Ukrainian Journal of Nephrology and Dialysis

Scientific and Practical, Medical Journal

Founders:

- State Institution «Institute of Nephrology NAMS of Ukraine»
- National Kidney Foundation of Ukraine

ISSN 2304-0238;
eISSN 2616-7352

Journal homepage: https://ukrjnd.com.ua

Research Article

doi: 10.31450/ukrjnd.4(60).2018.05

O. Kuchmenko[1,2,3], L. Mkhytaryan[1,2], I. Ievstratova[1], O. Matova[1], V. Vasylchenko[3]

The possibility of using citrulline as a new biochemical marker to evaluate the state of kidney under cardiovascular pathologies

[1]SI "National Scientific Center "Strazhesko Institute of Cardiology" NAMS of Ukraine,
[2] Gogol Nizhyn State University,
[3]National University of Kyiv-Mohyla Academy

Citation: Kuchmenko O, Mkhytaryan L, Ievstratova I, Matova O, Vasylchenko V. The possibility of using citrulline as a new biochemical marker to evaluate the state of kidney under cardiovascular pathologies. Ukr J Nephr Dial. 2018;4(60):35-39. doi: 10.31450/ukrjnd.4(60).2018.05

Abstract. *The aim of our work was to study the level of citrulline in serum as a biochemical marker of the functional state of the kidneys in patients with cardiovascular pathologies.*

Methods. The study included 134 patients aged 41-68 years, of which 40 patients with stage II arterial hypertension (AG-II) and 62 patients with chronic heart failure (AG in combination with chronic ischemic heart disease) in the IIa and IIb stages. The control group included 32 practically healthy persons of the corresponding age. Along with standard diagnostic methods, the content of citrulline in serum was determined. Statistical analysis was performed using SPSS 10.0 for Windows.

Results. There is a direct relationship between the increase in the content of citrulline and the severity of changes in the parameters of the functional state of the kidneys in patients with AG-II and CHF. At the same time, the fact that the content of citrulline in serum is much higher compared to the control values in patients with normal values of GFR, creatinine and microalbuminuria. As the increase in the content of citrulline directly correlates with the degree of deterioration of the functional state of the kidneys, and the kidneys are the only organ that regulates and controls the exchange of citrulline, the increase in its level in serum can be primarily associated with changes in kidney function in the examined patients.

Conclusions. The content of citrulline in serum can be used as an additional marker for the presence of functional renal impairment in patients with cardiovascular and other diseases of the internal organs, especially in the early stages of development, as well as to assess the efficacy and safety of the use of drugs. This indicator needs further study involving more patients with different pathologies of the cardiovascular system and simultaneous monitoring of the functional status of the kidneys by standardized methods.

Article history:
Received 10 July 2018
Received in revised form 23 August 2018
Accepted 03 September 2018

Key words: *citrulline, creatinine, GFR, arterial hypertension, chronic heart failure.*

Conflict of interest statement: the authors declared no competing interests.

© O. Kuchmenko, L. Mkhytaryan, I. Ievstratova, O. Matova, V. Vasylchenko, 2018.
All rights reserved.

Correspondence should be addressed to Olena Kuchmenko: kuchmeb@yahoo.com

(cc) BY-SA

© Кучменко О. Б., Мхітарян Л. С., Євстратова І. Н., Матова О. О., Васильченко В. С., 2018

УДК 616.12 – 616.61

О.Б. Кучменко[1,2,3], Л.С. Мхітарян[1,2], І.Н. Євстратова[1], О.О. Матова[1], В.С. Васильченко[3]

Можливість використання цитруліну як нового біохімічного маркеру оцінки стану нирок у пацієнтів з серцево-судинною патологією

[1]ДУ «Національний науковий центр «Інститут кардіології ім. М.Д.Стражеска НАМН України», м. Київ

[2]Ніжинський державний університет імені Миколи Гоголя, м. Ніжин

[3]Національний університет «Києво-Могилянська академія»

Резюме. *Метою нашої роботи було дослідження рівня цитруліну в сироватці крові як біохімічного маркера функціонального стану нирок у пацієнтів з серцево-судинними патологіями.*

