270 (0,175–0,662)	0,053–0,106
женщины	0,065 (0,058–0,079)		0,126 (0,083–0,215)	0,044–0,097
СКФ, мл/мин	84 (72–93)	<0,001	30 (17–75)	> 90
Мочевина, мМ	5,3 (4,3–6,5)	<0,001	11,6 (5,9–19,3)	2,9–7,5
Глюкоза, мМ	5,2 (4,8–5,7)	0,55	5,1 (4,6–6,6)	4,6–6,1
Общий холестерин, мМ	4,8 (4,1–5,6)	0,56	5,1 (4,0–6,3)	3,5–5,5
АлАТ, Ед/л	16 (12–20)	0,73	14 (11–19)	До 40
АсАТ, Ед/л	17 (15–20)	0,71	18 (15–21)	До 42
Фибриноген, г/л	4,0 (3,2–4,4)	0,54	3,6 (2,9–4,3)	1,8–3,5
СРБ, мг/л	4,2 (3,0–18,3)	0,85	5,7 (0,8–24,0)	0,1–8,2

Примечания: Собственные данные представлены как медиана (25–75-й перцентили); ГБ — гипертоническая болезнь; ХБП — хроническая болезнь почек; СКФ — скорость клубочковой фильтрации; СРБ — С-реактивный белок. * Статистическая значимость различия между всеми пациентами и группой здоровых лиц согласно тесту Краскела–Уоллиса с поправкой Бонферрони составила $p = 0,0012$.

повышенному уровню мочевины, креатинина и снижению скорости клубочковой фильтрации значительно выделялась группа 2. Уровни глюкозы, холестерина, С-реактивного белка, фибриногена и активности трансаминаз между группами пациентов существенно не различались.

Согласно полученным данным (рис. 1) уровень оГци у всех пациентов обратно коррелировал с уровнем ФК в крови ($R_s = -0,39$; $p = 0,002$). Только у одного пациента из группы 1 уровень ФК превышал значение, принятое для НМФК, равное 45,3 нМ. У этого пациента уровень оГци составил 4,4 мкМ, а ФК — 59 нМ.

Как следует из данных табл. 2, у 75% доноров уровень оГци не превышал 10,9 мкМ. Этот уровень мы приняли за верхнюю границу референтного интервала содержания оГци у лиц старшей возрастной группы без патологических отклонений. Исходя из этого значения, умеренная ГГЦ обнаружена у 45 пациентов из 60. У пациентов 1 группы умеренная ГГЦ обнаружена у 18 пациентов, а пониженное содержание ФК — у 14. У 4 пациентов 1 группы недостаток ФК в плазме не подтверждался повышенным уровнем оГци, а у 9 — обнаружено повышение оГци 12,9 (12,5–19,0) мкМ при отсутствии недостатка ФК в плазме крови — 22,6 (15,8–26,6) нМ. Таким образом, дефицит ФК не всегда совпадал с ГГЦ, а отсутствие дефицита ФК в плазме не всегда совпадало с отсутствием ГГЦ.

Необходимо отметить, что уровень оГци с возрастом имеет тенденцию значительно возрастать (рис 2, А). У пациентов второй группы по сравнению с донорами и пациентами первой группы отмечали значительно более высокий уровень оГци (рис. 2, Б). Достоверных отличий по уровням ФК между 1 и 2 группами пациентов не было обнаружено (см. табл. 2). Снижение уровня ФК в группе 2 обнаружена у 8 пациентов. Отрицательная корреляция между уровнями ФК и оГци в группе 2 ($R_s = -0,53$; $p = 0,003$) была более выражена, чем в группе 1 ($R_s = -0,33$; $p = 0,07$). Во второй группе пациентов обнаружена тес-

ная отрицательная корреляционная связь между скоростью клубочковой фильтрации (СКФ) и уровнем оГци ($R_s = -0,75$; $p = 1 \times 10^{-6}$), но отсутствовала положительная корреляция с уровнем ФК ($R_s = 0,33$; $p > 0,05$). Эта закономерность проявлялась также у всех обследованных пациентов (рис. 3 А, Б).

