

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2018

УДК 616.127-005.4-074

Жлоба А.А., Субботина Т.Ф., Молчан Н.С., Полушин Ю.С.

## УРОВЕНЬ ЦИРКУЛИРУЮЩЕГО ХУМАНИНА У ПАЦИЕНТОВ С ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА

ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова»  
Минздрава РФ, 197022, Санкт-Петербург, Россия

*В настоящее время большой интерес вызывают новые маркёры, определяемые в общем кровотоке для оценки нарушения окислительного метаболизма тканей из-за наличия вторичной митохондриальной дисфункции, которая обычно сопровождается снижением дыхания митохондрий и является основной причиной метаболических нарушений в тканях у пациентов с ишемической болезнью сердца. В качестве одного из новых маркёров снижения окислительного метаболизма митохондрий в тканях был предложен хуманин. Изучено содержание хуманина в сравнении с другими маркёрами энергетического обмена у 59 пациентов с ишемической болезнью сердца. У обследованных пациентов наблюдалось снижение уровня хуманина до 250 нг/л по сравнению с его уровнем 1110 (800–1000) нг/л у здоровых людей. При этом у большинства пациентов наблюдался повышенный уровень молочной кислоты – от 1,0 до 2,2 мМ, в 45% случаев сопровождающийся повышением концентрации также и пирувиноградной кислоты выше 99,1 мкМ. Также было обнаружено значительное снижение уровня гомоаргинина до 1,40 (1,0–2,0) против 2,3 (1,8–3,1) мкМ у здоровых людей. Мы обнаружили обратную корреляцию между уровнем хуманина и возрастом пациентов ( $R = -0,35$ ,  $p = 0,048$ ). Можно сделать вывод, что пациенты с ишемической болезнью сердца характеризуются более низким уровнем хуманина и гомоаргинина в крови, а также повышенным содержанием молочной кислоты – показателей, являющихся критериями ингибирования аэробных путей и снижения митохондриогенеза.*

**Ключевые слова:** хуманин; гомоаргинин; молочная кислота; митохондриогенез; ишемическая болезнь сердца.

**Для цитирования:** Жлоба А.А., Субботина Т.Ф., Молчан Н.С., Полушин Ю.С. Уровень циркулирующего хуманина у пациентов с ишемической болезнью сердца. Клиническая лабораторная диагностика. 2018; 63 (8): 466-470.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2018-63-8-466-470>

Zhloba A.A., Subbotina T.F., Molchan N.S., Polushin Yu.S.

THE LEVEL OF CIRCULATING HUMANIN IN PATIENTS WITH ISCHEMIC HEART DISEASE

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

*At present, great interest is caused with evaluation of new markers in blood circulation for the estimation a tissue oxidative metabolism disturbance due to the presence of secondary mitochondrial dysfunction in patients with coronary heart disease. Coronary heart disease is generally accompanied with a decline in mitochondrial respiration and represents the root cause of metabolic abnormalities in tissues. To gain insight into rate of decline of mitochondrial oxidative metabolism in tissues there were proposed humanin as a new marker. The content of humanin in compare with other markers of energy metabolism in 59 patients with coronary heart disease was studied. In the examined patients, a decrease in the level of humanin up to 250 ng/l was observed when compared with its level of 1110 (800 to 1500) ng/l in healthy individuals. In most of the patients increased level of lactic acid from 1.0 to 2.2 mM accompanied in 45 % cases with elevation of pyruvic acid concentration above 99.1 μM was observed. Also, it was found a significant decrease of homoarginine level down to 1.40 (1.0-2.0) versus 2.3 (1.8-3.1) μM in healthy individuals. We found an inverse correlation between the level of humanin and the age of patients ( $R = -0.35$ ,  $p = 0.048$ ). It can be concluded that patients with coronary heart disease are characterized by a lower level of humanin and homoarginine in the blood, as well as an increased content of lactic acid, indicators that are the criteria for inhibiting aerobic pathways and reducing mitochondriogenesis.*

**Key words:** humanin; homoarginine; lactic acid; mitochondriogenesis; ischemic heart disease.

**For citation:** Zhloba A.A., Subbotina T.F., Molchan N.S., Polushin Yu.S. The level of circulating humanin in patients with ischemic heart disease. Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics). 2018;63 (8): 466-470 (in Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2018-63-8-466-470>

