

использовать для диагностики ранних метаболических нарушений и степени их выраженности у работников производства резинотехнических изделий.

ЛИТЕРАТУРА

1. Измеров Н.Ф. Концепция долгосрочного социально-экономического развития Российской Федерации на период до 2020 г. («стратегия 2020») и сохранение здоровья работающего населения России. *Медицина труда и промышленная экология*. 2012; 3: 1–8.
2. Измеров Н.Ф. Актуализация вопросов профессиональной заболеваемости. *Здравоохранение Российской Федерации*. 2013; 2: 14–7.
3. Павловская Н.А., Антошина Л.И. Выбор лабораторных биомаркеров для раннего выявления неблагоприятного действия вибрации на организм. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2012; 1: 13–5.
4. Павловская Н.А., Рушкевич О.П. Биомаркеры для ранней диагностики последствий воздействия угольной пыли на организм шахтеров. *Медицина труда и промышленная экология*. 2012; 9: 36–42.
5. Кузьмина Л.П., Измерова Н.И., Бурмирова Т.Б. Патоморфоз современных форм профессиональных заболеваний. *Медицина труда и промышленная экология*. 2008; 6: 18–24.
6. Маринкин И.О., Потеряева Е.Л., Шпагина Л.А., Поляков А.Я. Патоморфоз и современная эволюция профессиональных и производственно обусловленных заболеваний. *Медицина труда и промышленная экология*. 2010; 8: 1–6.
7. Тимашева Г.В., Бадамшина Г.Г., Бакиров А.Б., Каримова Л.К. Особенности метаболических изменений в лимфоцитах и нейтрофилах крови у работников нефтехимического производства. *Медицинский Вестник Башкортостана*. 2012; 3: 5–8.
8. Валеева Э.Т., Бакиров А.Б., Каримова Л.К. Профессиональные заболевания и интоксикации, развивающиеся у работников нефтехимических производств в современных условиях. *Экология человека*. 2010; 3: 19–23.
9. Тимашева Г.В. Современные лабораторные маркеры ранних нарушений состояния здоровья у работников хлорорганических производств. *Уральский медицинский журнал*. 2012; 8: 89–93.
10. Тимашева Г.В., Кузьмина Л.П., Бадамшина Г.Г., Каримова Л.К. Роль лабораторных исследований в диагностике ранних метаболических

нарушений у работников нефтехимического производства. *Медицина труда и промышленная экология*. 2013; 3: 15–20.

REFERENCES

1. Izmerov N.F. The concept of Russian Federation long-term socio-economic development until 2020 («2020 Strategy») and Russian working population's health promotion. *Meditsina truda i promyshlennaya ekologiya*. 2012; 3: 1–8. (in Russian)
2. Izmerov N.F. Actualization of occupational morbidity issues. *Zdravookhranenie Rossiyskoi Federatsii*. 2013; 2: 14–7. (in Russian)
3. Pavlovskaya N.A., Antoshina L.I. The choice of laboratory biomarkers for early detection of hazardous impact on the body. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2012; 1: 13–5. (in Russian)
4. Pavlovskaya N.A., Rushkevich O.P. Biomarkers for early diagnosis of coal dust impact on miners' body. *Meditsina truda i promyshlennaya ekologiya*. 2012; 9: 36–42. (in Russian)
5. Kuz'mina L.P., Izmerova N.I., Burmistrova T.B. Pathomorphosis of current occupational diseases. *Meditsina truda i promyshlennaya ekologiya*. 2008; 6: 18–24. (in Russian)
6. Marinkin I.O., Poteryaeva E.L., Shpagina L.A., Polyakov A.Ya. Pathomorphosis and modern evolution of occupational and work-related diseases. *Meditsina truda i promyshlennaya ekologiya*. 2010; 8: 1–6. (in Russian)
7. Timasheva G.V., Badamshina G.G., Bakirov A.B., Karimova L.K. Specificities of metabolic changes in blood lymphocytes and neutrophils in petrochemical workers. *Meditsinskiy vestnik Bashkortostana*. 2012; 3: 5–8. (in Russian)
8. Valeeva E.T., Bakirov A.B., Karimova L.K. Current occupational diseases and intoxications that develop in petrochemical workers. *Ekologiya cheloveka*. 2010; 3: 19–23. (in Russian)
9. Timasheva G.V. Current laboratory markers for early detection of ill health in chlororganic workers. *Ural'skiy meditsinskiy zhurnal*. 2012; 8: 89–93. (in Russian)
10. Timasheva G.V., Kuz'mina L.P., Badamshina G.G., Karimova L.K. The role of laboratory studies in diagnostics of early metabolic disorders in petrochemical workers. *Meditsina truda i promyshlennaya ekologiya*. 2013; 3: 15–20. (in Russian)

Поступила 15.12.14
Received 15.12.14

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2015

УДК 616.1-092.18-074

Жлоба А.А.^{1,2}, Субботина Т.Ф.^{1,2}, Алексеевская Е.С.^{1,2}, Моисеева О.М.², Гаврилюк Н.Д.², Иртыга О.Б.²

МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ И БЕЛКОВЫЕ МАРКЕРЫ ДИСФУНКЦИИ МИТОХОНДРИЙ У ПАЦИЕНТОВ С СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ

¹ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России, 197022, г. Санкт-Петербург; ²ФГБУ «Федеральный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова» Минздрава России, 197341, г. Санкт-Петербург

Работа посвящена изучению содержания цитохрома C (CytC) и белка PGC1 α (Гальфа – коактиватор гамма-рецептора, активирующего пролиферацию пероксисом) в крови пациентов с патологией выходного тракта левого желудочка совместно с низкомолекулярными метаболитами, характеризующими дисфункцию митохондрий и эндотелия. Исследованы образцы плазмы крови здоровых лиц (n = 34) и пациентов с аневризмой аорты (n = 69), аортальным стенозом (n = 25) и без патологии аорты (n = 16). В группе пациентов с нарушением кровообращения обнаружено повышение уровня метаболических маркеров дисфункции митохондрий (лактат, соотношение лактат/пироват) и эндотелия (асимметричный диметиларгинин, общий гомоцистеин). Явления гибели клеток обнаружены по увеличению уровня CytC у 17% пациентов. Оценка уровня интермедиатов энергетического обмена и одновременно белка PGC1 α позволяет выявить, по крайней мере, три степени дисфункции митохондрий в зависимости от стадии ее прогрессирования: 1) без лактоацидемии, но с выявлением PGC1 α в крови, 2) с лактоацидемией до 2,2 мМ и повышенным уровнем PGC1 α в крови (более 61 нг/л), 3) с лактоацидозом и утратой способности клеток к переносу этого белка в кровь. Использование общепринятых метаболических показателей нарушения функции митохондрий, дополненное определением уровня CytC и PGC1 α в крови, позволяет более полно оценить развитие дисфункции митохондрий у больных с нарушениями кровообращения различного генеза.

Ключевые слова: PGC1 α ; цитохром C; молочная кислота; пировиноградная кислота; диагностика митохондриальной дисфункции; эндотелиальная дисфункция.

