













Т.Ф. Субботина<sup>1</sup>    
Ю.А. Кудаев<sup>2</sup>   
Н.Л. Лоховина<sup>2</sup>   
М.З. Алуغيшвили<sup>2</sup>   
И.Т. Абесадзе<sup>2</sup>   
И.В. Титенков<sup>2</sup>   
М.А. Чернявский<sup>2</sup>   
А.В. Панов<sup>2</sup>   
А.А. Жлоба<sup>1</sup> 

## Метаболическая модель для лабораторного контроля эффективности антиишемической терапии на примере использования никорандила

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Льва Толстого ул., д. 6–8, Санкт-Петербург, 197022, Российская Федерация

<sup>2</sup> Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Аккуратова ул., д. 2, Санкт-Петербург, 197341, Российская Федерация

✉ Субботина Татьяна Федоровна; [subbotina2002@mail.ru](mailto:subbotina2002@mail.ru)

### РЕЗЮМЕ

**Актуальность.** Важным механизмом антиишемического действия некоторых препаратов является их влияние на метаболизм эндотелиальных факторов вазодилатации, в частности на образование оксида азота из аминокислоты аргинина и его предшественника цитруллина.

**Цель.** Изучение возможности использования показателей динамики гуанидиновых производных – предшественников аргинина – в плазме крови для лабораторного контроля эффективности антиишемической терапии на примере однократного перорального приема никорандила у пациентов с ишемической болезнью сердца.

**Материалы и методы.** Метаболиты определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии в образцах крови, взятых у 30 пациентов со стенокардией напряжения II–III функционального класса. Референтной группой являлись 30 здоровых доноров. Никорандил использовали перорально в разовой дозе 20 мг после 10-часового голодания.

**Результаты.** У пациентов исходный уровень цитруллина был достоверно выше, чем у здоровых доноров. После приема никорандила содержание цитруллина снижалось до уровня, не отличающегося от уровня в плазме крови здоровых доноров группы сравнения. Содержание аргинина в плазме крови пациентов после приема препарата достоверно возрастало. При этом у них сохранялся пониженный уровень гомоаргинина как до, так и после приема никорандила. Обнаружено также отсутствие влияния приема никорандила на уровень эндогенного ингибитора синтазы оксида азота – асимметричного диметиларгинина.










**Выводы.** В дополнение к известным механизмам воздействия никорандила на клеточный метаболизм показано усиление участия цитруллина в ресинтезе аргинина. При оценке эффективности антиишемической терапии в модельную схему для лабораторного контроля целесообразно включать цитруллин и аргинин, которые являются участниками вазодилатационного ответа.

**Ключевые слова:** никорандил; ишемическая болезнь сердца; аргинин; цитруллин; гомоаргинин; асимметричный диметиларгинин; синтаза оксида азота

**Для цитирования:** Субботина Т.Ф., Кудаев Ю.А., Лоховина Н.Л., Алуغيшвили М.З., Абесадзе И.Т., Титенков И.В., Чернявский М.А., Панов А.В., Жлоба А.А. Метаболическая модель для лабораторного контроля эффективности антиишемической терапии на примере использования никорандила. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств.* 2023;13(4):540–548. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2023-535>

**Финансирование.** Работа выполнена в рамках государственного задания на проведение прикладных научных исследований: ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова»: «Предиктивные биохимические показатели и их критические уровни для оценки угрозы осложнений при артериальной гипертензии» (рег. № НИОКТР 121060800167-6) — разделы работы по сопоставлению данных доноров и пациентов на фоне антиишемической терапии; ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова»: «Разработка методов снижения риска коронарных событий у пациентов ишемической болезнью сердца при плановом хирургическом вмешательстве на периферических артериях и аорте» (рег. № НИОКТР ААА-А-20-120092490045-8) — разделы работы по сопоставлению данных пациентов до и после приема никорандила.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Tatiana F. Subbotina<sup>1</sup> ✉   
Yuri A. Kudaev<sup>2</sup>   
Natalia L. Lokhovinina<sup>2</sup>   
Marianna Z. Alugishvili<sup>2</sup>   
Inga T. Abesadze<sup>2</sup>   
Igor V. Titenkov<sup>2</sup>   
Mikhail A. Chernyavskiy<sup>2</sup>   
Alexey V. Panov<sup>2</sup>   
Alexander A. Zhloba<sup>1</sup> 

## Metabolic Model for Laboratory Control of Anti-ischaemic Therapy Effectiveness: A Case Study of Nicorandil

<sup>1</sup> Academician I.P. Pavlov First St Petersburg State Medical University, 6–8 Lev Tolstoy St., St Petersburg 197022, Russian Federation

<sup>2</sup> V.A. Almazov National Medical Research Center, 2 Akkuratov St., St Petersburg 197341, Russian Federation

✉ Tatiana F. Subbotina; [subbotina2002@mail.ru](mailto:subbotina2002@mail.ru)

### ABSTRACT

**Scientific relevance.** A key anti-ischaemic mechanism of some medicinal products involves their effects on the metabolism of endothelial vasodilators, particularly the synthesis of nitric oxide from arginine and its precursor citrulline.

**Aim.** The study was aimed to determine whether the plasma time course of guanidine derivatives (arginine precursors) is applicable to laboratory control of anti-ischaemic therapy effectiveness using a single oral dose of nicorandil in patients with coronary heart disease as a case study.

**Materials and methods.** The authors used high-performance liquid chromatography to determine metabolites. Blood samples for analysis were obtained from 30 patients with angina pectoris (Grade II–III, Canadian Cardiovascular Society) and 30 healthy donors. All the study participants received a single oral dose of 20 mg nicorandil after 10 h of fasting.