**For correspondence:** : Zhloba A.A., Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of Biochemistry Department of Scientific and Educational Institute of Biomedicine; e-mail: zhloba@mail.spbnit.ru

### Information about authors:

Zhloba A.A., <http://orcid.org/0000-0003-0605-7617>

Subbotina T.F., <http://orcid.org/0000-0002-2278-8391>

Polushin Yu.S. <https://orcid.org/0000-0002-6313-5856>

**Acknowledgment.** The authors would like to express their gratitude for organizational and information support to the Blood transfusion Department of Pavlov First Saint Petersburg State Medical University.

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

Received 16.03.2018  
Accepted 10.04.2018

Изучение и внедрение в практику лабораторной медицины биохимических маркеров степени тяжести состояния пациента перед операциями реваскуляризации миокарда до настоящего времени остаётся актуальным и практически значимым для персонализированного ведения пациента в раннем послеоперационном периоде и дальнейшей реабилитации. В настоящее время большой интерес вызывает новое семейство маркеров нарушения энергетического метаболизма в связи с наличием вторичной митохондриальной дисфункции у пациентов с ишемической болезнью сердца (ИБС). Прогрессирование атеросклероза коронарных артерий протекает на фоне понижения уровня хуманина (ХН) в плазме крови и тканях сосудистой стенки [1]. Обнаружено, что в крови здоровых людей в возрастной группе 50–75 лет ХН на 65% больше, чем у пациентов с гипергликемией [2]. По-видимому, понижение толерантности к глюкозе сопровождается понижением уровня ХН [3]. В модельных опытах показано, что ХН вызывает повышение чувствительности клеток к инсулину [4, 5]. Пептид ХН состоит из 24 аминокислотных остатков, синтезируется на основе митохондриальной ДНК-матрицы и описан как митохондриальный фактор mt-RNR2, регулирующий окислительное фосфорилирование и тем самым продукцию АТФ [6]. Имеются сведения о том, что хуманиновая митохондриальная ДНК переносится в ядерный геном, из-за чего существуют различные ядерные ДНК-последовательности митохондриального происхождения, явление, известное как NUMT (встраивание фрагментов мтДНК в ядерный геном) [7]. Иначе говоря, в ядерном геноме имеются вырожденные ХН-подобные открытые рамки считывания – последовательности нуклеотидов в составе ДНК, способные кодировать этот пептид. В итоге в организме и соответственно в крови обнаруживаются аналоги ХН с биологической активностью [8]. Известно, что ХН интенсивно образуется не только в тканях печени и почек, но и в других богатых митохондриями тканях, включая сердечную мышцу и поперечнополосатую мышечную ткань, а также клетки нервной системы [9]. Этот пептид и его аналоги оказывают мощное цитопротекторное и антиапоптотическое действие [10, 11]. ХН и пептиды, его аналоги, при введении дают значительные положительные эффекты при патологических состояниях, ассоциированных с возрастом, включая ИБС, инсульт, болезнь Альцгеймера, ишемию-реперфузию миокарда, атеросклероз, боковой амиотрофический склероз, и при онкологических заболеваниях [12]. Таким образом, повышение уровня ХН способствует коррекции нарушенного аэробного катаболизма у лиц с перечисленными заболеваниями. С другой стороны, понижение уровня циркулирующего ХН является диагностическим признаком торможения функции митохондрия с соответствующим снижением окислительного фосфорилирования и накоплением промежуточных органических кислот. В частности, у пациентов с пониженным резервом коронарного кровотока в возрасте  $47 \pm 10$  лет уровень ХН в плазме крови составлял  $1,3 \pm 1,1$  нг/мл, что существенно ниже по сравнению с лицами с нормальным резервом кровотока –  $2,2 \pm 1,5$  нг/мл [1]. К настоящему времени исследования содержания ХН в крови человека не завершены, так как отсутствуют данные популяционных исследований прогностического значения определения ХН при сердечно-сосудистых заболеваниях. Не представлены также сведения о содержании ХН в крови пациентов с ИБС и сердечной недостаточностью, имеющих показания к операции реваскуляризации миокарда, тогда как именно в этой когорте пациентов с нарушениями кровообращения наблюдаются значительные сдвиги липидного и углеводного обмена, развитие вторичной митохондриальной дисфункции.