Обсуждение

Как показано в настоящем исследовании уровень оГци с возрастом у здоровых доноров постепенно возрастает, оставаясь в большинстве случаев не выше 10,9 мкМ (референтные интервалы см. табл. 2). Согласно данным [26, 27] уровни оГци у лиц старше 60 лет в среднем составляют $10,5 \pm 5,5$ мкМ ($11,4 \pm 6,1$ для мужчин и $9,3 \pm 4,5$ для женщин), что показывает отсутствие разницы по этому показателю у здоровых доноров нашего региона в возрасте 55–61 год. Референтная граница в 10,9 мкМ обозначает уровень оГци, начиная от которого у паци-

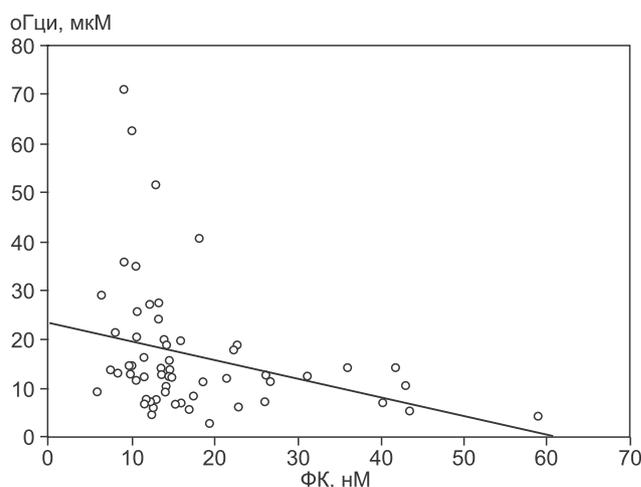


Рис. 1. Корреляция между содержанием оГци и уровнем фолиевой кислоты у обследованных пациентов ($R_s = -0,39$; $p = 0,002$).

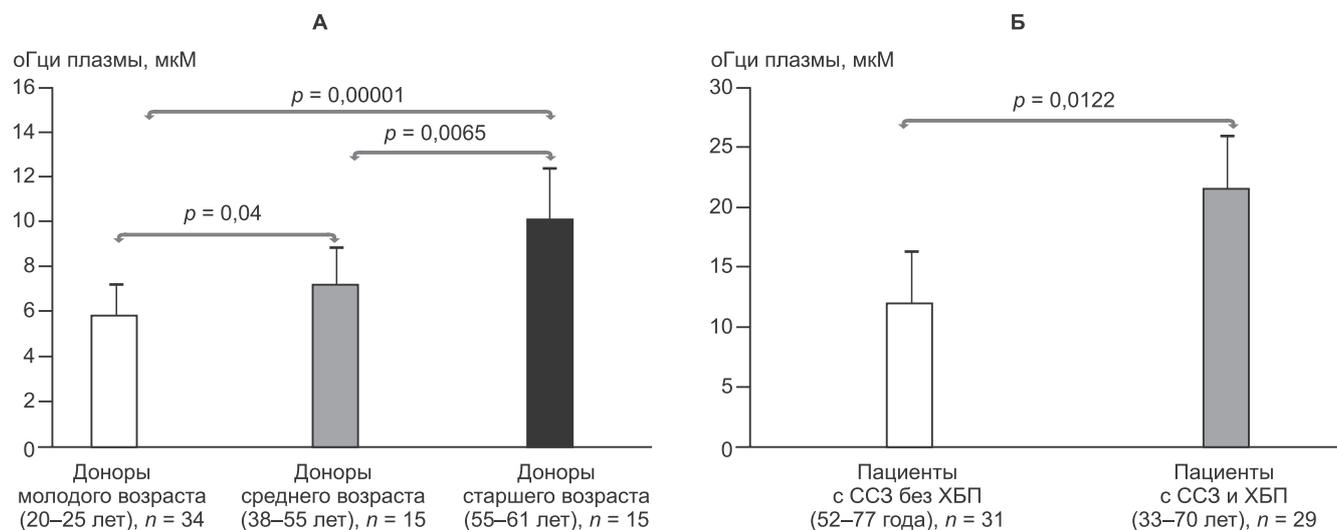


Рис. 2. Содержание оГци у здоровых доноров — жителей Санкт-Петербурга разных возрастных групп (А). Сведения о донорах молодого возраста приводятся согласно А.А. Жлоба и соавт., 2016 г. [25] (Б). Содержание оГци у обследованных пациентов с артериальной гипертензией без ХБП (1 группа) и с ХБП (2 группа).