Для цитирования: *Клиническая лабораторная диагностика*. 2015; 60 (7): 35–41.

Для корреспонденции: Жлоба Александр Анатольевич, zhloba@mail.spbnit.ru
For correspondence: Zhloba A.A., zhloba@mail.spbnit.ru

Zhloba A.A.^{1,2}, Subbotina T.F.^{1,2}, Alekseevskaya E.S.^{1,2}, Moiseeva O.M.², Gavriluk N.D.², Irtuga O.B.²

THE METABOLIC AND PROTEIN MARKERS OF DYSFUNCTION OF MITOCHONDRIA IN PATIENTS WITH CARDIO-VASCULAR DISEASES

¹The academician I.P. Pavlov First St. Petersburg state medical university, 197022 St. Petersburg, Russia; ²The V.A. Almazov Federal medical research center of Minzdrav of Russia, 197341 St. Petersburg, Russia

The article deals with study concerning content of cytochrome C (CytC) and protein PGC1α (alpha-co-activator of gamma-receptor; activating proliferation of peroxisomes) in blood of patients with pathology of left ventricular outflow tract conjointly with low-molecular metabolites characterizing dysfunction of mitochondria and endothelium. The samples of blood plasma were analyzed taking from healthy persons (n=34), patients with aortic aneurysm (n=69), aortic stenosis (n=25) and without pathology of aorta (n=16). In the group of patients with disturbed blood circulation increasing of level of metabolic markers of dysfunction of mitochondria (lactate, ratio lactate/pyruvate) and endothelium (asymmetric dimethylarginine, total homocysteine) was established. The occurrences of cells death were detected according to increasing of level of CytC in 17% of patients. The evaluation of level of intermediates of energy metabolism and simultaneously of protein PGC1α permits detecting at least three degrees of dysfunction of mitochondria depending on stage of its progression: 1) without lactoacidemia but with detection of PGC1α in blood, 2) with lactoacidemia up to 2.2 mM and increased level of PGC1α in blood (more than 61 ng/l), 3) with lactoacidemia and loss of cells capacity to transfer this protein in blood. The application of common metabolic indicators of disorder of function of mitochondria supplemented by determination of level of CytC and PGC1α in blood permits evaluating more comprehensively development of dysfunction of mitochondria in patients with disorders of blood circulation of various genesis.

Key words: PGC1α; cytochrome C; lactic acid; diagnostic; dysfunction of mitochondria; endothelium dysfunction

Citation: *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika. 2015; 60 (7): 35–41. (in Russ.)*

Введение. Согласно современным представлениям, дисфункция митохондрий нарастает в ходе хронического патологического процесса и в связи с возраст-ассоциированным нарушением функций органов и организма в целом [1]. Практическое использование результатов исследований направления «митохондриальная медицина» началось около полувека назад с открытием первых генетически обусловленных митохондриальных болезней [2]. В результате понимания клеточных механизмов регуляции, образования и утилизации отработавших митохондрий в клетке стали возможными новые терапевтические подходы, направленные на коррекцию повреждения митохондрий и на стимуляцию биогенеза [3]. Лабораторная диагностика митохондриальных нарушений связана в основном с оценкой сдвигов интермедиатов обмена энергии [4] и некоторых аминокислот [5]. В списки маркеров митохондриальных нарушений постепенно включают разные белки, ферменты [6], в том числе цитохромы [7]. Белки-регуляторы образования и числа митохондрий в этом отношении остаются неизученными. Возможно, именно эти белки будут наиболее информативны для оценки стимуляции/торможения функций митохондрия в ходе развития патологического процесса и лечения.

Уровень цитохрома C (CytC) в системном кровотоке обсуждается как показатель повреждения митохондрий и гибели клеток [7–9]. В исследовании с определением уровня CytC в крови на фоне системной ишемии рост концентрации данного белка в плазме был длительным и отмечался даже после снижения уровня лактата в крови [7]. Имеются сведения о быстрой элиминации CytC из крови после потерь его клетками, что придает белку большое диагностическое значение в оценке состояний, связанных с гибелью клеток [10].

Белок PGC1α (peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) gamma coactivator-1 alpha; 1 альфа-коактиватор гамма-рецептора, активирующего пролиферацию пероксисом) привлекает внимание в связи с центральной ролью в регуляции наращивания числа митохондрий в тканях. Новые данные об экстраклеточной локализации PGC1α позволяют предположить наличие транспортных систем для данного белка с возможностью его экзоцитоза [11, 12]. Изменение экспрессии гена PGC1α обнаружено при ряде заболеваний, в том числе нейродегенеративных, сахарном диабете и сердечной недостаточности, а также в ходе старения [13–15]. Нарушение утилизации энергетических субстратов митохондриями, характерное для недостаточного снабжения тканей кислородом при развитии дисфункции эндотелия, приводит к изменению соотношений NAD⁺/NADH и лактат/пируват в клетке, что тормозит образование PGC1α и биогенез митохондрий [16]. По-видимому, упомянутые выше белковые маркеры с

коротким периодом извлечения из кровотока могут характеризовать наличие клеточной гибели (CytC) или, наоборот, уровень активации образования митохондрий в тканях (белок PGC1α).

Цель работы – изучение содержания CytC и PGC1α в сравнении с уровнями низкомолекулярных метаболитов, характеризующих дисфункцию митохондрий и эндотелия, в системном кровотоке у пациентов с нарушением кровообращения, в том числе обусловленным патологией выходного тракта левого желудочка.

Материалы и методы. Исследованы образцы крови от 110 человек (71 мужчина и 39 женщин) в возрасте 55–64 лет, средний возраст составил 61 год. У 94 из них выявлены патологические изменения выходного тракта левого желудочка: аневризма восходящего отдела аорты ($n = 69$) и аортальный стеноз ($n = 25$). Диагноз аортального стеноза и дилатации аорты верифицировался по результатам трансторакального эхокардиографического исследования на аппарате Vivid 7 (GE, США) согласно европейским/американским рекомендациям по эхокардиографии по стандартному протоколу. Основным критерием отбора пациентов в исследование была пиковая скорость на аортальном клапане более 3,0 м/с и расширение восходящего отдела аорты более 40 мм. В качестве подгруппы без патологии выходного тракта левого желудочка обследованы пациенты с факторами риска: артериальная гипертензия, дислипидемия, ожирение, сахарный диабет и ишемическая болезнь сердца – ИБС ($n = 16$). У большинства обследуемых диагностирована системная артериальная гипертензия ($n = 102$), у 48 – ИБС. У 16 человек из 110 выявлен сахарный диабет 2-го типа и у 12 – нарушение толерантности к глюкозе. Следует отметить, что пациенты с разными нозологическими формами сопоставимы по возрасту, результатам стандартного лабораторного обследования, исключая уровень креатинина и глюкозы (табл. 1). Функция почек у всех обследуемых была сохранной. Результаты рутинных лабораторных тестов и клиническая характеристика пациентов получены ретроспективно.