В настоящем исследовании проведена оценка изменения содержания ХН в плазме крови группы пациентов с ИБС,

однородной по возрасту, нозологической и функциональным характеристикам при сопоставлении наблюдаемых отклонений с другими клинико-лабораторными данными и показателями, характерными для нарушений энергетического метаболизма.

*Материал и методы.* В исследование включено 59 пациентов с ИБС (46 мужчин и 13 женщин в возрасте 51–72 лет), направленных в клинику ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова с августа 2014 по октябрь 2016 г. на плановую операцию аортокоронарного шунтирования в условиях искусственного кровообращения. У всех пациентов диагностированы много-сосудистое поражение коронарного русла с необходимостью реваскуляризации, хроническая сердечная недостаточность III функционального класса (фракция выброса левого желудочка не менее 50%) и артериальная гипертензия, требующая медикаментозной коррекции. Обязательным условием включения являлось также информированное согласие пациента на участие в исследовании. Протокол исследования в соответствии с принципами Хельсинкской декларации был одобрен Этическим комитетом ПСПбГМУ им. акад. И. П. Павлова. Критериями невключения являлись: отсутствие согласия пациента, сопутствующая клапанная патология, перенесённый острый инфаркт миокарда в предшествующие 6 нед, сердечная недостаточность с фракцией выброса левого желудочка менее 50%, сахарный диабет, хроническая болезнь почек > 3Б ст. Венозную кровь для исследования получали непосредственно перед операцией аортокоронарного шунтирования из кубитальной вены через 15–30 мин после анестезии, но перед началом искусственного кровообращения. Методика анестезии у всех пациентов была однотипной. Различия заключались лишь в том, что у 15 пациентов в качестве основного анестетика использовали десфлуран, а у 28 – севофлуран. В остальных 16 наблюдениях ингаляционный анестетик не использовали, а анестезию осуществляли внутривенным введением пропофола. Образцы крови, взятые в вакутейнеры, содержащие этилендиаминтетраацетат натрия, немедленно помещали в холодильник (+4°C), а затем отделяли плазму путём центрифугирования (1500 об/мин, 10 мин) не позднее 30 мин после взятия. Аликвоты полученной плазмы хранили при -80°C вплоть до анализа.

Группу сравнения составили здоровые лица обоего пола, сопоставимые по возрасту с обследуемой группой пациентов – регулярные доноры старшей возрастной группы. Забор образцов крови проводили из кубитальной вены после 10-часового голодания. Процессирование и хранение образцов осуществляли так же, как и в группе пациентов. Более подробная информация об обследованных лицах представлена в табл. 1.

Уровень гомоаргинина (гArg) определяли в составе спектра 22 других аминокислот плазмы крови (за исключением аминокислот) методом обращенно-фазного ВЭЖХ-анализа на хроматографе Agilent 1100 (Agilent Technologies, США) по разработанной нами технологии, подробно описанной в нашем патенте [14], с использованием ортофталевого альдегида для предколоночной дериватизации и колонки Zorbax Eclipse AAA C18 (150 x 4,6) мм, 3,5 мкм. Концентрации аминокислот рассчитывали, используя норвалин в качестве внутреннего стандарта. Концентрацию общего гомоцистеина (oГЦи) определяли также с помощью ВЭЖХ описанным ранее методом [15].

Концентрацию молочной кислоты (МК) в плазме крови определяли колориметрически с помощью лактатоксидазного теста по набору «Витал Девелопмент Корпорэйшн» (Россия). Концентрацию пировиноградной кислоты (ПВК) определяли в безбелковом ультрафильтрате плазмы с использованием ЛДГ [16]. Плазму крови смешивали с 0,9% раствором NaCl в соотношении 1:2. Ультрафильтрат плаз-