ентов возникает ГГЦ относительно здоровых доноров близких по возрасту.

Пациенты, включенные нами в исследование, не получали до обследования лекарственные формы ФК, и у них закономерно обнаружена отрицательная связь уровня оГци с содержанием ФК. При этом обращает на себя внимание по результатам нашего исследования наличие ГГЦ у 9 пациентов из первой группы и у 8 из второй при отсутствии дефицита ФК в плазме крови. Врач, имеющий дело персонально с каждым пациентом, может предположить, что имеет дело со случаем недостаточного поступления ФК в клетки или недостаточную коферментную функцию ФК в цитоплазме клеток, то есть функциональный дефицит ФК. Следует учитывать также возможность пониженной активности МТГФР в клетке вследствие наследственных энзимопатий. В результате мутаций встречаются формы апофермента МТГФР с пониженным сродством к ТГФК или флавиновому коферменту, что в конечном итоге также приводит к ФК-дефицитному состоянию, которое нивелируется повышенными дозами препаратов ФК [28]. В этих условиях функциональный дефицит ФК обнаруживается при

помощи определения оГци. С другой стороны у нескольких пациентов с пониженным уровнем ФК не встречалась ГГЦ, то есть у них не было функционального дефицита ФК. Определение оГци ниже 10,9 мкМ может использоваться для документирования отсутствия функционального дефицита ФК при ее пониженном уровне в плазме. Эта ситуация нами была обнаружена у 5 из 60 обследованных пациентов. Таким образом, обнаружение умеренной ГГЦ или её отсутствие позволяет определить с наличием или отсутствием функционального дефицита ФК. Объективная оценка начала формирования функционального дефицита ФК особенно важна в свете частой встречаемости дефицита ФК при АГ [1, 2, 4, 8]. Доказана более частая встречаемость нехватки ФК по сравнению с V_{12} [8, 29, 31]. Роль почек в метаболизме Гци весьма значительна, преимущественно за счет большой метаболической активности цистатионинового пути утилизации Гци с образованием цистеина и других серосодержащих метаболитов — цистеина, таурина, сульфатов и сероводорода [32]. В нашей работе обнаружена четкая взаимозависимость метаболической и экскреторной функции почек, которая проявилась в корре-