В качестве группы сравнения исследованы образцы от 34 здоровых лиц (6 мужчин и 28 женщин) в возрасте от 18 до 25 лет. Критериями включения в группу сравнения были удовлетворительное самочувствие, отсутствие хронических заболеваний и острых воспалительных процессов по результатам анкетирования. Артериальное давление у всех здоровых лиц на момент забора крови составляло 120/80 мм рт. ст., температура тела 36,6°C, ИМТ находился в пределах 19–25. Во всех случаях имелось информированное согласие на анонимное использование полученных в результате исследования данных. В случае с определением концентрации CytC

Т а б л и ц а 1

Характеристика подгрупп пациентов в зависимости от наличия и вида патологии выходного тракта левого желудочка

Показатель, Ме (25–75-й перцентиль)	Пациенты с аневризмой аорты	Пациенты с аортальным стенозом	Пациенты без патологии аорты
Число больных	69	25	16
Возраст, годы	61 (55–63)	62 (57–66)	59 (53–63)
Гендерный состав, м/ж	52/17	10/15	9/7
САД, мм рт. ст.	140 (120–150)	130 (120–140)	140 (120–160)
ДАД, мм рт. ст.	80 (80–90)	80 (70–85)	80 (80–95)
ИМТ	28,8 (25,8–32,1)	26,1 (23,0–30,7)	31,0 (27,2–35,9)
Глюкоза, мМ	5,41 (4,93–5,83)*	5,59 (5,13–5,70)	6,13 (5,38–6,84)
Креатинин, мкМ	78,0 (70,0–91,0)**	68,0 (62,0–80,0)	81,5 (77,0–100,0)
Общий холестерин, мМ	4,81 (3,86–5,77)	5,30 (4,46–6,22)	5,34 (4,50–5,88)
Холестерин ЛПНП, мМ	2,85 (2,11–3,68)	3,27 (2,73–4,24)	3,07 (2,29–4,07)
Холестерин ЛПВП, мМ	1,18 (0,97–1,34)	1,22 (1,11–1,60)	1,09 (1,00–1,29)
Триацилглицериды, мМ	1,44 (0,99–1,87)	1,18 (0,95–1,73)	1,84 (1,39–2,42)
СРБ, мг/л	1,56 (0,72–3,40)	1,52 (0,67–3,03)	1,92 (1,30–3,19)
Аланинаминотрансфераза, Е/л	20,5 (18,5–23,8)	19,0 (17,8–21,8)	22,0 (18,0–30,0)
Аспаратаминотрансфераза, Е/л	21,0 (18,5–25,5)	24,0 (20,0–25,5)	20,0 (18,0–26,0)
Общая креатинкиназа, Е/л	87,0 (62,0–99,5)	68,5 (44,5–89,0)	72,5 (49,0–81,0)

Примечание. ДАД и САД – соответственно диастолическое и систолическое артериальное давление; ИМТ – индекс массы тела; ЛПВП – липопротеиды высокой плотности; ЛПНП – липопротеиды низкой плотности; СРБ – С-реактивный белок;

* – различия с подгруппой пациентов без патологии выходного тракта левого желудочка, $p = 0,019$, критерий Манна–Уитни;

** – различия с подгруппой пациентов с аортальным стенозом, $p = 0,043$, критерий Манна–Уитни.

для исключения влияния физиологического апоптоза в ходе менструального цикла у молодых лиц [17] в качестве группы сравнения использовались результаты регулярных доноров крови в возрасте от 55 лет до 61 года ($n = 20$, 10 мужчин и 10 женщин).

Материал исследования – плазма крови, взятая из кубитальной вены утром натощак в вакутейнеры с цитратом натрия в качестве антикоагулянта. В ходе работы строго выдержаны временной и температурный режимы процессирования биоматериала. Кровь объемом не менее 5 мл после взятия помещали на лед (температура около 0°C). Процедуру отделения форменных элементов крови проводили в течение не более 20 мин от момента взятия крови. Кровь центрифугировали 15 мин при 580 г (3000 об/мин). Образцы плазмы до анализа хранили при температуре -80°C.

Содержание белков в плазме определяли с помощью коммерческих иммуноферментных наборов: PGC1 α (Uscn Life Science Inc., КНР), CytC (Bender MedSystems GmbH, Австрия); инсулиноподобный фактор роста 1 (ИФР-1; DRG Instruments GmbH, Германия); ретинолсвязывающий белок 4 (РСБ-4; Immundiagnostik AG, Германия). Чувствительность определения PGC1 α в плазме крови по данным производителя составляла не менее 61 нг/л. Для CytC предел аналитического использования набора составил 50 нг/л.

Концентрацию молочной кислоты (МК, лактат) в плазме крови определяли колориметрически с помощью лактатоксидазного теста по набору Витал Девелопмент Корпорэйшн (Россия).

Концентрацию пировиноградной кислоты (ПВК, пируват) определяли в безбелковом ультрафильтрате плазмы энзиматическим методом с использованием лактатдегидрогеназы (ЛДГ). По данным литературы [18], концентрация ПВК

в крови у здоровых людей может колебаться в пределах до 100 мкМ. Ультрафильтрация препаратов плазмы была проведена в соответствии с рекомендациями производителя и ранее описанной модификацией [19]. Для получения безбелкового ультрафильтрата плазму крови смешивали с 0,9% раствором NaCl в соотношении 1:4. Ультрафильтрат плазмы получали центрифугированием при 2000 г в течение 1 ч при 4°C с использованием центрифужных приспособлений вместимостью 500 мкл Vivaspin 3,000 MWCO PES (Sartorius, Германия). Реакционная смесь объемом 330 мкл включала: 130 мкл ультрафильтрата, 130 мкл 50 мМ трис-HCl буфера pH 7,8, 15 мкл препарата ЛДГ (Sigma-Aldrich, США) с удельной активностью 50 U/мл и 45 мкл 1 мМ раствора NADH. Измеряли снижение оптической плотности при 340 нм. Оно завершилось в описанных условиях через 10 мин после добавления препарата ЛДГ при различном содержании ПВК до полного его исчерпания в реакционной смеси. Концентрацию ПВК определяли по данным предварительно полученной калибровочной кривой в аналитическом диапазоне 10–200 мкМ натриевой соли ПВК (Sigma-Aldrich, США). В качестве холостых проб служили реакционные смеси без добавления ПВК и препарата ЛДГ для определения вклада в оптическую плотность каждого из них.

Концентрацию общего гомоцистеина (оГци) определяли, как описано ранее [20, 21].

Концентрацию метилированных метаболитов аргинина – асимметричного диметиларгинина (АДМА) и симметричного диметиларгинина (СДМА) – определяли методом ВЭЖХ после твердофазной экстракции с использованием катионообменных картриджей Oasis MCX 1 cc 30 мг (Waters Corp., США) с последующей дериватизацией ортофталевым альдегидом [22, 23].

Уровень глюкозы, креатинина, трансаминаз и сыровоточного уровня СРБ в периферической крови исследовали с помощью стандартных наборов фирмы Roche для биохимического анализатора Cobas Integra 400 Plus. Концентрацию общего холестерина и холестерина ЛПНП и ЛПВП и триацилглицеридов в сыворотке крови определяли с использованием стандартных наборов реактивов фирмы Abbott Clinical Chemistry.