Таблица 1

Клинико-лабораторная характеристика обследованных лиц

Показатель	Группа пациентов с ИБС, $M \pm \sigma$	Группа здоровых лиц / референтный диапазон
Число наблюдений	59	30
Демографические и общеклинические данные		
Мужчины/женщины, $n$ (%)	46 (78%) / 13 (22%)	11(37%) / 19 (63%)
Возраст, годы	$61,4 \pm 6,2$	$50,4 \pm 9,2$
ОИМ в анамнезе, $n$ (%)	33 (56%)	0
Фракция выброса, % должного	$62,0 \pm 6,4$	100
Индекс массы тела, $кг/м^2$	$28,4 \pm 3,6$	До 25
Рутинные лабораторные данные		
Глюкоза, мМ	$5,4 \pm 0,7$	$4,6 - 6,1$
Общий холестерин, мМ	$4,5 \pm 1,5$	$3,5 - 5,5$
Креатинин, мкМ		
м	$91 \pm 18$	53–106
ж	$74 \pm 12$	44–97
Мочевина, мМ	$5,6 \pm 1,5$	2,9–7,5
АлАТ, Ед/л	$26 \pm 15$	До 40
АсАТ, Ед/л	$24 \pm 10$	До 40
Фибриноген, г/л	$3,4 \pm 0,8$	2,0 – 4,0
Фоновая терапия		
β-Блокаторы, $n$ (%)	59 (100%)	–
Ингибиторы АПФ, $n$ (%)	46 (77%)	–
Антитромботические препараты, $n$ (%)	50 (85%)	—

Примечание. Собственные данные представлены как среднее  $\pm$  стандартное отклонение; референтный диапазон для рутинных лабораторных показателей приведён согласно [13]; ОИМ – острый инфаркт миокарда; АПФ – ангиотензинпревращающий фермент.

мы получали центрифугированием при 2000 g в течение 1 ч при 4°C с использованием центрифужных приспособлений вместимостью 500 мкл Vivaspin 3,000 MWCO PES (Sartorius, Германия). Реакционная смесь объёмом 330 мкл включала: 130 мкл ультрафильтра, 130 мкл 50 мМ трис-НСl буфера рН 7,8, 15 мкл препарата ЛДГ (Sigma-Aldrich, США) с удельной активностью 50 Е/мл и 45 мкл 1 мМ раствора НАДН. Измеряли падение оптической плотности при 340 нм. Оно завершалось в описанных условиях через 10 мин после прибавления 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 от 10 до 200 мкМ пирувата натрия (Sigma-Aldrich, США). В качестве холодных проб служили реакционные смеси без добавления ПВК и препарата ЛДГ для определения вклада в оптическую плотность каждого из них. Сходимость и воспроизводимость результатов определения ПВК по описанной методике соответствовала установленным требованиям ( $CV$   $2,07 \pm 1,43\%$  и  $3,45 \pm 1,47\%$ , соответственно).

Уровень ХН в плазме крови человека определяли с помощью коммерческих наборов реактивов для иммуноферментного анализа поставки НПО «Иммунотэкс», <http://белкианти-тела.рф/>, Россия. Производство наборов, поставляемых НПО «Иммунотэкс», сертифицировано по ISO-13485 и ISO-9001. Все использованные нами наборы были поставлены в теплоизолирующих контейнерах с хладагентами, сохранившими требуемое охлаждение вплоть до вскрытия контейнеров в лаборатории. Исследования проводили с предварительной оценкой влияния компонентов биологической матрицы на

ход анализа, стандартные растворы белка, помимо буфера от производителя, также разводили с использованием плазмы крови от здоровых лиц (spike control). Воспроизводимость значений оптических плотностей стандартных растворов, приготовленных на буфере и плазме/сыворотке крови, соответствовала аналитическим характеристикам использованного набора реактивов, установленных производителем ( $CV < 10\%$ ). В работе использованы наборы для определения ХН (MT-RNR2L1) производства CLOUD-CLONE CORP, США и CUSABIO BIOTECH Co., Ltd., КНР, предназначенные для анализа как плазмы, так и сыворотки крови. Сведения о содержании в крови других белков, включая тропонин, амилазу, аминотрансферазы, получали из данных сопутствующего лабораторного обследования пациентов.

*Статистическая обработка данных.* Данные представлены в виде медианы и межквартильного размаха ( $Me(Q1-Q3)$ ). Степень соответствия распределения данных нормальному закону оценивали с помощью критериев Шапиро–Уилка и Колмогорова – Смирнова. Сравнение групп с нормальным распределением проводили с помощью  $t$ -критерия Стьюдента. В случае распределения, отличного от нормального, применяли  $U$ -критерий Манна – Уитни. Статистическую связь между данными анализировали путём вычисления коэффициента ранговой корреляции Спирмена. Статистически значимыми считали различия данных и корреляции при  $p < 0,05$ . Данные анализировали с применением программы Statistica 10.0 (Dell, Inc., США).