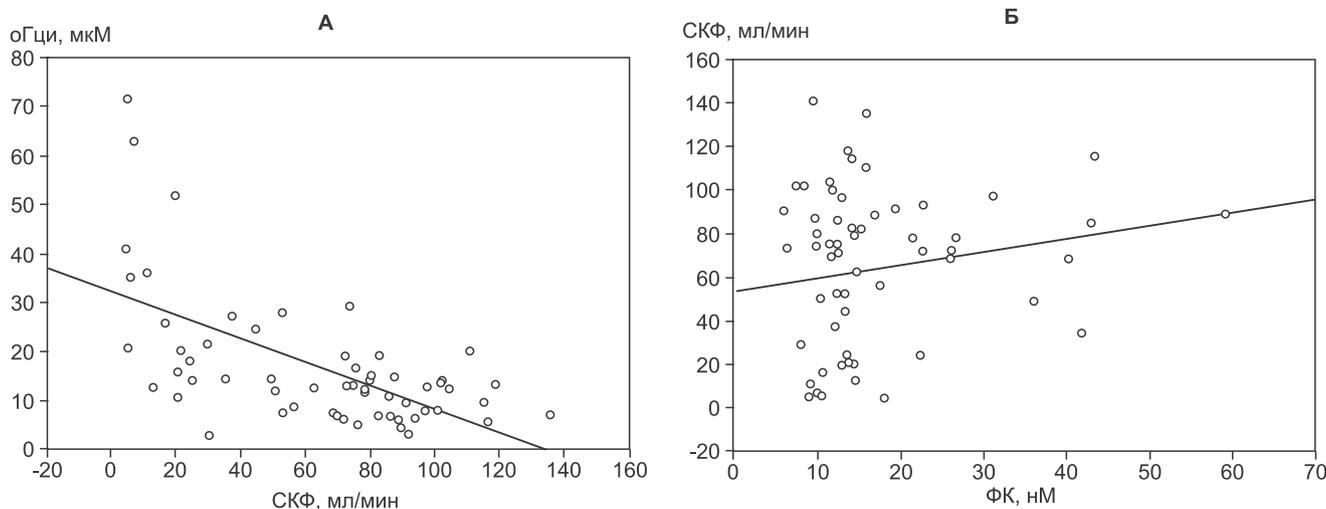


Рис. 3. Корреляция между содержанием оГци и скоростью клубочковой фильтрации у обследованных пациентов ($R_s = -0,58$; $p = 0,0012$) (А). Отсутствие достоверной связи скорости клубочковой фильтрации и уровня фолиевой кислоты ($R_s = 0,15$; $p > 0,05$) (Б).

Таблица 3

Алгоритм исключения функционального недостатка ФК в тканях по результатам тестов ФК, оГци плазмы/сыворотки*

ФК, нМ	оГци, мкМ		
	< 13,4	13,4–45,3	> 45,3
<10,9	Отсутствие недостатка ТГФК в цитоплазме клеток. МТГФР достаточно активна		Обычно бывает на фоне лечения препаратами ФК. Применение ФК исключить
10,9–25,0 Умеренная ГГЦ	Допустимо применение ФК	Применение ФК не требуется	
25–100 Промежуточная ГГЦ	Дефицит ФК в плазме имеется. Необходимо применение препаратов ФК	Наблюдается дефицит коферментной функции ФК в составе МТГФР**. Перспективно применение препарата метил-ТГФК [23]	ФК метаболизируется не полностью (НМФК) [23] Необходимо: • применение ФК исключить; • определить СКФ; • выявить возможные мутации в генах <i>MTHFR</i> и <i>CBS</i> ; • определить уровень метилмалоновой кислоты в плазме
25–100 Промежуточная ГГЦ	При резистентной ГГЦ наиболее вероятны гомозиготные формы мутаций в генах <i>MTHFR</i> и/или <i>CBS</i> , либо тяжелые нарушения функции почек. Заключение о функциональном дефиците ФК невозможно из-за энзимопатий. Возможно уточняющее применение препаратов ФК [28]		

Примечание. *Определение витамина В₁₂ плазмы должно быть выполнено для исключения ГГЦ за счет пониженной В₁₂ коферментной функции, в редких случаях при ГГЦ необходимо тестировать уровень метилмалоновой кислоты [38]; **при резистентной ГГЦ может быть обнаружен генетический дефект МТГФР.

лляции уровня оГци и скорости клубочковой фильтрации (СКФ). Утилизация Гци в цистатиониновом пути дополняется реметилированием этого аминотиола в метионин с участием фолатзависимого фермента — МТГФР [16]. При нарушении экскреторной функции почек часто обнаруживают отклонения в метаболической функции других органов, в том числе тормозится всасывание, депонирование и удержание производных ФК в клетке [33, 34]. ГГЦ при ХБП прогрессирует не только за счет торможения цистатионинового пути, но и за счет аллоsterической регуляции в патологических условиях, при которой нарушается фосфорилирование по треонину (Thr-34) МТГФР и, соответственно, повышается внутриклеточное соотношение S-аденозилгомоцистеина к S-аденозилметионину и из клетки нарастает поток свободного Гци. В этом явлении S-аденозилметионин функционирует не только как аллоsterический ингибитор МТГФР, но также контролирует фосфорилирование фермента [35]. Применение препаратов ФК у этих пациентов несколько снижает ГГЦ, которая остается высокой [33]. Наряду с другими путями борьбы с ГГЦ, при хронических заболеваниях почек всегда предусматривается включение в терапию препаратов ФК [36].