Статистическую обработку результатов выполняли с использованием пакета программ SAS 9.3. Степень соответствия закона распределения данных нормальному распределению оценивали с помощью критериев Шапиро–Уилка и Колмогорова–Смирнова. Данные представлены в виде медианы и межквартильного размаха (Ме (Q1–Q3)). Относительная частота рассчитывалась как отношение числа интересующих случаев к общему числу исследований в группе (m/n). Для оценки межгрупповых различий использован непараметрический критерий Манна–Уитни. Анализ распределения частот проводили с помощью критерия согласия Пирсона и точного критерия Фишера. В случае сравнения более двух групп уровни значимости различий приведены с учетом поправки Бонферрони. Корреляционный анализ проведен с применением критерия Спирмена. Критический уровень достоверности нулевой статистической гипотезы принимали равным 0,05.

Результаты и обсуждение. Группа пациентов в целом характеризовалась умеренными отклонениями концентраций рутинных биохимических показателей от референтных значе-

Значения исследованных показателей

Показатель, Ме (25–75-й перцентиль)	Группа сравнения	Пациенты с аневризмой аорты	Пациенты с аортальным стенозом	Пациенты без патологии аорты
Число больных	34	69	25	16
Возраст, годы	22 (21–22)	61 (55–63)	62 (57–66)	59 (53–63)
Гендерный состав, м/ж	6/28	52/17	10/15	9/7
МК, ммоль	0,62 (0,50–0,73)	1,10 (0,90–1,44)* * <i>p</i> < 0,0001 ^k	1,13 (0,92–1,49)* * <i>p</i> < 0,0001	1,32 (1,02–2,42)* * <i>p</i> < 0,0001
ПВК, мкмоль/л	66,0 (32,6–87,0)	63,8 (40,3–72,5)	77,3 (48,3–94,2)	48,3 (39,3–58,4)
МК/ПВК	14 (8–18)	20 (16–25)* * <i>p</i> < 0,01	17 (13–23)	27 (23–39)*, **, *** * <i>p</i> < 0,0001 ** <i>p</i> < 0,01 *** <i>p</i> < 0,001
оГци, мкмоль/л	5,8 (4,8–6,7)	8,9 (7,0–10,4)* * <i>p</i> < 0,0001	5,4 (4,5–8,0)** ** <i>p</i> < 0,05	7,1 (6,2–8,5)
АДМА, мкмоль/л	0,26 (0,16–0,37)	0,46 (0,39–0,51)* * <i>p</i> < 0,0001	0,46 (0,42–0,53)* <i>p</i> < 0,0001	0,42 (0,37–0,52)* * <i>p</i> < 0,01
СДМА, мкмоль/л	0,18 (0,07–0,24)	0,46 (0,39–0,53)* * <i>p</i> < 0,0001	0,46 (0,42–0,48)* * <i>p</i> < 0,0001	0,42 (0,36–0,50)* * <i>p</i> < 0,0001
PGC1α, нг/л	61,0 (61,0–67,8)	119,4 (73,4–171,5)* * <i>p</i> < 0,0001	107,0 (61,0–142,7)	97,4 (61,0–142,7)* * <i>p</i> < 0,05
РСБ-4, мг/л	20–75 ⁿ	48,3 (39,3–63,5)	–	50,0 (41,5–57,0)
ИФР-1, мкг/л	39,0 (34,0–6,0)(<i>n</i> = 10)	26,0 (22,0–32,0)* * <i>p</i> < 0,01	35,0 (28,0–42,0)** ** <i>p</i> < 0,01	28,5 (21,5–31,5)*, ** * <i>p</i> < 0,05 *** <i>p</i> < 0,05

Примечание. ^k – критерий Манна–Уитни, значения *p* приведены с учетом поправки 2Бонферрони (для четырех групп сравнения равна 6); * – различия с группой сравнения, ** – различия с подгруппой пациентов с аневризмой аорты, *** – различия с подгруппой пациентов с аортальным стенозом; ⁿ – референтный интервал для взрослых людей из инструкции к набору реактивов.

ний: глюкоза 5,5 (5,1–5,9) мМ, креатинин 77,0 (67,0–90,5) мкМ, общий холестерин 5,09 (4,06–5,82) мМ, холестерин ЛПНП 2,97 (2,16–3,89) мМ, холестерин ЛПВП 1,15 (1,00–1,35) мМ, триацилглицериды 1,50 (1,02–1,89) мМ, СРБ 1,67 (0,74–3,26) мг/л, аланинаминотрансфераза 20 (17–24) Е/л, аспаргатаминотрансфераза 21 (19–26) Е/л и общая креатинфосфокиназа 83 (54–100) Е/л. В сравнении с лицами с аневризмой аорты обследуемые с аортальным стенозом имели более низкий уровень креатинина (*p* = 0,043), а лица с нарушением периферического кровообращения без патологии аорты – достоверно более высокий уровень глюкозы (*p* = 0,019; см. табл. 1). Различий между подгруппами пациентов в зависимости от диагноза по основным общепринятым показателям липидного обмена не выявлено (см. табл. 1).

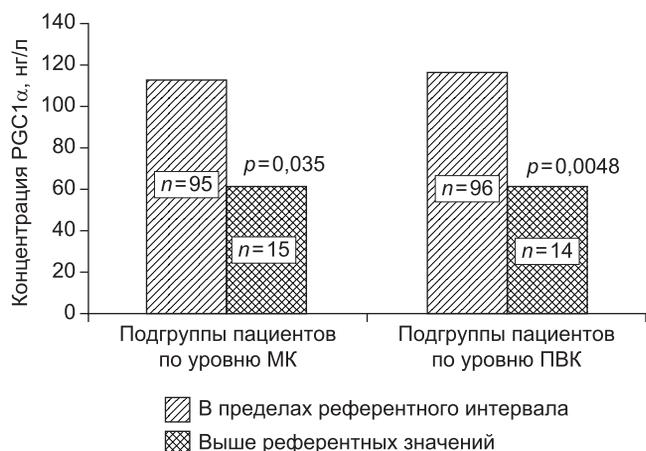
Показатели дисфункции митохондрий и эндотелия, в том числе МК, оГци, АДМА, СДМА (*p* < 0,0001 для всех), а также соотношение МК/ПВК (*p* = 0,014) в подгруппах пациентов были выше, чем у здоровых. Различия сохранились и при рассмотрении подгрупп в зависимости от патологии выходного тракта левого желудочка (табл. 2). Так как ни в одной из подгрупп обследуемых не отмечено повышения концентрации СРБ (см. табл. 1), развитие дисфункции митохондрий у них не сопровождалось выраженным воспалительным процессом.

Уровень оГци в подгруппе с аортальным стенозом был ниже, чем у лиц с аневризмой аорты; в подгруппе без патологии аорты с периферическим нарушением кровообращения отмечалось повышение отношения МК/ПВК (см. табл. 2).