Методи. В дослідження було включено 134 пацієнта у віці 41 – 68 років, із них 40 пацієнтів з артеріальною гіпертензією II стадії (АГ-II) і 62 пацієнта з хронічною серцевою недостатністю (АГ в сукупності з хронічною ішемічною хворобою серця) IIа і IIб стадії. Група контролю включала 32 практично здорові особи відповідного віку. Поряд із стандартними діагностичними методами визначали вміст цитруліну в сироватці крові. Статистичний аналіз проводився за допомогою програми SPSS 10.0 для Windows.

В результаті проведених досліджень було продемонстровано значне зростання вмісту цитруліну в сироватці крові у пацієнтів з АГ-II і ХСН. Спостерігається пряма залежність між зростання вмісту цитруліну і ступеню вираженості змін показників функціонального стану нирок у пацієнтів з АГ-II і ХСН. При цьому звертає на себе той факт, що вміст цитруліну в сироватці крові є значно вищим порівняно з контрольними значеннями у пацієнтів з нормальними величинами ШКФ, креатиніна і альбумінурії. Оскільки зростання вмісту цитруліну прямо корелює зі ступенем погіршення функціонального стану нирок, а нирки є єдиним органом, що регулює і контролює обмін цитруліну, то зростання його рівня в сироватці крові в першу чергу можна пов'язати зі змінами функцій нирок у обстежених пацієнтів.

Висновки. вміст цитруліну в сироватці крові може бути використаний як додатковий маркер наявності порушень функціонального стану нирок у пацієнтів із серцево-судинними та іншими захворюваннями внутрішніх органів, особливо на ранніх стадіях розвитку, а також для оцінки ефективності і безпечності використання лікарських засобів. Даний показник потребує подальшого вивчення із залученням більшої кількості пацієнтів з різними патологіями серцево-судинної системи та одночасним моніторингом функціонального стану нирок стандартизованими методами.

Ключові слова: *цитрулін, креатинін, ШКФ, артеріальна гіпертензія, хронічна серцева недостатність.*

Вступ. Амінокислота цитрулін є однією із важливих регуляторів проміжного обміну речовин в організмі. Вперше вона була виділена із соку кавуна звичайного в 40-х роках XX ст. Ця амінокислота є потужним антиоксидантом, завдяки чому вона з високою ефективністю може захищати різні молекули від окислювальної модифікації [1, 2]. Основна кількість цитруліну синтезується в кишечнику із глутаміна, який надходить із їжею. Також певна кількість цитруліну може синтезуватись із аргініна за участі ферментних систем аргінази II і орнітин-карбамоїл-трансферази. Утворений цитрулін не може бути використаний в ентероцитах, оскільки в них наявна дуже низька активність ферментів, що забезпечують подальше перетворення цитруліну – аргініно-сукцинат-синтази і аргініно-сукцинат-ліази. Тому цитрулін, який утворюється в ентероцитах, надходить в кров з наступним захопленням нирками, де він перетворюється на аргінін. Отже, синтез цитруліну в кишечнику є важливим регулятором синтезу аргініну в нирках. Такий міжорганний цикл аргінін-цитрулін-аргінін дозволяє захистити аргінін, який надходить із їжею, від надмірної його деградації в печінці, де під впливом аргінази синтезуються сечовина. Таким шляхом регулюється і підтримується синтез сечовини у відповідності до надходження кількості білка в організм [3]. Таким чином, оскільки нирки є основним органом, де відбувається метаболізм цитруліну, визначення його рівня в крові може бути використано в якості специфічного біохімічного маркера для оцінки функціонального стану проксимальних канальців нирок і наявності ниркової недостатності. Особливий інтерес цей показник має в діагностиці серцево-судинних захворювань, особливо за артеріальної гіпертензії, як специфічний маркер пошкодження важливих органів-мішеней для артеріальної гіпертензії – нирок. Показано, що рівень цитруліну в плазмі крові збільшується із прогресуванням ниркової недостатності [4, 5, 6]. Зміни вмісту цитруліну корелювали із рівнем креа-

Олена Борисівна Кучменко
e-mail: kuchmeb@yahoo.com

тиніну в плазмі крові. Більш того, було продемонстровано зростання рівня цитруліну на самих ранніх стадіях розвитку помірно вираженої ниркової недостатності ще до зростання вмісту креатиніну і сечовини в крові [7].