*Результаты.* Группа пациентов ко дню оперативного вмешательства характеризовалась небольшими отклонениями концентраций рутинных биохимических показателей от референтных значений: глюкоза  $5,4 \pm 0,7$  мМ, общий холестерин  $4,5 \pm 1,5$  мМ, креатинин у лиц мужского пола составил  $91 \pm 18$ , а женского –  $74 \pm 12$  мкМ. Следует отметить, что из рутинных биохимических показателей ко дню операции отклонение от референтных интервалов наблюдалось лишь у некоторых из них, в том числе у шести уровень глюкозы крови был больше 6,0 мкМ, оГци выше 10 мкМ – у девяти и креатинина выше 0,1 мМ – у шести. Существенного отклонения в содержании ферментов – маркёров проницаемости клетки у пациентов не обнаружено. В среднем, уровень МК в крови пациентов был выше, чем у здоровых (табл. 2), но лишь у троих из них превышал границу 2,2 мМ, применяемую на практике для определения у пациента состояния лактатацидоза [16]. Уровень ХН плазмы крови у этих пациентов был ниже 400 нг/л. 47 пациентов из 59 характеризовались уровнем МК от 1 до 2,2 мМ, т. е. выше границы 90-го перцентиля, известной для концентраций МК, выявляемых у здоровых людей [16]. Таким образом, у большинства пациентов было повышение уровня МК от 1,0 до 2,2 мМ, которое у 21 (45%) пациента сопровождалось пируватемией выше 99,1 мкМ (90-й перцентиль группы здоровых). Только у одного из числа этих пациентов уровень ХН был выше 400 нг/л.

Как следует из данных, представленных на рисунке, уровень ХН в плазме крови, полученной из кубитальной венозной крови пациентов, значительно ниже ( $p = 1 \cdot 10^{-5}$ ), чем в образцах, полученных от доноров. Содержание ХН на уровне верхнего квартиля у пациентов составило 398 нг/л. В группе доноров содержание ХН в крови ниже этого значения выявлено только однократно и составило 320 нг/л, а у остальных оно колебалось от 740 до 1960 нг/л (см. рисунок). В настоящем исследовании обнаружена отрицательная корреляционная связь уровня ХН и возраста от 51 года до 72 лет у пациентов обоего пола ( $R = -0,35$ ,  $p = 0,048$ ). Размер использованной для исследования выборки позволил обнаружить слабую отрицательную корреляционную связь между уровнем ХН и нарастанием соотношения содержания МК и содержания ПВК у пациентов ( $R = -0,30$ ,  $p = 0,09$ ). Чувстви-

Таблица 2

Показатели, метаболически связанные с функцией митохондрий

Показатель	Группа пациен- тов с ИБС, <i>n</i> = 59	Группа здоровых лиц ( <i>n</i> = 30) / референт- ный интервал	<i>p</i>
Молочная кислота, мМ	1,5 (1,2–1,8)	0,5–1,0 [16]	< 0,001
Пировиноградная кислота, мкМ	94 (71–114)	15–100 [16]	< 0,001
Отношение МК/ПВК	16,2 (13,3–18,7)	7–28 [16]	> 0,05
Хуманин, нг/л	308 (258–398)	1110 (800–1500)	< 0,000001
Гомоаргинин, мкМ	1,40 (1,0–2,0)	2,3 (1,8–3,1) [14]	< 0,000001
Аланин, мкМ	304 (253–355)	344 (317–412)	> 0,05
Метионин, мкМ	24 (19 – 28)	17 (11 – 22)	0,0003
oГци, мкМ	7,8 (6,1 – 10,5)	8,1 (6,5 – 10,3)	0,92
Отношение oГци/Мет	0,35 (0,23–0,52)	0,57 (0,35–0,74)	0,003
Гли, мкМ	210 (173–292)	260 (227–324)	0,00003
Сер, мкМ	105 (85–127)	75 (67–97)	0,0008
Отношение Сер/Гли	0,50 (0,44–0,59)	0,31 (0,27–0,38)	< 0,000001

Примечание. Данные представлены в виде медианы и межквартильного интервала; референтные интервалы представлены в виде диапазона концентраций между 10-м и 90-м перцентилями у здоровых людей; достоверность различий оценивалась с помощью непараметрического теста Манна–Уитни.