Существенные сдвиги у пациентов отмечены при рассмотрении белковых маркеров. В группе пациентов в целом (*n* = 110) относительно здоровых обнаружено повышение

концентрации PGC1α почти в 2 раза – 109,8 (61,0–156,4) и 61,0 (61,0–67,8) нг/л соответственно (*p* < 0,0001). Следует отметить, что в 70% образцов крови в группе сравнения уровень PGC1α был ниже 61 нг/л, в то время как в плазме крови пациентов значения концентрации белка выходили за уровень ниже 61 нг/л лишь в 30% наблюдений ($\chi^2 = 13,21$; *p* = 0,0003). Группа здоровых людей характеризовалась не только низким уровнем PGC1α, но и небольшим разбросом значений концентрации данного белка (CV% = 13,5) в сравнении с пациентами, у которых концентрация PGC1α колебалась в больших пределах – CV% = 60,0.

Концентрация CytC была выше 50 нг/л у 19 (17%) пациентов из 110 и составила 500 (170–670) нг/л. В группе сравнения (здоровые лица в возрасте от 55 лет до 61 года) этот процент оказался ниже – только у 1 (5%) из 20 человек концентрация белка была 160 нг/л. Среди 19 человек 12 были с аневризмой аорты, 3 – с аортальным стенозом и 4 – без патологии аорты. Относительно молодых здоровых лиц эти пациенты характеризовались существенным повышением уровня МК (*p* < 0,0001), оГци (*p* = 0,027), АДМА (*p* = 0,0015), СДМА (*p* < 0,0001) и соотношения МК/ПВК (*p* = 0,0045): 1,14 (1,03–1,42) мМ, 9,0 (5,2–10,5) мкМ, 0,44 (0,39–0,48) мкМ, 0,42 (0,39–0,48) мкМ и 23 (16–26) соответственно. При этом концентрация PGC1α у лиц с высоким уровнем CytC имела тенденцию к снижению (71,0 (61,0–126,2) и 118,0 (65,9–161,9) нг/л соответственно; *p* = 0,095), а концентрация ИФР-1 – к повышению (32,0 (29,0–36,0) и 28,0 (22,0–33,0) мкг/л соответственно; *p* = 0,066). В группе пациентов уровень CytC выше 50 нг/л достоверно чаще встречался среди лиц с низким уровнем PGC1α (38%) в сравнении с пациентами, у которых концентрация PGC1α превышала 61 нг/л (16%; $\chi^2 = 4,61$; *p* =



Снижение концентрации PGC1α у пациентов с лактоацидозом и пируватацидезией.

0,032). Концентрации СРБ и трансаминаз у лиц с высоким уровнем СytС в сравнении с обследуемыми с уровнем этого белка ниже 50 нг/л ($n = 91$) не различались.

Отмеченные изменения в группе пациентов в целом сопровождались снижением концентрации ИФР-1 ($p < 0,0001$) в сравнении со здоровыми. Следует подчеркнуть, что в подгруппе с аортальным стенозом концентрация ИФР-1 была несколько выше, чем в остальных подгруппах, и приближалась к таковой в группе сравнения (см. табл. 2). Уровень РСБ-4 ни у одного из обследованных пациентов не выходил за пределы референтного интервала (см. табл. 2), что свидетельствует об отсутствии существенного нарушения синтеза белка у пациентов.

У пациентов ($n = 15$) с уровнем МК выше верхней границы референтного интервала (2,2 мМ), имевших различный генез нарушений кровообращения, наблюдался низкий уровень PGC1α, составивший 61,0 (61,0–142,7) нг/л. Этот уровень был достоверно ниже ($p = 0,035$), чем у остальных пациентов – 112,5 (65,9–161,9) нг/л, и не отличался от концентрации этого белка в когорте здоровых ($p > 0,05$; см. рисунок). У лиц ($n = 14$) с уровнем ПВК выше верхней границы референтного интервала (100 мкМ) относительно всех остальных пациентов также обнаружено снижение ($p = 0,0048$) уровня PGC1α – 61,0 (61,0–81,4) и 116,6 (80,9–159,2) нг/л соответственно (см. рисунок). Кроме того, корреляционный анализ выявил в группе пациентов обратную связь концентрации ПВК с уровнем PGC1α ($r = -0,40$, $p = 0,0005$). Таким образом, у основной части пациентов обнаружена активация синтеза и выделения в общий кровоток PGC1α, однако по мере прогрессирования процесса с развитием лактоацидоза и пируватацидемии концентрация PGC1α в крови снижалась. Нельзя исключить значительное прямое влияние тканевого ацидоза на биосинтез и процессинг PGC1α и других белков. В экспериментах на мышах показано, что хроническое повышение уровня МК в тканях сопровождается снижением экспрессии гена PGC1α и нарушением биогенеза митохондрий [16]. Таким образом, уровень этого белка в отличие от СytС может повышаться в крови в условиях развития дисфункции митохондрий, не сопровождающейся гибелью клеток и высоким ацидозом.

Более 10 лет СytС активно исследуется как системный маркер тяжести патологического процесса, сопровождающегося гибелью клеток [8]. Повышение концентрации СytС до значений в десятки микрограммов на 1 л обнаружено при гемофагоцитарном синдроме [24], фульминантной форме гепатита [25], системных воспалительных процессах с развитием мультиорганный недостаточности [26], острой энцефалопатии [27]. На уровне нескольких микрограммов на 1 л наблюдается концентрация СytС при реакции трансплантат

против хозяина [24], остром инфаркте миокарда, причем при наличии реперфузионных повреждений миокарда обнаружено повышение концентрации СytС в среднем до 1,5 мкг/л, а без таковых – до 1 мкг/л [28]. У здоровых людей, согласно нашим данным, а также публикациям других исследователей, концентрация СytС, по-видимому, должна быть низкой, на уровне аналитического предела обнаружения в 50–100 нг/л и менее [26, 29, 30]. Таким образом, СytС в настоящее время можно рассматривать в качестве маркера активности патологического процесса, сопровождающегося гибелью клеток, и эффективности проводимой терапии [9, 31]. Не обнаружено повышения концентрации данного белка у лиц с сахарным диабетом 2-го типа [32]. В эксперименте показано, что рост концентрации СytС на фоне тотальной ишемии тела продолжается даже после восстановления кровообращения и нормализации концентрации МК в крови [7]. Наличие данного “шлейфа” необходимо учитывать при оценке эффективности лечения заболеваний, особенно сопровождающихся небольшим подъемом уровня СytС [33].