Іншим важливим джерелом утворення цитруліну в організмі є система синтезу NO. Показано, що із молекули амінокислоти аргініна під впливом ферментної системи NO-синтази утворюється два кінцевих продукта: NO і цитрулін у співвідношенні 1:1 [8, 9].

Метою роботи було дослідження рівня цитруліну в сироватці крові як біохімічного маркера функціонального стану нирок у пацієнтів з серцево-судинними патологіями.

Матеріал і методи дослідження. В дослідження було включено 134 пацієнта у віці 41 – 68 років, із них 40 пацієнтів з артеріальною гіпертензією II стадії (АГ-II) і 62 пацієнта з хронічною серцевою недостатністю (АГ в сукупності з хронічною ішемічною хворобою серця) IIа і IIб стадії, які перебували на обстеженні та лікуванні в ДУ «ННЦ «Інститут кардіології ім. М. Д. Стражеска НАМН України». Група контролю включала 32 практично здорові особи відповідного віку.

Під час виконання роботи дотримувались правил безпеки пацієнтів, збережені права пацієнтів, а також морально-етичні норми у відповідності до основних положень GSP (1996 р.), конвенції Ради Європи про права людини та біомедицину, Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації про етичні принципи проведення науковий медичних досліджень за участі людии (1964-2000 рр.) і наказу МОЗ України № 281, № 523, етичного кодексу ученого України (2009 р.). Усі пацієнти надали письмову інформовану згоду на участь у дослідженні. Протокол дослідження був схвалений Комісією з біоетики та деонтології ДУ «ННЦ «Інститут кардіології ім. М. Д. Стражеска НАМН України».

Для біохімічних досліджень кров брали із ліктьової вени натщесердя. Вміст цитруліну в сироватці крові визначали спектрофотометричним методом [10].

Вміст креатиніну і альбумінурію визначали на автоматичному біохімічному аналізаторі А-25 (Biosystems, Іспанія) з використанням відповідних діагностичних тест-систем. Креатинін визначали ферментативним кінетичним методом. Швидкість клубочкової фільтрації в нирках розраховували за допомогою рівняння CKD-EPI (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration) [11].

Статистичний аналіз проводився за допомогою програми SPSS 10.0 для Windows. Всі величини змінних відповідали нормальному розподілу, що дозволило при аналізі використовувати методи параметричної статистики. При порівнянні значень використовували t-критерій Стьюдента. Всі значення наведені у вигляді (M ± SD). Різниця статистично достовірна при $p < 0,05$.

Результати дослідження. В результаті проведених досліджень було показано, що у пацієнтів з АГ-II і ХСН спостерігається зростання вмісту цитруліну в сироватці крові більше ніж в 2 рази порівняно з контролем (табл. 1).

Таблиця 1

Вміст цитруліну в сироватці крові пацієнтів з АГ-II і ХСН, (M ± SD)

Показник	Контроль	Пацієнти з АГ-II	Пацієнти з ХСН
Цитрулін, мкмоль/л	51,75 ± 5,87	104, 6 ± 2,7*	124,14 ± 6,71*

Примітка: * - $p < 0,05$ порівняно з контрольною групою.

Аналіз величин показників функціонального стану нирок і рівня цитруліну в сироватці крові показав, що зменшення швидкості клубочкової фільтрації, зростання вмісту креатиніну і вираженості альбумінурії супроводжуються зростанням рівня цитруліну в сироватці крові (рис. 1).