**Results.** At baseline, patients showed significantly higher plasma citrulline levels than donors. However, the elevated levels decreased to the healthy range after nicorandil administration. Plasma arginine levels in patients showed a statistically significant increase following nicorandil administration. Plasma homoarginine levels in patients remained reduced both before and after dosing. Nicorandil did not influence elevated levels of the endogenous nitric oxide synthase inhibitor (asymmetrical dimethylarginine).

**Conclusions.** In addition to the established mechanisms responsible for altering cell metabolism, nicorandil enhances the contribution of citrulline to arginine re-synthesis. It is reasonable to include citrulline and arginine, which are involved in the vasodilator response, in model schemes for laboratory control of the effectiveness of anti-ischaemic therapy.

**Keywords:** nicorandil; coronary heart disease; arginine; citrulline; homoarginine; asymmetrical dimethylarginine; nitric oxide synthase

**For citation:** Subbotina T.F., Kudaev Yu.A., Lokhovinina N.L., Alugishvili M.Z., Abesadze I.T., Titenkov I.V., Chernyavskiy M.A., Panov A.V., Zhloba A.A. Metabolic model for laboratory control of anti-ischaemic therapy effectiveness: a case study of nicorandil. *Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. Regulatory Research and Medicine Evaluation.* 2023;13(4):540–548. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2023-535>

**Funding.** The study reported in this publication was carried out as part of publicly funded applied research projects. The sections on comparing the data of donors and patients receiving anti-ischaemic therapy are prepared under the Academician I.P. Pavlov First St Petersburg State Medical University project “Predictive biochemical indicators and their critical levels for the assessment of the risk of complications in arterial hypertension”, R&D reporting No. 121060800167-6. The sections on comparing the data of patients before and after nicorandil administration are prepared under the V.A. Almazov National Medical Research Center project “Development of risk mitigation methods for adverse cardiac events in patients with coronary heart disease during scheduled surgery on peripheral arteries and aorta”, R&D reporting No. АААА-А20-120092490045-8.

**Disclosure.** The authors declare no conflict of interest requiring disclosure in this article.

## Введение

Сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) продолжают лидировать в структуре заболеваемости и смертности. В России смертность от всех ССЗ составляет 47%, а смертность от ишемической болезни сердца (ИБС) – 27% от общей смертности [1].

Снижение частоты сердечно-сосудистых событий может быть достигнуто путем антиишемической терапии лекарственными средствами одновременно антиангинального и вазодилатационного действия. Такие средства действуют на гладкомышечные клетки сосудов, одновременно повышая содержание циклического гуанозинмонофосфата путем активации гуанилатциклазы и открывая аденозинтрифосфат-зависимые калиевые каналы, что обеспечивает расслабление клеток и снижает их потребность в кислороде [2]. К группе подобных препаратов с двойным механизмом действия относится никорандил. Его антиишемический эффект опосредуется эндотелиальным фактором вазодилатации – оксидом азота (NO), при этом предполагается, что никорандил может выступать в качестве как непосредственного донора NO, так и активатора его образования под действием NO-синтаз [2]. Известно, что непосредственным субстратом, используемым для образования эндогенного NO, является аргинин (Arg) [3]. Пополнение этого субстрата за счет пищевых источников приводит к кратковременному повышению содержания Arg в крови и небольшому антиишемическому эффекту. Arg после всасывания из воротной вены эффективно извлекается тканью печени, поступая в цикл синтеза мочевины, и не достигает в достаточных количествах эндотелия в других органах. Предшественник Arg – неcodируемая аминокислота цитруллин (Цит) – не усваивается из системы воротной вены печенью, а, достигая почек, превращается в Arg [4–6]. Цит в наибольших количествах синтезируется в ворсинках тонкого кишечника из таких аминокислот, как глутамин, пролин и Arg [7, 8]. Таким образом, основным субстратом для биосинтеза Arg в ткани почек является Цит, образуемый в эпителии ворсинок тонкого кишечника.

Никорандил находит применение как в терапии стабильной ИБС [9], так и в периоперационный период при коронарных вмешательствах [10, 11]. По данным метаанализа 14 рандомизированных клинических исследований с участием 1864 пациентов показано, что назначение никорандила после планового чрескожного коронарного вмешательства приводило к улучшению

сократительной функции миокарда левого желудочка и снижению сердечно-сосудистых событий [10]. Проведенный в 2020 г. метаанализ клинических исследований, включавших 2965 пациентов, показал, что назначение никорандила при чрескожном коронарном вмешательстве у пациентов с инфарктом миокарда улучшало реперфузию миокарда и систолическую функцию левого желудочка, снижало частоту сердечно-сосудистых осложнений и летальность [11]. Примером эффективного антиишемического кардиопротективного воздействия, описанным в проведенном нами исследовании [12], является успешное применение никорандила в ходе предоперационной подготовки, которое способствовало статистически значимому снижению общей частоты осложнений со стороны сердечно-сосудистой системы в раннем послеоперационном периоде. Данное исследование выявило значимость изучения и лабораторного контроля эффектов антиишемической терапии на основные звенья метаболизма, непосредственно влияющие на сосудистый тонус, и необходимость разработки соответствующей метаболической модели.

Цель работы – изучение возможности использования показателей динамики гуанидиновых производных (предшественников аргинина) в плазме крови для лабораторного контроля эффективности антиишемической терапии на примере однократного перорального приема никорандила у пациентов с ишемической болезнью сердца.

Задачи исследования:

- 1) изучение динамики уровней эндогенных производных гуанидина у пациентов после однократного применения никорандила;
- 2) сравнение полученных данных с результатами анализа уровней эндогенных производных гуанидина у здоровых доноров;
- 3) изучение влияния никорандила на уровни эндогенных производных гуанидина, участвующих в механизмах вазодилатации;
- 4) уточнение механизма антиишемического действия никорандила;
- 5) разработка метаболической модели для лабораторного контроля эффективности антиишемической терапии.