Проведенное исследование также показало, что при получении результата с уровнем ФК и витамина В₁₂ плазмы в пределах референтного интервала у пациентов может обнаруживаться умеренное, выше 10,9 мкМ, повышение уровня оГци, свидетельствующее о недостатке фолиевозависимой активности в реметилировании Гци в тканях (табл. 3). Это умеренное повышение уровня оГци вероятнее всего связано с нехваткой ТГФК в клетках в случае, если отсутствует нарушение функции почек. В случае же наследственных энзимопатий характерен более высокий уровень оГци, чем у пациентов с наблюдаемой нами умеренной ГГЦ в пределах от 10,9 до 14,1 мкМ. Подчеркнем еще раз, что оценка статуса ФК в организме должна происходить при учете данных о витамине В₁₂ и с учетом предыдущих результатов определения ФК и оГци [37].

Суммируя полученные и другие имеющиеся данные, следует учитывать, что метаболический дефицит ФК без понижения в её уровня в плазме у пациентов с ГБ проявлялся в повышении уровня оГци выше 10,9 мкМ. При этом у пациентов не обнаруживалось понижения уровня витамина В₁₂ и снижения СКФ. Следует отметить, что

пациентов с умеренной ГГЦ и содержанием ФК в плазме крови выше 45,3 нмоль/л следует рассматривать как группу с «неметаболизированной ФК» или НМФК, или как группу с unmetabolized folic acid (UMFA) согласно [23]. Как указывают эти авторы, НМФК наблюдается на практике, когда лечение ФК в дозе 400 мкг в сутки в течение 14 недель не вызывает клинических положительных эффектов, несмотря на значительное повышение уровня ФК в плазме крови. В случае умеренного повышения оГци при содержании ФК от 13,4 и до 45,3 нМ (как это было в 9 случаях из 31 обследованных пациентов с ГБ без ХБП), то эту ситуацию следует рассматривать как потенциально перспективное состояние для терапии ФК. С учетом определения уровня ФК обозначающего переход в состояние НМФК нами предложен алгоритм определения функционального дефицита ФК (см. табл. 3).

Как следует из данных табл. 3, внимание следует уделять случаям отсутствия ГГЦ при низком уровне ФК (ниже 13,4 нМ), что связано с особенностями метаболизма и свойствами МТГФР конкретного пациента. В этих случаях недостатка 5-метилТГФК в цитоплазме клеток не наблюдается для обеспечения реметилирования Гци. Суммируя изложенное, можно заключить, что после определения содержания ФК в плазме крови, следует не назначать препараты этого витамина, если его концентрация превышает 45,3 нмоль/л. Это связано с тем, что влияния на скорость реакций, зависящих от коферментных форм ФК, с большой вероятностью, оказано не будет даже в случае ГГЦ. Возможные причины ГГЦ в этом случае могут зависеть от мутаций генов МТГФР и цистатионинбета-синтазы, недостатка витамина В₁₂ и других ассоциированных с метаболизмом этих витаминов белков, а также нарушения метаболизма бетаинов. При меньших значениях содержания ФК (ниже 45,3 нмоль/л) в плазме крови и при ГГЦ выше 10,9 мкМ следует использовать препараты ФК, применяя их до понижения уровня ФК в плазме ниже 10,9 мкМ.

Вывод

Используемый часто уровень оГци в 15 мкМ для обозначения начального пункта умеренной ГГЦ связан с нарастанием токсических концентраций самого Гци. Для определения функционального дефицита ФК при отсутствии пониженного уровня ФК в плазме крови следует использовать уровень оГци выше 10,9 мкМ.

Благодарности. Авторы выражают благодарность ме-неджеру ПСПбГМУ им. И.П. Павлова за поддержку в организации исследования.

Финансирование. Исследование выполнено в рамках выполнения государственного задания.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

(п.п. 2-5, 8-15, 21-24, 26-35, 37 см. REFERENCES)