тельности использованных тест-систем было достаточно для регистрации снижения уровня ХН до 175 нг/л в крови обследованных пациентов, что почти в 10 раз ниже, чем уровни ХН, выявляемые у доноров.

Из данных, представленных в табл. 2, следует, что другие нарушения энергетического метаболизма также характерны для обследованных пациентов с ИБС. В частности, отмечается более высокий, чем в группе сравнения, уровень МК и ПВК, повышенный уровень метионина ( $p = 0,0003$ ) и низкий уровень гомоаргинина ( $p = 1 \cdot 10^{-5}$ ). Примечательно, что понижение уровня ХН и гомоаргинина в крови пациентов является с одинаково высокой достоверностью.

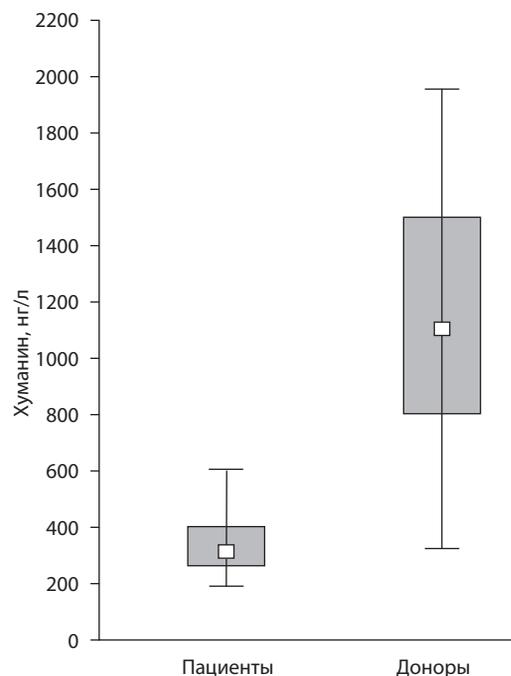
**Обсуждение.** У подавляющего большинства обследованных пациентов обоего пола уровень ХН был ниже 400 нг/л. Уровень ХН не имел отчётливых корреляций ни с уровнем гликемии, лактатемии, креатинина, общего гомоцистеина, холестеринемии, ни с другими клинико-биохимическими показателями, что свидетельствует о самостоятельном диагностическом значении данного показателя.

Скорость образования ХН в тканях и его содержание в крови в малой степени зависят от текущего изменения потоков субстратов и продуктов энергетического метаболизма, а связаны с имеющимся количеством функционально активных митохондрий. Уровень ХН в плазме/сыворотке соответствует митохондриогенезу в тканях [17]. Вслед за усилением образования митохондрий в тканях увеличивается и уровень ХН в крови, а это в свою очередь способствует увеличению потребления глюкозы из кровотока чувствительными к инсулину клетками [5]. Поэтому при определении только ХН, в отличие от информации, получаемой при определении МК и ПВК как показателей активации гликолитического метаболизма, мы не сможем сделать вывод о соотношении аэробного и анаэробного окисления субстратов, но сможем судить о состоянии образования полноценных митохондрий, необходимых для глубокого окисления органических кислот.

ХН в настоящее время известен как показатель, количественно характеризующий уровень общего пула эффективных митохондрий в организме, за счёт которых должны происходить важные для клетки энергоёмкие процессы, в том числе: окисление субстратов до углекислого газа и воды, формирование трансмембранного потока ионов водорода, окислительное фосфорилирование и регуляция трансмембранного переноса ионов кальция. С возрастом наблюда-