## Материалы и методы

В исследование были включены 30 пациентов, проходивших лечение в период с августа по сентябрь 2022 г. в клинике сосудистой хирургии ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России с диагнозом ИБС и стенокардией напряжения II–III функционального класса (ФК)

по классификации Канадского сердечно-сосудистого общества. Все пациенты были назначены на плановое оперативное вмешательство на артериях нижних конечностей. Критериями исключения являлись острый инфаркт миокарда, декомпенсация хронической сердечной недостаточности, брадикардия с частотой сердечных сокращений менее 50 ударов в минуту, систолическое артериальное давление ниже 100 мм рт. ст., атриовентрикулярная блокада II и III степени, анемия и непереносимость никорандила.

Проведение исследования было одобрено локальным этическим комитетом ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» (протокол заседания № 09-22 от 02.09.2022). От каждого пациента было получено добровольное информированное согласие на включение результатов их обследования и лечения в данное исследование, которое проводилось в соответствии с утвержденным протоколом, этическими принципами Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации, трехсторонним Соглашением по надлежащей клинической практике и действующим законодательством Российской Федерации.

Референтную группу составили 30 здоровых лиц – регулярных доноров крови старшей возрастной группы 55 (42–58) лет, зарегистрированных в донорском пункте ФГБОУ ВО «ПСПбГМУ им. академика И.П. Павлова» Минздрава России (ПСПбГМУ). Проведение исследования было одобрено локальным этическим

комитетом ПСПбГМУ (выписка из протокола № 248 от 26.04.2021). Все обследуемые дали письменное информированное согласие на анонимное использование полученных данных.

Никорандил использовали перорально в разовой дозе 20 мг после 10-часового голодания за 2 ч до хирургического вмешательства на артериях нижних конечностей.

Всем пациентам перед началом исследования были проведены стандартное общеклиническое обследование (включавшее физикальный осмотр, измерение артериального давления, лабораторные исследования, в том числе клинический и биохимический анализы крови и общий анализ мочи) и клинико-инструментальное обследование, в том числе электрокардиография и эхокардиография.

При поступлении у 86,7% пациентов присутствовали клинические проявления стенокардии II ФК, у 13,3% – III ФК. Фибрилляция предсердий была выявлена у 13,3%, сахарный диабет – у 23,3%, инфаркт миокарда перенесли 26,7%, острое нарушение мозгового кровообращения – 20% пациентов. Основные результаты проведенного обследования пациентов приведены в *таблице 1*.

Помимо стандартных биохимических параметров, в плазме крови определяли гомоаргинин (ГАрг), асимметричный диметиларгинин (АДМА), симметричный диметиларгинин (СДМА), Арг, Цит

**Таблица 1.** Клинико-anamnestическая характеристика группы пациентов (n=30), включенных в исследование

**Table 1.** Clinical signs and medical history of patients (n=30) enrolled in the study

Наименование показателя	Значение показателя
Возраст, лет	64 (60–68)
Мужской пол, n (%)	25 (83,3)
Индекс массы тела, кг/м <sup>2</sup>	26,4 (25,6–28,4)
Курение, n (%)	25 (83,3)
Гипертоническая болезнь, n (%)	28 (93,3)
Длительность ишемической болезни сердца, годы	8 (7–10)
Фракция выброса левого желудочка, %	59 (56–62)
Гемоглобин, г/л	131 (124–138)
Креатинин, мкмоль/л	89 (79–99)
Скорость клубочковой фильтрации, мл/мин/1,73 м <sup>2</sup>	83 (68–90)
Общий холестерин, ммоль/л	4,2 (3,8–5,1)
Холестерин липопротеинов низкой плотности, ммоль/л	2,4 (1,8–3,2)
Глюкоза, ммоль/л	5,2 (5,0–6,1)

Таблица составлена авторами по собственным данным / The table is prepared by the authors using their own data

**Примечание.** Значения показателей приведены в виде медианы и межквартильного размаха (в скобках), если не указано иначе.

и лизин (Лиз). Образцы крови для анализа получали из кубитальной вены до приема никорандила (исходный уровень) и через 2 ч после него, непосредственно перед началом операции. Образцы крови, взятые в вакутейнеры с этилендиаминтетрауксусной кислотой, немедленно помещали в холодильник (+4 °С), а затем отделяли плазму путем центрифугирования (1500 об/мин, 10 мин) не позднее 30 мин после взятия. Образцы полученной плазмы хранили при –80 °С до проведения анализа. Пробоподготовку образцов крови референтной группы осуществляли аналогичным образом.

Анализ образцов плазмы крови проводили в отделе биохимии научно-образовательного института биомедицины ПСПбГМУ. Количественное определение гАрг, АДМА, СДМА, Арг, Цит и Лиз осуществляли одновременно методом высокоэффективной жидкостной хроматографии на хроматографе Ultimate 3000 (Thermo Scientific) с флуориметрическим детектором и аутосамплером для приготовления реакционной смеси и ее ввода на колонку Zorbax Eclipse AAA (150×4,6 мм, 3,5 мкм) (Agilent Technologies). Для предколоночной дериватизации использовали ортофталевый альдегид [13]. Оценку содержания продуктов окисления NO суммарно ( $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ ) проводили методом Грисса в модификации [14]. В качестве восстановителя нитратов использовали рекомбинантную никотинамидадениндинуклеотид-зависимую нитратредуктазу растительного происхождения из *Arabidopsis thaliana* (Sigma-Aldrich, кат. № N0163).