- Полтавцева О.В., Нестеров, Ю.И., Тепляков А.Т. Гомоцистеинемия у пациентов с артериальной гипертензией и цереброваскулярными осложнениями. *Сибирский медицинский журнал*. 2012; 27(4): 37-41.
- Мухин Н.А., Моисеев С.В., Фомин В.В. Гипергомоцистеинемия — кардиоваскулярные проблемы нефрологических больных. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2002; 1(3): 85-93.
- Мухин Н.А., Моисеев С.В., Фомин В.В. Гипергомоцистеинемия как фактор риска развития заболеваний сердечно-сосудистой системы. *Клиническая медицина*. 2001; 6: 7-13.
- Кулюцина Е.Р., Татарченко И.П., Левашова О.А., Денисова А.Г., Дружинина Т.А. Взаимосвязь показателей гомоцистеина и генетических полиморфизмов, обуславливающих нарушения обмена фолатов у здорового населения. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2017; 62(2): 82-7.
- Жлоба А.А. Лабораторная диагностика при гипергомоцистеинемии. *Клинико-лабораторный консилуим*. 2009; 26(1): 49-60.
- Медведев Д.В., Звягина В.И. Молекулярные механизмы токсического действия гомоцистеина. *Кардиологический вестник*. 2017; 12(1): 52-7.
- Андрианова М.Ю., Ройтман Е.В., Исаева А.М., Колесникова И.М., Нуреев М.В. Патогенетическое и клиническое обоснование комплексной профилактики гипергомоцистеинемии. *Архивъ внутренней медицины*. 2014; 18(4): 32-8.
- Мирошниченко И.И., Птицина С.Н., Кузнецова Н.Н., Калмыков Ю.М. Гомоцистеин — предиктор патологических изменений в организме человека. *Рус. Мед. Журнал*. 2009; 17(4): 224-7.
- Жлоба А.А., Субботина Т.Ф., Алексеевская Е.С., Моисеева О.М., Гаврилюк Н.Д., Иртыга О.Б. Уровень циркулирующего PGC1a при сердечно-сосудистых заболеваниях. *Биомедицинская химия*. 2016; 62(2): 198-205.
- Смирнов А.В., Добронравов В.А., Жлоба А.А., Голубев Р.В. Новый способ коррекции гипергомоцистеинемии у больных, получающих лечение хроническим гемодиализом. *Нефрология*. 2006; 10(3): 31-7.
- Жлоба А.А., Маевская Е.Г., Катышева Н.С. Метилмалоновая ацидемия и аминокислоты - источник метилмалоновой кислоты и интермедиатов цикла Кребса у лиц старшего возраста. *Клиническая геронтология*. 2012; 18(5-6): 35-9.
- Mukhin N.A., Moiseev S.V., Fomin V.V. Hyperhomocysteinemia is a cardiovascular problem of nephrological patients. *Kardiovaskulyarnaya terapiya i profilaktika*. 2002; 1(3): 85-903 (in Russian)
- Mukhin N.A., Moiseev S.V., Fomin V.V. Hyperhomocysteinemia as a risk factor for the development of diseases of the cardiovascular system. *Klinicheskaya meditsina*. 2001; 6: 7-13. (in Russian)
- Scazzone C., Bono A., Tornese F., Arsena R., Schillaci R., Butera D., Cottone S. Correlation between low folate levels and hyperhomocysteinemia, but not with vitamin B12 in hypertensive patients. *Ann. Clin. Lab. Sci.* 2014; 44(3): 286-90.
- Sudchada P., Saokaew S., Sridetch S., Incampa S., Jaiyen S., Khaithong W. Effect of folic acid supplementation on plasma total homocysteine levels and glycemic control in patients with type 2 diabetes: A systematic review and meta-analysis. *Diabetes Res. Clin. Pract.* 2012; 98(1): 151-8.
- Blom H.J., Smulders Y. Overview of homocysteine and folate metabolism. With special references to cardiovascular disease and neural tube defects. *J. Inherit. Metab. Dis.* 2011; 34(1): 75-81. doi: 10.1007/s10545-010-9177-4.
- Bailey S.W., Ayling J.E. The extremely slow and variable activity of dihydrofolate reductase in human liver and its implications for high folic acid intake. *Proc Natl. Acad. Sci. U S A*. 2009; 106(36): 15424-9. doi: 10.1073/pnas.0902072106.
- Sobczyńska-Malefora A., Harrington D.J., Voong K., Shearer M.J. Plasma and red cell reference intervals of 5-methyltetrahydrofolate of healthy adults in whom biochemical functional deficiencies of folate and vitamin B12 had been excluded. *Adv. Hematol.* 2014; 2014: 465623. doi: 10.1155/2014/465623.
- Yang S., Lee J., Park Y., Lee E.K., Hwangbo Y., Ryu J. et al. Interaction between alcohol consumption and methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms in thyroid cancer risk: National Cancer Center cohort in Korea. *Sci. Rep.* 2018; 8(1): 4077.
- Halsted C.H., Villanueva J.A., Devlin A.M., Chandler C.J. Metabolic interactions of alcohol and folate. *J. Nutr.* 2002; 132(8 Suppl): 2367S-72S. doi: 10.1093/jn/132.8.2367S.
- Tao L.X., Yang K., Wu J., Mahara G., Zhang J., Zhang J.B. et al. Association between plasma homocysteine and hypertension: Results from a cross-sectional and longitudinal analysis in Beijing's adult population from 2012 to 2017. *Clin. Hypertens. (Greenwich)*. 2018; 20(11): 1624-32. doi: 10.1111/jch.13398.
- Kulyutsina E.R., Tatarchenko I.P., Levashova O.A., Denisova A.G., Druzhinina T.A. The relationship of homocysteine and genetic polymorphisms, causing disturbances of folate metabolism in a healthy population. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2017; 62(2): 82-7. (in Russian)
- Zhloba A.A. Laboratory diagnosis of hyperhomocysteinemia. *Kliniko-laboratorny konsilium*. 2009; 26(1): 49-60. (in Russian)
- Medvedev D.V., Zvjagina V.I. Molecular mechanisms of homocysteine toxicity. *Kardiologicheskij vestnik*. 2017; 12(1): 52-7. (in Russian)
- Andrianova M.Ju., Rojtmán E.V., Isaeva A.M., Kolesnikova I.M., Nureev M.V. Pathogenetic and clinical rationale for the complex prevention of hyperhomocysteinemia. *Arhiv vnutrennej mediciny*. 2014; 18(4): 32-8. (in Russian)
- Miroshnichenko I.I., Pticina S.N., Kuznecova N.N., Kalmykov Ju.M. Homocysteine as a predictor of pathological changes in the human body. *Rus. Med. Zhurnal*. 2009; 17(4): 224-7. (in Russian)
- Nygren-Babol L., Jägerstad M. Folate-binding protein in milk: A review of biochemistry, physiology, and analytical methods. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 2012; 52(5): 410-25. doi: 10.1080/10408398.2010.500499.
- Kalmbach R.D., Choumenkovitch S.F., Troen A.M., D'Agostino R., Jacques P.F., Selhub J. Circulating folic acid in plasma: Relation to folic acid fortification. *Am. J. Clin. Nutr.* 2008; 88(3): 763-8.
- Servy E., Menezo Y. The methylene tetrahydrofolate reductase (MTHFR) isoform challenge. High doses of folic acid are not a suitable option compared to 5-Methyltetrahydrofolate treatment. *Clin. Obstet. Gynecol. Reprod. Med.* 2017; 3(6): 1-5. DOI: 10.15761/COGRM.1000204.
- Zhloba A.A., Subbotina T.F. Homocysteinylaton score of high-molecular weight plasma proteins. *Amino Acids*. 2014; 46(4): 893-9.
- Zhloba A.A., Subbotina T.F., Alekseevskaja E.S., Moiseeva O.M., Gavriljuk N.D., Irtyga O.B. The level of circulating PGC1a in cardiovascular diseases. *Biomeditsinskaya himiya*. 2016; 62(2): 198-205. (in Russian)