Повышение концентрации PGC1α в плазме крови пациентов, вероятно, может быть связано с активацией его синтеза в тканях, а также с увеличением его потерь клетками. Как отмечено выше, нами не выявлено повышения уровня маркеров клеточной проницаемости, а также наличия корреляционной связи между этими маркерами и концентрациями PGC1α и СytС. Таким образом, повышение концентрации PGC1α в периферической крови, вероятно, не связано с нарушением проницаемости клеточных мембран, а объясняется более сложным механизмом. Поскольку время существования PGC1α в клетке короткое (менее 2 ч) [34], его концентрация в крови может отражать изменение экспрессии гена и синтеза самого белка в клетке. Следует отметить отсутствие связи уровня PGC1α с концентрацией РСБ-4, другого короткоживущего белка плазмы крови (период полужизни ~ 12–15 ч), отражающего отсутствия нарушений трофических процессов на уровне организма [35], а также с уровнем ИФР-1, одного из маркеров нарушения регуляции энергетического метаболизма [36]. В связи с этим низкая концентрация PGC1α у ряда пациентов и здоровых людей не связана с общим угнетением синтеза белка или нарушением нутритивного статуса. В свою очередь повышение концентрации СytС в крови отражает его высвобождение из митохондрий в цитоплазму клеток. По-видимому, уровень PGC1α в крови определяется механизмом экзоцитоза без существенного нарушения проницаемости клеток, а также его содержанием в тканях, зависящим от нарушения использования энергетических метаболитов митохондрионом. Из числа обследованных пациентов только у 6,2% отсутствовало повышение уровня PGC1α в сочетании с уровнем МК, таким же как в референтной группе. В число этих пациентов попали поровну представители подгрупп с патологическим состоянием выходного тракта левого желудочка и только 1 пациент из подгруппы с периферическим нарушением кровообращения. Роль увеличения содержания PGC1α в крови при отсутствии лактоацидоза в механизме регуляции обновления митохондриона на органном уровне требует дальнейшего изучения. У пациентов с умеренной лактоацидезией повышенное содержание PGC1α в крови может характеризовать стадию стимуляции образования так называемых гигантских митохондрий [37], появляющихся в мышечных тканях, в том числе при старении организма [38].

Заключение. У пациентов с различными причинами нарушения кровообращения обнаружен сдвиг содержания в крови маркеров дисфункции митохондрий и эндотелия. В соответствии с проведенным исследованием в подгруппе пациентов с аневризмой аорты выявлены наиболее значительные изменения изученных белковых маркеров. Определение концентрации СytС позволяет диагностировать наличие процессов клеточной гибели у пациентов с дисфункцией эндотелия и митохондрий. В то же время оценка уровня интермедиатов энергетического обмена и одновременно белка PGC1α по-

звolyет выявить, по крайней мере, три степени дисфункции митохондрий в зависимости от стадии ее прогрессирования: 1) без лактоацидемии, но с выявлением PGC1 α в крови, 2) с лактоацидезией до 2,2 мМ и повышенным уровнем PGC1 α в крови (выше 61 нг/л), 3) с лактоацидозом и утратой способности клеток к переносу этого белка в кровь. Использование общепринятых метаболических показателей нарушения функции митохондрий, дополненное определением уровня СутС и PGC1 α в крови, позволяет более полно оценить развитие дисфункции митохондрий у больных с нарушениями кровообращения различного генеза.