В периоперационный период у пациентов контролировали уровень высокочувствительного сердечного тропонина (вч-сТн). Определение вч-сТн выполняли с помощью тест-систем

ARCHITECT STAT High Sensitive Troponin-I (Abbott Laboratories) на анализаторе Architect i2000 (Abbott Laboratories). Верхняя граница нормы вч-сТн составляет 0,034 нг/мл в соответствии с руководством производителя тест-систем.

Статистический анализ с определением медиан, межквартильного размаха, оценки достоверности различий и корреляций осуществляли с помощью пакета программ Statistica 10.0 (StatSoft). Степень соответствия закона распределения данных нормальному распределению оценивали с помощью критериев Шапиро–Уилка и Колмогорова–Смирнова. В случае несоблюдения нормального распределения вариантов использовали непараметрические методы обработки данных. Для оценки межгрупповых различий использован непараметрический критерий Манна–Уитни для независимых и парный критерий Вилкоксона для зависимых выборок. Критический уровень достоверности нулевой статистической гипотезы ( $p$ ) принимали равным 0,05, а значение  $0,05 < p < 0,1$  рассматривали как тенденцию.

### Результаты и обсуждение

Данные таблицы 1 указывают на высокую распространенность факторов риска сердечно-сосудистых осложнений среди пациентов [1]. Это мужской пол, возраст старше 60 лет, избыточный вес или ожирение, курение (83%), артериальная гипертензия (93% пациентов). Мультифокальный атеросклероз с вовлечением трех сосудистых бассейнов (коронарные, каротидные и артерии нижних конечностей) верифицирован у 9 пациентов. На догоспитальном этапе целевой уровень холестерина липопротеинов низкой плотности менее 1,4 ммоль/л был достигнут только

Таблица 2. Сравнение уровней метаболических маркеров до и после применения никорандила перед хирургическим вмешательством  
Table 2. Comparison of metabolic marker levels before and after preoperative nicorandil

Название маркера	Уровни маркера в плазме крови		Уровень значимости $p$
	Исходный уровень	Через 2 ч после приема никорандила	
$\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ , мкмоль/л	12,7 (9,4–19,1)	13,1 (10,2–24,9)	0,59
Аргинин, мкмоль/л	66,9 (52,3–72,0)	76,5 (63,0–83,5)	0,018
Цитруллин, мкмоль/л	57,8 (44,7–68,2)	49,8 (31,2–62,6)	0,038
Аргинин/Цитруллин	1,33 (0,95–1,58)	1,55 (1,18–2,35)	0,00037
Гомоаргинин, мкмоль/л	1,37 (1,29–1,51)	1,34 (1,14–1,56)	0,75
Асимметричный диметиларгинин, мкмоль/л	0,57 (0,49–0,64)	0,56 (0,51–0,58)	0,31
Симметричный диметиларгинин, мкмоль/л	0,81 (0,76–1,00)	0,85 (0,69–0,97)	0,62

Таблица составлена авторами по собственным данным / The table is prepared by the authors using their own data

**Примечание.** Значения показателей приведены в виде медианы и межквартильного размаха (в скобках). Достоверность различий оценивали с помощью теста Вилкоксона для парных наблюдений по величине уровня достоверности нулевой статистической гипотезы ( $p$ ).

в 4 (13,3%) случаях. Таким образом, у всех пациентов были выявлены факторы риска в разных сочетаниях.

Прием никорандила в дозе 20 мг хорошо переносился пациентами, случаев выраженной гипотензии не зафиксировано.

После применения никорандила достоверного изменения концентрации суммы оксидов азота в плазме крови пациентов не было зарегистрировано (табл. 2), что свидетельствует о том, что препарат действует без образования NO. При этом уровни сердечного тропонина и оксидов азота положительно коррелировали друг с другом.

Через 2 ч после приема никорандила у пациентов возникало повышение уровня в крови Арг ( $p = 0,018$ ) и снижение содержания Цит ( $p = 0,038$ ), соотношение Арг/Цит достоверно ( $p = 0,0004$ ) возрастало от 1,33 до 1,55 (табл. 2). У пациентов с ИБС уровень Цит был повышен по сравнению со здоровыми донорами, хотя уровень Арг в крови достоверно не отличался. Под влиянием никорандила не обнаружено изменений

содержания другой положительно заряженной аминокислоты – Лиз, не участвующей непосредственно в реакциях образования субстратов или ингибиторов NO-синтаз. Отсутствовало заметное влияние никорандила на содержание гАрг – производного Арг. Не выявлено также его непосредственного воздействия и на уровень АДМА (эндогенного ингибитора NO-синтаз) и уремического токсина СДМА.

Анализ результатов сравнения исследуемых показателей пациентов, принимавших никорандил, с таковыми в группе здоровых лиц (рис. 1) показал, что уровень Цит, основного субстрата, поддерживающего необходимое содержание Арг в крови, у пациентов до приема никорандила был достоверно выше, чем у здоровых лиц. Спустя 2 ч после приема никорандила содержание Цит снижалось, и достоверного отличия от референтной группы уже не наблюдалось. Разброс значений уровней Цит после приема препарата указывает на вариабельность отклика пациентов на прием никорандила. Содержание Арг в крови пациентов было достоверно выше, чем