REFERENCES

- Poltavtseva O.V., Nesterov, Yu.I., Teplyakov A.T. Homocysteinemia in patients with arterial hypertension and cerebrovascular complications. *Sibirskiy meditsinskiy zhurnal*. 2012; 27(4): 37-41 (in Russian)
- Baszczuk A., Thielemann A., Musialik K., Kopczyński J., Bielawska L., Dzumak A. et al. The impact of supplementation with folic acid on homocysteine concentration and selected lipoprotein parameters in patients with primary hypertension. *J. Nutr. Sci. Vitaminol. (Tokyo)*. 2017; 63(2): 96-103. doi: 10.3177/jnsv.63.96
- Han L., Liu Y., Wang C., Tang L., Feng X., Astell-Burt T. et al. Determinants of hyperhomocysteinemia in healthy and hypertensive subjects: A population-based study and systematic review. *Clin. Nutr.* 2017; 36(5): 1215-30.
- Shen M., Tan H., Zhou S., Retnakaran R., Smith G.N., Davidge S.T. et al. Serum folate shows an inverse association with blood pressure in a cohort of Chinese women of childbearing age: A cross-sectional study. *PLoS ONE*. 2016; 11(5): e0155801. Doi:10.1371/journal.pone.0155801.
- Qin X., Li Y., He M., Tang G., Yin D., Liang M. et al. Folic acid therapy reduces serum uric acid in hypertensive patients: A substudy of the China stroke primary prevention trial (CSPPT) *Am. J. Clin. Nutr.* 2017; 105(4): 882-9. doi: 10.3945/ajcn.116.143131.