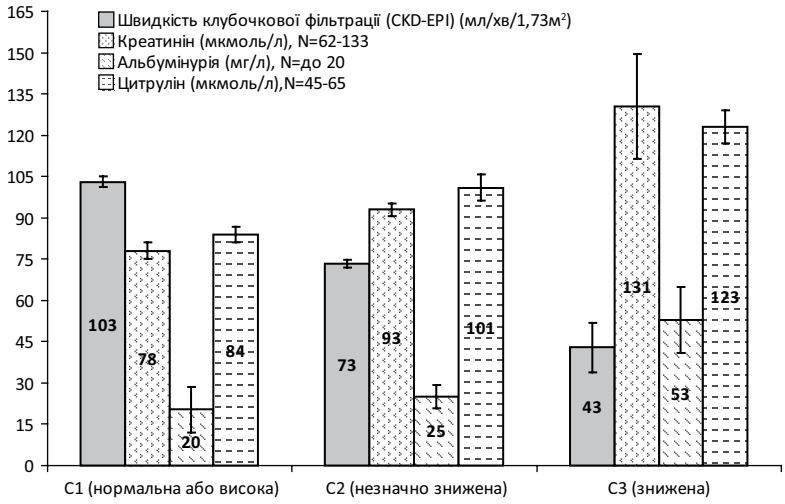

Рис. 1. Швидкість клубочкової фільтрації, вміст креатиніну і цитруліну в сироватці крові та рівень альбумінурії у пацієнтів з АГ-II залежно від швидкості клубочкової фільтрації.

Отже, спостерігається пряма залежність між зростання вмісту цитруліну і ступеню вираженості змін показників функціонального стану нирок у пацієнтів з АГ-II. При цьому звертає на себе той факт, що вміст цитруліну в сироватці крові є значно вищим порівняно з контрольними значеннями у пацієнтів з нормальними величинами ШКФ, креатиніна і альбумінурії.

Аналогічну залежність і направленість між змінами досліджуваних показників функціонального стану нирок і рівня цитруліну в сироватці крові була встановлена також у пацієнтів з ХСН (рис. 2).

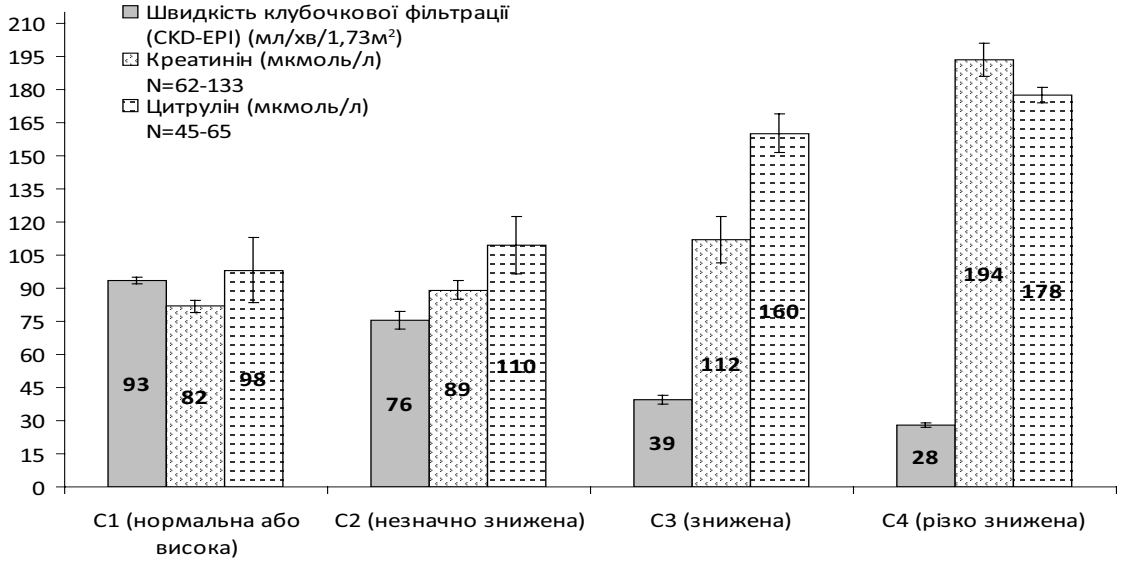

Рис. 2. Швидкість клубочкової фільтрації, вміст креатиніну і цитруліну в сироватці крові пацієнтів з ХСН залежно від ШКФ.