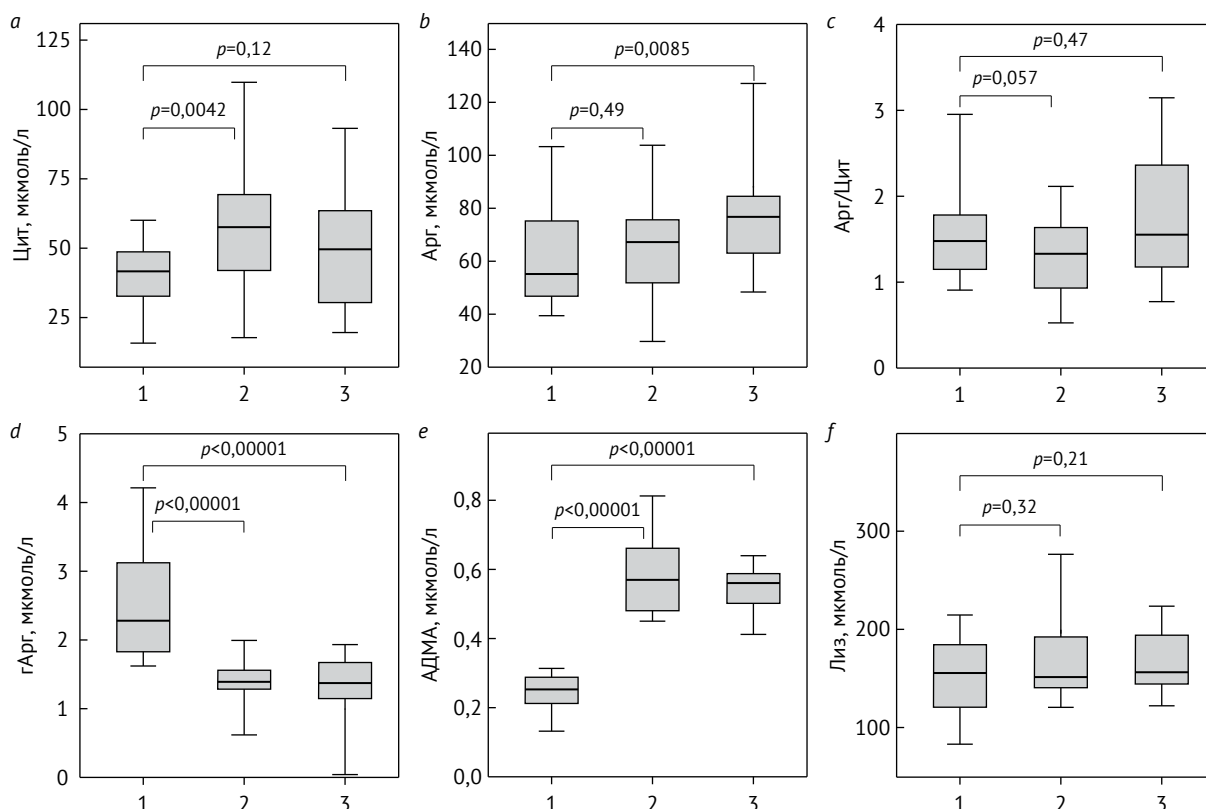


Рисунок подготовлен авторами по собственным данным / Figure is prepared by the authors using their own data

**Рис. 1.** Содержание аминокислот, участвующих в метаболизме оксида азота, в плазме крови пациентов с ишемической болезнью сердца (ИБС) в сравнении с референтной группой доноров: цитруллин (Цит) (а), аргинин (Арг) (б), соотношение Арг/Цит (с), гомоаргинин (гАрг) (д), асимметричный диметиларгинин (АДМА) (е), лизин (Лиз) (ф). 1 – референтная группа; 2 – пациенты с ИБС, исходный уровень; 3 – пациенты с ИБС через 2 ч после приема никорандила

**Fig. 1.** Plasma levels of amino acids involved in nitric oxide metabolism in patients with coronary heart disease compared with those in healthy donors: citrulline (Citr) (a), arginine (Arg) (b), arginine/citrulline ratio (c), homoarginine (gArg) (d), asymmetrical dimethylarginine (ADMA) (e), and lysine (Lys) (f). 1, donors; 2, patients (baseline); 3, patients (2 h after nicorandil administration)

у здоровых лиц. Соответственно, соотношение Арг/Цит возрастало от низких значений до приема препарата ( $p=0,057$ ) до уровня, характерного для здоровых лиц. При этом в группе пациентов с ИБС сохранялся пониженный уровень гАрг как до, так и после приема никорандила, что указывало на сохранение угнетения ключевой реакции биосинтеза креатина, побочным продуктом которой является гАрг. Обнаружено также отсутствие краткосрочного влияния никорандила на содержание АДМА, ингибитора NO-синтазы, которое сохранялось на исходном более высоком уровне, чем у здоровых лиц. Уровень другой основной аминокислоты – Лиз, не участвующей

непосредственно в NO-синтазной реакции, у пациентов как до, так и после приема препарата не отличался от такового в группе здоровых лиц.

Известно, что почти весь циркулирующий в плазме крови Цит образуется за счет метаболических функций клеток эпителия кишечника, а не из пищевых источников [8, 15]. В частности, за счет метаболической активности энтероцитов примерно 80% Цит плазмы крови происходит непосредственно из глутамина плазмы крови [15]. Таким образом, превращение глутамина в Арг осуществляется за счет межорганный распределения реакций этого метаболического пути (рис. 2), включающего кишечник и почки. В кишечнике глутамин и другие аминокислоты, не исключая Арг, превращаются в Цит; далее Цит, не задерживаясь в печени, вновь превращается в Арг, в основном в почках. Метаболизм глутамина в кишечнике имеет решающее значение для эндогенного синтеза Арг у человека [15].

Объяснить активизацию метаболизма Цит под действием никорандила можно увеличением перфузии почек с возрастанием скорости клубочковой фильтрации [16]. Это следует из того, что, как показано в настоящем исследовании, в результате действия никорандила наблюдалось увеличение содержания Арг в крови и значительное понижение уровня Цит. Таким образом, действие антиишемического препарата никорандил проявляется в резком снижении уровня Цит и повышении значения соотношения Арг/Цит.

Ингибитор NO-синтаз АДМА и уремический токсин СДМА образуются в тканях при гидролизе метилированных белков [3]. Уровень ингибитора NO-синтазы АДМА в плазме крови у пациентов в проведенном нами исследовании спустя 2 ч после приема никорандила не изменялся.