ЛИТЕРАТУРА

- Skulachev V.P. What Is «Phenoptosis» and How to Fight It? *Biochemistry (Moscow)*. 2012; 77 (7): 689–706.
- Zorov D.B., Isaev N.K., Plotnikov E.Y., Silachev D.N., Zorova L.D., Pevzner I.B. et al. Perspectives of Mitochondrial Medicine. *Biochemistry (Moscow)*. 2013; 78 (9): 979–90.
- Kozlov A.V., Bahrami S., Calzia E., Dungal P., Gille L., Kuznetsov A.V. et al. Mitochondrial dysfunction and biogenesis: do ICU patients die from mitochondrial failure? *Ann. Int. Care*. 2011; 1: 41.
- Rodenburg R.J.T. Biochemical diagnosis of mitochondrial disorders. *J. Inher. Metab. Dis*. 2011; 34 (2): 283–92.
- Жлоба А.А., Маевская Е.Г. Дисфункция анаплеротического пути энергетического метаболизма от аминокислот к сукцинату у лиц старшей возрастной группы. *Артериальная гипертензия*. 2011; 17 (1): 74–8.
- Клейменова Н.В., Тозлиян Е.В., Николаева Е.А., Семьякина А.Н., Сухоруков В.С., Кобринский Б.А. и др. Способ дифференциальной диагностики полисистемной митохондриальной недостаточности у детей. Патент РФ № 2312347, 2005.
- Radhakrishnan J., Wang S., Ayoub I.M., Kolarova J.D., Levine R.F., Gazmuri R.J. Circulating levels of cytochrome c after resuscitation from cardiac arrest: a marker of mitochondrial injury and predictor of survival. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol*. 2007; 292 (2): H767–75.
- Renz A., Berdel W.E., Kreuter M., Belka C., Schulze-Osthoff K., Los M. Rapid extracellular release of cytochrome c is specific for apoptosis and marks cell death in vivo. *Blood*. 2001; 98 (5): 1542–8.
- Barczyk K., Kreuter M., Pryjma J., Booy E.P., Maddika S., Ghavami S. et al. Serum cytochrome c indicates in vivo apoptosis and can serve as a prognostic marker during cancer therapy. *Int. J. Cancer*. 2005; 116 (2): 167–73.
- Kunitomo R., Miyauchi Y., Inoue M. Synthesis of a cytochrome c derivative with prolonged in vivo half-life and determination of ascorbyl radicals in the circulation of the rat. *J. Biol. Chem*. 1992; 267 (13): 8732–8.
- Chang J.S., Huypens P., Zhang Y., Black C., Kralli A., Gettys T.W. Regulation of NT-PGC-1 α subcellular localization and function by protein kinase A-dependent modulation of nuclear export by CRM1. *J. Biol. Chem*. 2010; 285 (23): 18 039–50.
- Aquilano K., Vigilanza P., Baldelli S., Pagliari B., Rotilio G., Ciriolo M.R. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma co-activator 1 α (PGC-1 α) and sirtuin 1 (SIRT1) reside in mitochondria: possible direct function in mitochondrial biogenesis. *J. Biol. Chem*. 2010; 285 (28): 21 590–9.
- Dillon L.M., Rebelo A.P., Moraes C.T. The role of PGC-1 coactivators in aging skeletal muscle and heart. *IUBMB Life*. 2012; 64 (3): 231–41.
- Finck B.N., Kelly D.P. PGC-1 coactivators: inducible regulators of energy metabolism in health and disease. *J. Clin. Invest*. 2006; 116 (3): 615–22.
- Austin S., St-Pierre J. PGC1 α and mitochondrial metabolism: emerging concepts and relevance in ageing and neurodegenerative disorders. *J. Cell Sci*. 2012; 125 (Pt 21): 4963–71.
- Ogasawara E., Nakada K., Hayashi J. Lactic acidemia in the pathogenesis of mice carrying mitochondrial DNA with a deletion. *Hum. Mol. Genet*. 2010; 19 (16): 3179–89.
- Kokawa K., Shikone T., Nakano R. Apoptosis in the human uterine endometrium during the menstrual cycle. *J. Clin. Endocrinol. Metab*. 1996; 81 (11): 4144–7.
- Kazmeirczak S.C. Pyruvic acid. In: Kaplan L.A., Pesce A.J., eds. *Clinical chemistry: theory, analysis, and correlation*. 3rd ed. St. Louis (MO): Mosby-Year Book Inc.; 1996: 482–3.
- Алексеевская Е.С., Жлоба А.А., Субботина Т.Ф. Ультрафильтрация в преаналитической стадии при определении концентрации молочной кислоты в плазме крови. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2013; (11): 27–31.
- Zhloba A.A., Blashko E.L. Liquid chromatographic determination of total homocysteine in blood plasma with photometric detection. *J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci*. 2004; 800 (1–2): 275–80.
- Zhloba A.A., Subbotina T.F. Homocysteinylolation score of high-molecular weight plasma proteins. *Amino Acids*. 2014; 46 (4): 893–9.
- Schwedhelm E. Quantification of ADMA: analytical approaches. *Vasc. Med*. 2005; 10 (2, Suppl. 1): S89–95.
- Гишинский М.А., Аизман Р.И., Корощенко Г.А., Лагышева Т.В., Новоселова Т.И., Петракова Г.М. и др. Метиларгинины у крыс в глицериновой модели острой почечной недостаточности. *Бюллетень СО РАМН*. 2010; 30 (4): 82–6.
- Adachi N., Endo F., Nunoi H., Watanabe K. Method of detecting cell death and detection reagent. Patent WO 2001035093 A1, 2001.
- Sakaida I., Kimura T., Yamasaki T., Fukumoto Y., Watanabe K., Aoyama M. et al. Cytochrome c is a possible new marker for fulminant hepatitis in humans. *J. Gastroenterol*. 2005; 40 (2): 179–85.
- Adachi N., Hirota M., Hamaguchi M., Okamoto K., Watanabe K., Endo F. Serum cytochrome c level as a prognostic indicator in patients with systemic inflammatory response syndrome. *Clin. Chim. Acta*. 2004; 342 (1–2): 127–36.
- Hosoya M., Kawasaki Y., Katayose M., Sakuma H., Watanabe M., Igarashi E. et al. Prognostic predictive values of serum cytochrome c, cytokines, and other laboratory measurements in acute encephalopathy with multiple organ failure. *Arch. Dis. Child*. 2006; 91 (6): 469–72.
- Marenzi G., Giorgio M., Trinei M., Moltrasio M., Ravagnani P., Cardinale D. et al. Circulating cytochrome c as potential biomarker of impaired reperfusion in ST-segment elevation acute myocardial infarction. *Am. J. Cardiol*. 2010; 106 (10): 1443–9.
- Karaflou M., Kaparos G., Rizos D., Creatsa M., Christodoulakos G., Lambrinoukaki I. Estrogen plus progestin treatment: effect of different progestin components on serum markers of apoptosis in healthy postmenopausal women. *Fertil. Steril*. 2010; 94 (6): 2399–401.
- Parfieniuk-Kowerda A., Lapinski T.W., Rogalska-Plonska M., Swiderska M., Panasiuk A., Jaroszewicz J. et al. Serum cytochrome c and m30–neoepitope of cytokeratin-18 in chronic hepatitis C. *Liver Int*. 2014; 34 (4): 544–50.
- Kadam C.Y., Abhang S.A. Serum levels of soluble Fas ligand, granzyme B and cytochrome c during adjuvant chemotherapy of breast cancer. *Clin. Chim. Acta*. 2014; 438C: 98–102.
- Dincer Y., Himmetoglu S., Yalin S., Damci T., Ilkova H., Akcay T. Serum levels of p53 and cytochrome c in subjects with type 2 diabetes and impaired glucose tolerance. *Clin. Invest. Med*. 2009; 32 (4): E266–70.
- Dincer Y., Himmetoglu S., Bozcali E., Vural V.A., Akcay T. Circulating p53 and cytochrome c levels in acute myocardial infarction patients. *J. Thromb. Thrombolysis*. 2010; 29 (1): 41–5.
- Sano M., Tokudome S., Shimizu N., Yoshikawa N., Ogawa C., Shirakawa K. et al. Intramolecular Control of Protein Stability, Subnuclear Compartmentalization, and Coactivator Function of Peroxisome Proliferator-activated Receptor γ Coactivator 1 α . *J. Biol. Chem*. 2007; 282 (35): 25 970–80.
- Sensi M., Bruno M.R., Valente L., Cioccia G.P., Chianelli M., Pozzilli P. Retinol binding protein: a short half life determinant of protein non enzymatic glycation in diabetes. *Diabetes Res*. 1990; 13 (4): 195–8.
- Guler H.P., Zapf J., Schmid C., Froesch E.R. Insulin-like growth factors I and II in healthy man. Estimations of half-lives and production rates. *Acta Endocrinol. (Copenh)*. 1989; 121 (6): 753–8.
- Liesa M., Palacin M., Zorzano A. Mitochondrial dynamics in mammalian health and disease. *Physiol. Rev*. 2009; 89 (3): 799–845.
- Coleman R., Silbermann M., Gershon D., Reznick A.Z. Giant mitochondria in the myocardium of aging and endurance-trained mice. *Gerontology*. 1987; 33 (1): 34–9.

REFERENCES

- Skulachev V.P. What Is “Phenoptosis” and How to Fight It? *Biochemistry (Moscow)*. 2012; 77 (7): 689–706.
- Zorov D.B., Isaev N.K., Plotnikov E.Y., Silachev D.N., Zorova L.D.,