Обговорення. Обговорюючи результати проведених досліджень слід зауважити, що вміст цитруліну в сироватці крові є інтегральним показником, який складається із кількох складових. При оцінці можливих причин зміни величини цього показника слід звернути увагу на можливу наявність порушень функціонального стану кишечника, травлення і раціону харчування обстежених осіб. У обстежених пацієнтів суттєвих змін вказаних показників не спостерігається.

Оскільки зростання вмісту цитруліну прямо корелює зі ступенем погіршення функціонального стану нирок, а нирки є єдиним органом, що регулює і контролює обмін цитруліну, то зростання його рівня в сироватці крові в першу чергу можна пов'язати зі змінами функцій нирок у обстежених пацієнтів.

Результати епідеміологічних досліджень (NHANES III, Okinawa Study та ін.) демонструють високу розповсюдженість порушень функцій нирок в загальній популяції людей [12, 13, 14]. При цьому ниркова дисфункція у пацієнтів з серцево-судинними захворюваннями відмічається значно частіше і асоціюється зі значним зростанням ризику смерті. При ХСН рівень летальності зворотно пропорційний ЩКФ, яка є таким же важливим прогностичним фактором, як і величина фракції викиду лівого шлуночка або функціональний клас СН за NYHA. Навіть незначне зниження функціональної здатності нирок асоціюється із зростанням серцево-судинного ризику, який зростає зворотно пропорційно рівню ШКФ, і за ШКФ < 30 мл/хв. перевищує такий за умов збереженої функції нирок в 5,5 рази. У пацієнтів з артеріальною гіпертензією без будь-яких серцево-судинних ускладнень помірне зниження ШКФ супроводжується подвоєнням ризику кардіальної смерті [15].

Як відомо, ШКФ є найбільш точним показником функціонального стану нирок і вказує на ступінь збереження маси діючих нефронів і фільтраційну здатність нирок. Розрахунок ШКФ і одночасне визначення альбумінурії мають самостійне і взаємодоповнююче діагностичне значення, відображаючи протеїнуричний і непротеїнуричний механізми прогресування нефропатії. Оцінка вмісту креатиніну в сироватці крові маркером функціонального стану нирок і їх недостатності, який найбільш часто застосовується в клінічній практиці. Але при цьому такий підхід часто є недостатньо точним, особливо у випадках виявлення ниркової недостатності на ранніх стадіях її розвитку.

Виходячи із особливостей метаболізму амінокислоти цитруліна в організмі, вбачається можливим використання його вмісту в якості маркера розвитку ниркової недостатності, особливо на ранніх стадіях її розвитку, коли вміст креатиніну і сечовини не виходять за межі референтних значень.

Висновки. У пацієнтів з АГ-II та ХСН спостерігається достовірне зростання вмісту цитруліну в сироватці крові. Помірне зростання рівня цитруліну в сироватці крові спостерігається у пацієнтів з АГ-II без порушень функціонального стану нирок;

при наявності порушень функції нирок зростання в сироватці крові цитруліну прямо пропорційно пов'язано із зменшенням ШКФ, зростанням в сироватці крові вмісту креатиніну і рівня альбумінурії у пацієнтів з АГ-II і ХСН. Вважаємо, що вміст цитруліну в сироватці крові може бути використаний як додатковий маркер наявності порушень функціонального стану нирок у пацієнтів із серцево-судинними та іншими захворюваннями внутрішніх органів, особливо на ранніх стадіях розвитку, а також для оцінки ефективності і безпечності використання лікарських засобів. Даний показник потребує подальшого вивчення із залученням більшої кількості пацієнтів з різними патологіями серцево-судинної системи та одночасним моніторингом функціонального стану нирок стандартизованими методами.

Конфлікт інтересів. Немає ніякого конфлікту інтересів, який міг би завдати шкоди неупередженості дослідження.

Інформація про внесок кожного учасника.

Кучменко О.Б.: концепція і проект дослідження, редагування тексту. Мхітарян Л.С.: концепція і проект дослідження.