У взрослых Цит практически не поступает в кровь из органов и тканей, в которых присутствуют соединения, участвующие в цикле синтеза мочевины (например, из тканей печени и мозга), так как при нормальной активности энзимов этого цикла его реакции изолированы внутримитохондриально в пределах клеток, и промежуточные метаболиты цикла мочевины практически не попадают в кровоток [7, 8]. Было показано, что поглощение Цит клетками почечного эпителия может происходить как апикально из первичной мочи, так и базолатерально из капиллярной системы. В клетках проксимальных почечных канальцев Цит преобразуется в Арг под действием аргининосукцинатсинтазы и аргининосукцинатлиазы. Известно, что в норме скорость образования



Рисунок подготовлен авторами / Figure is prepared by the authors

**Рис. 2.** Основные метаболические участники NO-синтазных реакций в условиях усиления перфузии тканей в ходе антиишемической терапии: образование цитруллина (Цит) в тонком кишечнике (Глн – глутамин, Про – пролин, Арг – аргинин) и его превращение в субстрат NO-синтаз (Арг) в почках. Стрелки: 1)  $\Rightarrow$  – прямое действие оксида азота и никорандила на гуанилатциклазу гладкомышечных клеток вызывает усиление перфузии тканей; 2)  $\rightarrow$  – образование Цит в ворсинках тонкой кишки и предшественников NO в последовательности реакций в почках и эндотелии; 3)  $--\rightarrow$  – образование Арг в тканях почек и NO в эндотелиоцитах.  $\odot$  – ингибирование NO-синтазы производным Арг – асимметричным диметиларгинином (АДМА)

**Fig. 2.** Main metabolic participants of NO-synthase reactions under increased tissue perfusion conditions during anti-ischaemic therapy: citrulline (Citr) formation in the small intestine (Gln, glutamine; Pro, proline; Arg, arginine) and its transformation into arginine, a substrate for nitric oxide synthases, in the kidneys. Arrows: 1)  $\Rightarrow$  direct action of nitric oxide and nicorandil on guanylate cyclase of smooth muscle cells causing an increase in tissue perfusion; 2)  $\rightarrow$  reaction pathways for the formation of citrulline in the villi of the small intestine and NO precursors in the kidneys and endothelium; 3)  $--\rightarrow$  formation of arginine in kidney tissues and NO in endotheliocytes.  $\odot$  NO-synthase inhibition by asymmetrical dimethylarginine (ADMA), a derivative of arginine

и высвобождения в кровотоке Арг определяется в основном поступлением Цит в эпителий проксимальных канальцев [17].

Изученные нами эффекты ограничены краткосрочным периодом после приема никорандила. Для оценки отдаленных последствий влияния терапии никорандилом на баланс гуанидиновых производных, задействованных в регуляции активности NO-синтазы, необходимы дальнейшие исследования.

## Выводы

1. Полученные результаты показали, что никорандил эффективно повышает уровень аргинина и понижает уровень цитруллина, что, в свою очередь, вызывает повышение продукции NO.
2. В дополнение к известным механизмам воздействия никорандил способствует увеличению перфузии почек, тем самым усиливая

клубочковую фильтрацию и накопление цитруллина в эпителии канальцев. При этом возрастает участие цитруллина в ресинтезе аргинина и, соответственно, увеличение соотношения Арг/Цит.

3. Эффективность антиишемической терапии с использованием никорандила опосредуется его влиянием на метаболический путь образования аргинина из цитруллина, что происходит преимущественно в почках.

4. Применение никорандила не повлияло на образование производных аргинина, в т.ч. асимметричного диметиларгинина – эндогенного ингибитора NO-синтазы.