- Pevzner I.B. et al. Perspectives of Mitochondrial Medicine. *Biochemistry (Moscow)*. 2013; 78 (9): 979–90.
3. Kozlov A.V., Bahrami S., Calzia E., Dungal P., Gille L., Kuznetsov A.V. et al. Mitochondrial dysfunction and biogenesis: do ICU patients die from mitochondrial failure? *Ann. Int. Care*. 2011; 1: 41.
 4. Rodenburg R.J.T. Biochemical diagnosis of mitochondrial disorders. *J. Inherit. Metab. Dis.* 2011; 34 (2): 283–92.
 5. Zhloba A.A., Maevskaya E.G. The dysfunction of anaplerotic pathway of energy metabolism from amino acids to succinate in the elderly. *Arterial'naya gipertenziya*. 2011; 17 (1): 74–8. (in Russian)
 6. Kleimenova N.V., Tozliyan E.V., Nikolaeva E.A., Semyachkina A.N., Sukhorukov V.S., Kobrinskii B.A. et al. A method for the differential diagnosis of polysystemic mitochondrial failure in children. Patent RF № 2132347, 2005. (in Russian)
 7. Radhakrishnan J., Wang S., Ayoub I.M., Kolarova J.D., Levine R.F., Gazmuri R.J. Circulating levels of cytochrome c after resuscitation from cardiac arrest: a marker of mitochondrial injury and predictor of survival. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2007; 292 (2): H767–75.
 8. Renz A., Berdel W.E., Kreuter M., Belka C., Schulze-Osthoff K., Los M. Rapid extracellular release of cytochrome c is specific for apoptosis and marks cell death in vivo. *Blood*. 2001; 98 (5): 1542–8.
 9. Barczyk K., Kreuter M., Pryjma J., Booy E.P., Maddika S., Ghavami S. et al. Serum cytochrome c indicates in vivo apoptosis and can serve as a prognostic marker during cancer therapy. *Int. J. Cancer*. 2005; 116 (2): 167–73.
 10. Kunitomo R., Miyauchi Y., Inoue M. Synthesis of a cytochrome c derivative with prolonged in vivo half-life and determination of ascorbyl radicals in the circulation of the rat. *J. Biol. Chem.* 1992; 267 (13): 8732–8.
 11. Chang J.S., Huypens P., Zhang Y., Black C., Kralli A., Gettys T.W. Regulation of NT-PGC-1 α subcellular localization and function by protein kinase A-dependent modulation of nuclear export by CRM1. *J. Biol. Chem.* 2010; 285 (23): 18 039–50.
 12. Aquilano K., Vigilanza P., Baldelli S., Pagliari B., Rotilio G., Ciriolo M.R. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma co-activator 1 α (PGC-1 α) and sirtuin 1 (SIRT1) reside in mitochondria: possible direct function in mitochondrial biogenesis. *J. Biol. Chem.* 2010; 285 (28): 21 590–9.
 13. Dillon L.M., Rebelo A.P., Moraes C.T. The role of PGC-1 coactivators in aging skeletal muscle and heart. *IUBMB Life*. 2012; 64 (3): 231–41.
 14. Finck B.N., Kelly D.P. PGC-1 coactivators: inducible regulators of energy metabolism in health and disease. *J. Clin. Invest.* 2006; 116 (3): 615–22.
 15. Austin S., St-Pierre J. PGC1 α and mitochondrial metabolism: emerging concepts and relevance in ageing and neurodegenerative disorders. *J. Cell Sci.* 2012; 125 (Pt 21): 4963–71.
 16. Ogasawara E., Nakada K., Hayashi J. Lactic acidemia in the pathogenesis of mice carrying mitochondrial DNA with a deletion. *Hum. Mol. Genet.* 2010; 19 (16): 3179–89.
 17. Kokawa K., Shikone T., Nakano R. Apoptosis in the human uterine endometrium during the menstrual cycle. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1996; 81 (11): 4144–7.
 18. Kazmeirczak S.C. Pyruvic acid. In: Kaplan L.A., Pesce A.J., eds. *Clinical chemistry: theory, analysis, and correlation*. 3rd ed. St. Louis (MO): Mosby-Year Book Inc.; 1996: 482–3.
 19. Alekseevskaya E.S., Zhloba A.A., Subbotina T.F. The ultrafiltration at pre-analytical stage under detection of concentration of lactic acid in blood plasma. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2013; (11): 27–31. (in Russian)
 20. Zhloba A.A., Blashko E.L. Liquid chromatographic determination of total homocysteine in blood plasma with photometric detection. *J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.* 2004; 800 (1–2): 275–80.
 21. Zhloba A.A., Subbotina T.F. Homocysteinylation score of high-molecular weight plasma proteins. *Amino Acids*. 2014; 46 (4): 893–9.
 22. Schwedhelm E. Quantification of ADMA: analytical approaches. *Vasc. Med.* 2005; 10 (2, Suppl. 1): S89–95.
 23. Gilinskiy M.A., Ayzman R.I., Koroshchenko G.A., Latysheva T.V., Novoselova T.I., Petrakova G.M. et al. Methylarginines in glycerol induced acute renal failure of rat. *Byulleten' SO RAMN*. 2010; 30 (4): 82–6. (in Russian)
 24. Adachi N., Endo F., Nunoi H., Watanabe K. Method of detecting cell death and detection reagent. Patent WO 2001035093 A1, 2001.
 25. Sakaida I., Kimura T., Yamasaki T., Fukumoto Y., Watanabe K., Aoyama M. et al. Cytochrome c is a possible new marker for fulminant hepatitis in humans. *J. Gastroenterol.* 2005; 40 (2): 179–85.
 26. Adachi N., Hirota M., Hamaguchi M., Okamoto K., Watanabe K., Endo F. Serum cytochrome c level as a prognostic indicator in patients with systemic inflammatory response syndrome. *Clin. Chim. Acta*. 2004; 342 (1–2): 127–36.
 27. Hosoya M., Kawasaki Y., Katayose M., Sakuma H., Watanabe M., Igarashi E. et al. Prognostic predictive values of serum cytochrome c, cytokines, and other laboratory measurements in acute encephalopathy with multiple organ failure. *Arch. Dis. Child.* 2006; 91 (6): 469–72.
 28. Marenzi G., Giorgio M., Trinei M., Moltrasio M., Ravagnani P., Cardinali D. et al. Circulating cytochrome c as potential biomarker of impaired reperfusion in ST-segment elevation acute myocardial infarction. *Am. J. Cardiol.* 2010; 106 (10): 1443–9.
 29. Karaflo M., Kaparos G., Rizos D., Creatsa M., Christodoulakos G., Lambrinoukaki I. Estrogen plus progestin treatment: effect of different progestin components on serum markers of apoptosis in healthy postmenopausal women. *Fertil. Steril.* 2010; 94 (6): 2399–401.
 30. Parfieniuk-Kowarda A., Lapinski T.W., Rogalska-Plonska M., Swiderska M., Panasiuk A., Jaroszewicz J. et al. Serum cytochrome c and m30–neoepitope of cytokeratin-18 in chronic hepatitis C. *Liver Int.* 2014; 34 (4): 544–50.
 31. Kadam C.Y., Abhang S.A. Serum levels of soluble Fas ligand, granzyme B and cytochrome c during adjuvant chemotherapy of breast cancer. *Clin. Chim. Acta*. 2014; 438C: 98–102.
 32. Dincer Y., Himmetoglu S., Yalin S., Damci T., Ilkova H., Akcay T. Serum levels of p53 and cytochrome c in subjects with type 2 diabetes and impaired glucose tolerance. *Clin. Invest. Med.* 2009; 32 (4): E266–70.
 33. Dincer Y., Himmetoglu S., Bozcali E., Vural V.A., Akcay T. Circulating p53 and cytochrome c levels in acute myocardial infarction patients. *J. Thromb. Thrombolysis*. 2010; 29 (1): 41–5.
 34. Sano M., Tokudome S., Shimizu N., Yoshikawa N., Ogawa C., Shirakawa K. et al. Intramolecular Control of Protein Stability, Subnuclear Compartmentalization, and Coactivator Function of Peroxisome Proliferator-activated Receptor γ Coactivator 1 α . *J. Biol. Chem.* 2007; 282 (35): 25 970–80.
 35. Sensi M., Bruno M.R., Valente L., Cioccia G.P., Chianelli M., Pozzilli P. Retinol binding protein: a short half life determinant of protein non enzymatic glycation in diabetes. *Diabetes Res.* 1990; 13 (4): 195–8.
 36. Guler H.P., Zapf J., Schmid C., Froesch E.R. Insulin-like growth factors I and II in healthy man. Estimations of half-lives and production rates. *Acta Endocrinol. (Copenh)*. 1989; 121 (6): 753–8.
 37. Liesa M., Palacin M., Zorzano A. Mitochondrial dynamics in mammalian health and disease. *Physiol. Rev.* 2009; 89 (3): 799–845.
 38. Coleman R., Silbermann M., Gershon D., Reznick A.Z. Giant mitochondria in the myocardium of aging and endurance-trained mice. *Gerontology*. 1987; 33 (1): 34–9.

Поступила 01.12.14

Received 01.12.14