Євстратова І.Н.: визначення вмісту цитруліну в сироватці крові та його клінічна інтерпретація.

Матова О.О.: координація клінічного дослідження, формування бази даних, статистичне опрацювання даних.

Васильченко В.С.: формування бази даних, статистичне опрацювання даних.

Література (References):

1. *Bahri S, Zerrouk N, Aussel C, Moinard C, Crenn P, Curis E, Chaumeil JC, Cynober L, Sfar S* Citrulline: from metabolism to therapeutic use. Nutrition. 2013;29(3):479-484. doi: 10.1016/j.nut.2012.07.002.
2. *Moinard C, Cynober L* Citrulline: a new player in the control of nitrogen homeostasis. J. Nutr. 2007; 137:1621S–1625S. doi: 10.1093/jn/137.6.1621S.
3. *Cynober L, de Bandt JP, Moinard C* Leucine and citrulline: two major regulators of protein turnover. World Rev. Nutr. Diet. 2013;105:97-105. doi: 10.1159/000341278.
4. *Cynober L* Citrulline: just a biomarker or a conditionally essential amino acid and a pharmaconutrient in critically ill patients? Crit. Care. 2013;17(2):122. doi: 10.1186/cc12534.
5. *Kaore SN, Amane HS, Kaore NM* Citrulline: pharmacological perspectives and its role as an emerging biomarker in future. Fundam. Clin. Pharmacol. 2013;27(1):35-50. doi: 10.1111/j.1472-8206.2012.01059.
6. *Lin IC, Hsu CN, Lo MH, Chien SJ, Tain YL* Low urinary citrulline/arginine ratio associated with blood pressure abnormalities and arterial stiffness in childhood chronic kidney disease. J. Am. Soc. Hypertens. 2016;10(2):115–123. doi: 10.1016/j.jash.2015.11.008.
7. *Reddy YS, Kiranmayi VS, Bitla AR, Krishna GS, Rao PV,* Sinakumar V Nitric oxide status in patients with chronic kidney disease. Indian J. Nephrol. 2015;25(5):287–291. doi: 10.4103/0971-4065.147376.
8. *de Meirelles LR, Resende Ade C, Matsuura C, Salgado A, Pereira NR, Cascarelli PG, Mendes-Ribeiro AC, Brunini TM* Platelet activation, oxidative stress and overexpression of inducible nitric oxide synthase in moderate heart failure. Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. 2011;38(10):705–710. doi: 10.1111/j.1440-1681.2011.05580.
9. *Rath M, Muller I, Kropf P, Closs EI, Munder M* Metabolism via arginase or nitric oxide synthase: two competing arginine pathways in macrophages. Frontiers in Immunology. 2014;5:532. doi: 10.3389/fimmu.2014.00532.
10. *Snell FD, Snell ST* Colorimetric method of analysis. New York: Van Nostard; 2013:153–155.
11. KDIGO 2012 Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease. Kidney International Supplement. 2013;3:1-150.
12. *Coresh J, Astor BC, Greene T, Eknoyan G, Levey AS* Prevalence of chronic kidney disease and decreased kidney function in the adult US population: Third National Health and Nutrition Examination Survey. Am J Kidney Dis. 2013;41(1):1-12. doi: 10.1053/ajkd.2003.50007.
13. *Smirnov AV, Dobronravov VA, Kayukov IG* The problem of chronic kidney disease in current medicine. Arterialnaya hipertensiya. 2006;12(3):185–193 [in Russian].
14. *Rayner HC, Pisoni RL, Bommer J* Mortality and hospitalization in haemodialysis patients in five European countries: Results from the Dialysis Outcomes and Practice Patterns Study (DOPPS). Nephrol. Dial. Transplant. 2004;19:108-120. doi: 10.1093/ndt/gfg483
15. *Berl T, Henrich W* Kidney-heart interactions: epidemiology, pathogenesis, and treatment. Clin. J. Am. Soc. Nephrol. 2006;1:8-18. doi: 10.2215/CJN.00730805.