5. При проведении дальнейших исследований в модельную схему для лабораторного контроля эффективности антиишемической терапии целесообразно включать цитруллин и аргинин, которые являются участниками вазодилаторного ответа.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Акчурин РС, Алякин БГ, Аронов ДМ, Беленков ЮН, Бойцов СА, Болдуева СА и др. Стабильная ишемическая болезнь сердца. Клинические рекомендации 2020. *Российский кардиологический журнал*. 2020;25(11):201–50. Akchurin RS, Alekyan BG, Aronov DM, Belenkov YuN, Boytsov SA, Boldueva SA, et al. 2020 Clinical practice guidelines for stable coronary artery disease. *Russian Journal of Cardiology*. 2020;25(11):201–50 (In Russ.). <https://doi.org/10.15829/291560-4071-2020-4076>
2. Tarkin JM, Kaski JC. Vasodilator therapy: nitrates and nicorandil. *Cardiovasc Drugs Ther*. 2016;30(4):367–78. <https://doi.org/10.1007/s10557-016-6668-z>
3. Жлоба АА. Асимметричный диметиларгинин в качестве медиатора и маркера развития эндотелиальной дисфункции. *Артериальная гипертензия*. 2007;13(2):119–27. Zhloba AA. ADMA as a marker and mediator of endothelial dysfunction progression. *Arterial Hypertension*. 2007;13(2):119–27 (in Russ.). EDN: [LSPEPL](https://doi.org/10.1161/JAHA.117.008025)
4. Chen GF, Baylis C. *In vivo* renal arginine release is impaired throughout development of chronic kidney disease. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2010;298(1):F95–102. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00487.2009>
5. Pillai S, Seebeck P, Fingerhut R, Huang JI, Ming X-F, Yang Z, et al. Kidney mass reduction leads to L-arginine metabolism-dependent blood pressure increase in mice. *J Am Heart Assoc*. 2018;7(5):e008025. <https://doi.org/10.1161/JAHA.117.008025>
6. Tsikas D. Homoarginine in health and disease. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2023;26(1):42–9. <https://doi.org/10.1097/MCO.0000000000000889>
7. Osowska S, Moinard C, Neveux N, Loi C, Cynober L. Citrulline increases arginine pools and restores nitrogen balance after massive intestinal resection. *Gut*. 2004;53(12):1781–6. <https://doi.org/10.1136/gut.2004.042317>
8. Couchet M, Pestour S, Breuillard C, Corne C, Rendu J, Fontaine E, et al. Regulation of citrulline synthesis in human enterocytes: Role of hypoxia and inflammation. *Biofactors*. 2022;48(1):181–9. <https://doi.org/10.1002/biof.1810>
9. Марцевич СЮ, Лукина ЮВ, Кутишенко НП, Воронина ВП, Дмитриева НА, Загребельный АВ и др. Первые результаты оценки влияния длительного применения никорандила на вероятность возникновения сердечно-сосудистых осложнений у больных стабильной ишемической болезнью сердца (данные наблюдательного исследования НИКЕЯ). *Рациональная фармакотерапия в кардиологии*. 2019;15(3):335–42. Martsevich SYu, Lukina YuV, Kutishenko NP, Voronina VP, Dmitrieva NA, Zagrebeltny AV, et al. The first results of the evaluation of long-term nicorandil treatment effect on the probability of cardiovascular complications in patients with stable coronary artery disease (data of observational NIKEA study). *Rational Pharmacotherapy in Cardiology* 2019;15(3):335–42 (In Russ.). <https://doi.org/10.20996/1819-6446-2019-15-3-335-342>
10. Zhao XT, Zhang CF, Liu QJ. Meta-analysis of nicorandil effectiveness on myocardial protection after percutaneous coronary intervention. *BMC Cardiovasc Disord*. 2019;19(1):144. <https://doi.org/10.1186/s12872-019-1071-x>
11. Zhou J, Xu J, Cheng A, Li P, Chen B, Sun S. Effect of nicorandil treatment adjunctive to percutaneous coronary intervention in patients with acute myocardial infarction: a systematic review and meta-analysis. *J Int Med Res*. 2020;48(11):300060520967856. <https://doi.org/10.1177/0300060520967856>
12. Кудавев ЮА, Субботина ТФ, Лоховинина НЛ, Алугшвили МЗ, Абесадзе ИТ, Титенков ИВ и др. Профилактика кардиальных осложнений у больных с ишемической болезнью сердца при сосудистых операциях: возможности никорандила. *Кардиология и сердечно-сосудистая хирургия*. 2022;15(4):402–11. Kudaev YuA, Subbotina TF, Lohovininina NL, Alugishvili MZ, Abesadze IT, Titenkov IV, et al. Prevention of cardiac complications in patients with coronary artery disease undergoing vascular surgery: possibilities of nicorandil. *Cardiology and Cardiovascular Surgery*. 2022;15(4):402–11 (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/kardio202215041402>
13. Жлоба АА, Субботина ТФ, Шипаева КА. Способ определения содержания гомоаргинина в плазме крови и других биологических жидкостях человека. Патент РФ № 2609873; 2017. Zhloba AA, Subbotina TF, Shipaeva KA. The way for determining the content of homoarginine in blood plasma and other biological fluids of human. Patent of the Russian Federation No. 2609873; 2017 (In Russ.).
14. Жлоба АА, Субботина ТФ, Алексеевская ЕС. Содержание окислов азота в плазме крови здоровых лиц в зависимости от возраста. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2016;61(11):760–5. Zhloba AA, Subbotina TF, Alekseevskaya ES. The content of nitric oxide in blood plasma of health persons depending on age. *Russian Clinical Laboratory Diagnostics*. 2016;61(11):760–5 (In Russ.). EDN: [XHCYOH](https://doi.org/10.1113/jphysiol.2006.126029)
15. van de Poll MC, Ligthart-Melis GC, Boelens PG, Deutz NE, van Leeuwen PA, Dejong CH. Intestinal and hepatic metabolism of glutamine and citrulline in humans. *J Physiol*. 2007;581(Pt 2):819–27. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2006.126029>



16. Du X, Ma Z, Li L, Zhong X. Nicorandil decreases renal injury in patients with coronary heart disease complicated with type I cardiorenal syndrome. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2021;78(5):e675–80.  
<https://doi.org/10.1097/FJC.0000000000001117>
17. Maric S, Restin T, Muff JL, Camargo SM, Guglielmetti LC, Holland-Cunz SG, et al. Citrulline, biomarker of erythrocyte functional mass and dietary supplement. Metabolism, transport, and current evidence for clinical use. *Nutrients*. 2021;13(8):2794.  
<https://doi.org/10.3390/nu13082794>

**Вклад авторов.** Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE. Наибольший вклад распределен следующим образом: *Т.Ф. Субботина* – сбор и статистическая обработка данных по референтной группе, написание разделов «Материалы и методы», «Результаты и их обсуждение», редактирование рисунка; *Ю.А. Кудавев* – дизайн исследования, написание раздела «Результаты и их обсуждение»; *Н.Л. Лоховинина* – сбор биоматериала, статистическая обработка данных, оформление табличного материала; *М.З. Алугишвили* – сбор данных клинических исследований и анамнеза пациентов, написание раздела «Материалы и методы»; *И.Т. Абесадзе* – написание разделов «Материалы и методы», «Результаты и их обсуждение»; *И.В. Титенков* – сбор биоматериала, написание раздела «Материалы и методы»; *М.А. Чернявский* – концепция статьи, редактирование текста рукописи; *А.В. Панов* – дизайн исследования; обработка данных клинических исследований; *А.А. Жлоба* – концепция статьи, дизайн исследования, написание разделов «Введение», «Результаты и их обсуждение», редактирование рисунков.