26. Dankner R., Chetrit A., Lubin F., Sela B.A. Life-style habits and homocysteine levels in an elderly population. *Aging Clin. Exp. Res.* 2004; 16(6): 437-42.
27. Venn B.J., Mann J.I., Williams S.M., Riddell L.J., Chisholm A., Harper M.J. et al. Assessment of three levels of folic acid on serum folate and plasma homocysteine: A randomised placebo-controlled double-blind dietary intervention trial. *Eur. J. Clin. Nutr.* 2002; 56(8): 748-54.
28. Goyco Ortiz L.E., Servy E.J., Menezo Y.J.R. A successful treatment with 5-methyltetrahydrofolate of a 677 TT MTHFR woman suffering premature ovarian insufficiency post a NHL (non-Hodgkin's lymphoma) and RPL (repeat pregnancy losses). *J. Assist. Reprod. Genet.* 2019; 36(1): 65-7. doi: 10.1007/s10815-018-1332-0.
29. Wald D.S., Bishop L., Wald N.J., Law M., Hennessy E., Weir D. et al. Randomized trial of folic acid supplementation and serum homocysteine levels. *Arch. Intern. Med.* 2001; 161(5): 695-700.
30. Homocysteine Lowering Trialists' Collaboration. Dose-dependent effects of folic acid on blood concentrations of homocysteine: A meta-analysis of the randomized trials. *Am. J. Clin. Nutr.* 2005; 82(4): 806-12.
31. Homocysteine Lowering Trialists' Collaboration. Lowering blood homocysteine with folic acid based supplements: meta-analysis of randomized trials. *B. M. J.* 1998; 316(7135): 894-8.
32. Zhu H., Blake S., Chan K.T., Pearson R.B., Kang J. Cystathionine β -synthase in physiology and cancer. *BioMed. Research International*. 2018; 2018: Article ID 3205125, 11 pages. <https://doi.org/10.1155/2018/3205125>.
33. van Guldener C. Why is homocysteine elevated in renal failure and what can be expected from homocysteine-lowering?, *Nephrol. Dial. Transplant.* 2006; 21(5): 1161-6. doi:10.1093/ndt/gfl044.
34. Cianciolo G., de Pascalis A., di Lullo L., Ronco C., Zannini C., la Manna G. Folic acid and homocysteine in chronic kidney disease and cardiovascular disease progression: Which comes first? *Cardiorenal. Med.* 2017; 7(4): 255-66. doi: 10.1159/000471813.
35. Yamada K., Strahler J.R., Andrews P.C. Matthews R.G. Regulation of human methylenetetrahydrofolate reductase by phosphorylation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 2005; 102(30): 10454-9.
36. Smirnov A.V., Dobronravov V.A., Zhloba A.A., Golubev R.V. New method of correction of hyperhomocysteinemia in patients receiving treatment with chronic hemodialysis. *Nefrologiya*. 2006; 10(3): 31-7. (in Russian)
37. Sobczyńska-Malefora A., Harrington D.J. Laboratory assessment of folate (vitamin B9) status. *J. Clin. Pathol.* 2018; 71(11): 949-56. doi: 10.1136/jclinpath-2018-205048.
38. Zhloba A.A., Maevskaja E.G., Katysheva N.S. Methylmalonic acidemia and amino acids-sources of methylmalonic acid and intermediates of Krebs cycle in older people. *Klinicheskaya gerontologiya*. 2012; 18(5-6): 35-9. (in Russian)

Поступила 04.03.19
Принята к печати 25.06.19