**Соответствие принципам этики.** Исследование было одобрено на заседании локального этического комитета ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова» Минздрава России, протокол заседания № 248 от 26.04.2021. Исследование было одобрено на заседании локального этического комитета ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России, протокол заседания № 09-22 от 02.09.2022.

**Согласие пациентов.** Получено информированное добровольное согласие пациентов на обработку персональных данных и их использование с научной и образовательной целью, в том числе на публикацию персональной медицинской информации в обезличенной форме.

**Authors' contributions.** All the authors confirm that they meet the ICMJE criteria for authorship. The most significant contributions were as follows. *Tatiana F. Subbotina* collected donor data and carried out statistical analysis of the data, drafted the “Materials and methods” and “Results and discussion” sections of the manuscript, edited the figures. *Yuri A. Kudaev* designed the study, drafted the “Results and discussion” section of the manuscript. *Natalia L. Likhovinnina* collected the biological material, carried out statistical analysis, and prepared the tables. *Marianna Z. Alugishvili* collected patient data from clinical investigations and medical histories, drafted the “Materials and methods” section of the manuscript. *Inga T. Abesadze* drafted the “Materials and methods” and “Results and discussion” sections of the manuscript. *Igor V. Titenkov* collected the biological material and drafted the “Materials and methods” section of the manuscript. *Mikhail A. Chernyavskiy* conceptualised the article and edited the manuscript. *Alexey V. Panov* designed the study and processed the clinical data. *Alexander A. Zhloba* conceptualised the article, designed the study, drafted the “Introduction” and “Results and discussion” sections of the manuscript, and edited the figures.

**Ethics approval.** The study was approved by the Bioethics Committee at Academician I.P. Pavlov First St Petersburg State Medical University under meeting minutes No. 248 of 26 April 2021, as well as by the Bioethics Committee at V.A. Almazov National Medical Research Center under meeting minutes No. 09-22 of 2 September 2022.

**Informed consent.** The patients gave informed consent for the processing of their protected personal and health information, as well as for its use and anonymised publication for scientific and educational purposes.

## ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

**Субботина Татьяна Федоровна**, д-р мед. наук, профессор  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2278-8391>  
[subbotina2002@mail.ru](mailto:subbotina2002@mail.ru)

**Кудавев Юрий Анатольевич**  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2111-0765>  
[kudaev\\_yua@almazovcentre.ru](mailto:kudaev_yua@almazovcentre.ru)

**Лоховинина Наталья Львовна**, канд. мед. наук  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9579-061X>  
[lokhovinnina\\_nl@almazovcentre.ru](mailto:lokhovinnina_nl@almazovcentre.ru)

**Алугишвили Марианна Захариевна**, канд. мед. наук  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9397-655X>  
[alugishvili\\_mz@almazovcentre.ru](mailto:alugishvili_mz@almazovcentre.ru)

**Абесадзе Инга Тенгизовна**, канд. мед. наук  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2322-327X>  
[it@almazovcentre.ru](mailto:it@almazovcentre.ru)

**Титенков Игорь Викторович**  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1771-1023>  
[titenkov\\_iv@almazovcentre.ru](mailto:titenkov_iv@almazovcentre.ru)

**Чернявский Михаил Александрович**, д-р мед. наук  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1214-0150>  
[chernyavskiy\\_ma@almazovcentre.ru](mailto:chernyavskiy_ma@almazovcentre.ru)

**Панов Алексей Владимирович**, д-р мед. наук, проф.  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3356-3873>  
[panov\\_av@almazovcentre.ru](mailto:panov_av@almazovcentre.ru)

**Жлоба Александр Анатольевич**, д-р мед. наук, проф.  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0605-7617>  
[zhlobaaa@1spbgbmu.ru](mailto:zhlobaaa@1spbgbmu.ru)

Поступила 07.02.2023

После доработки 16.03.2023

Принята к публикации 22.05.2023

Online first 17.08.2023

**Tatiana F. Subbotina**, Dr. Sci. (Med.), Professor  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2278-8391>  
[subbotina2002@mail.ru](mailto:subbotina2002@mail.ru)

**Yuri A. Kudaev**  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2111-0765>  
[kudaev\\_yua@almazovcentre.ru](mailto:kudaev_yua@almazovcentre.ru)

**Natalia L. Likhovinnina**, Cand. Sci. (Med.)  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9579-061X>  
[lokhovinnina\\_nl@almazovcentre.ru](mailto:lokhovinnina_nl@almazovcentre.ru)

**Marianna Z. Alugishvili**, Cand. Sci. (Med.)  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9397-655X>  
[alugishvili\\_mz@almazovcentre.ru](mailto:alugishvili_mz@almazovcentre.ru)

**Inga T. Abesadze**, Cand. Sci. (Med.)  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2322-327X>  
[it@almazovcentre.ru](mailto:it@almazovcentre.ru)

**Igor V. Titenkov**  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1771-1023>  
[titenkov\\_iv@almazovcentre.ru](mailto:titenkov_iv@almazovcentre.ru)

**Mikhail A. Chernyavskiy**, Dr. Sci. (Med.)  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1214-0150>  
[chernyavskiy\\_ma@almazovcentre.ru](mailto:chernyavskiy_ma@almazovcentre.ru)

**Alexey V. Panov**, Dr. Sci. (Med.), Professor  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3356-3873>  
[panov\\_av@almazovcentre.ru](mailto:panov_av@almazovcentre.ru)

**Alexander A. Zhloba**, Dr. Sci. (Med.), Professor  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0605-7617>  
[zhlobaaa@1spbgbmu.ru](mailto:zhlobaaa@1spbgbmu.ru)

Received 7 February 2023

Revised 16 March 2023

Accepted 22 May 2023

Online first 17 August 2023