ся снижение уровня ХН в кровотоке [5]. У детей препубертатного и пубертатного периодов, независимо от пола, ХН в крови регистрируется на уровне  $1800 \pm 400$  нг/л [3]. Другие данные указывают на более высокий уровень ХН у здоровых детей – девочек в возрасте от 3 до 19 лет, составивший в среднем около 2000 нг/л, чем у сверстниц, больных диабетом 1-го типа, составивший примерно 1300 нг/л [18]. В этом исследовании отмечается также имеющее место повышение уровня ХН во время пубертатного периода. Имеющиеся данные указывают на существование разницы в содержании ХН как в зависимости от возраста, так и в связи с наличием патологического процесса, связанного с нарушением регуляции энергетического метаболизма или развитием атеросклероза. При этом затруднительно оценивать изменения абсолютных концентраций ХН в различных исследованиях, так как все описанные результаты получены методом ИФА в различных условиях. Неясно, сколько из 6–7 возможных форм циркулирующего ХН выявляется в проведённых исследованиях. В значительной степени это объясняется недостатком информации от производителей наборов о возможных перекрёстных реакциях с различными вариантами ХН. Критическое понижение уровня ХН наблюдается от уровня около 1400 нг/л (у 45–65-летних лиц), 1300 нг/л (у 66–80-летних) и до, примерно, 700–800 нг/л у лиц старше 81 года [5]. Это подтверждается данными, полученным нами как в отношении доноров, так и пациентов.

В отличие от гомоаргинина [19, 20] ХН крови как системный показатель состояния энергетического метаболизма до сих пор не охарактеризован в больших популяционных иссле-



Медиана, межквартильный размах и дисперсия 10-го–90-го перцентилей пациентов с ИБС ( $n = 59$ ) и сравнительной группы доноров ( $n = 30$ ). Различия достоверны ( $p = 1 \cdot 10^{-5}$ , тест Манна–Уитни).

дованиях. Показано, что определение уровня гомоаргинина может рассматриваться при прогнозировании возможного инсульта и инфаркта [20–22]. В отношении ХН предприняты лишь отдельные моноцентровые исследования с небольшими когортами пациентов или лицами групп сравнения. Данные о возрастных колебаниях уровня ХН изложены во введении и также ограничены несколькими исследованиями. К настоящему времени следует ожидать появления сведений о референтных интервалах уровня ХН в крови человека, так как на рынке появились надежные тест-системы для определения этого пептидного маркера митохондриогенеза.

**Заключение.** При интерпретации данных определения белковых и метаболических маркеров митохондриальной дисфункции у пациентов только у отдельных лиц наблюдалось отсутствие биохимических признаков существенного нарушения энергетического метаболизма. Митохондриальный пептид хуманин, постоянно выделяющийся в кровь, при нарушении кровообращения в связи с ИБС характеризуется значительным снижением содержания в крови от 1500 нг/л у здоровых лиц до 250 нг/л у пациентов. Низкий уровень ХН в сочетании с высоким уровнем молочной кислоты больше 2,2 мМ следует расценивать в качестве маркера наиболее тяжёлого состояния пациентов с ИБС в связи с торможением митохондриогенеза и функции митохондрии организма.

**Благодарности.** Авторы выражают благодарность менеджменту ПСПбГМУ им. И.П. Павлова за организационную и информационную поддержку в ходе проведения настоящего исследования.

**Финансирование.** Исследование выполнено в рамках государственного задания.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

#### ЛИТЕРАТУРА (пп. 1-8, 10-12, 15, 17-22 см. REFERENCES)

9. Биоинформационная база данных Uniprot (2018) [Электронный ресурс]. Available at: <http://www.uniprot.org/uniprot/Q8IVG9> (accessed 6 march 2018).
13. Тиц Н.У., ред. *Клиническая оценка лабораторных тестов: Справочник* (пер. с англ.). М.: Медицина; 1986.
14. Жлоба А.А., Субботина Т.Ф., Шипаева К.А. Способ определения содержания гомоаргинина в плазме крови и других биологических жидкостях человека. Патент РФ № 2609873; 2017.
16. Жлоба А.А., Субботина Т.Ф., Алексеевская Е.С., Моисеева О.М., Гаврилюк Н.Д., Иртыго О.Б. Уровень циркулирующего PGC1 $\alpha$  при сердечно-сосудистых заболеваниях. *Биомедицинская химия*. 2016; 62(2): 198-205.

#### REFERENCES

1. Widmer R.J., Flammer A.J., Herrmann J., Rodriguez-Porcel M., Wan J. et al. Circulating humanin levels are associated with preserved coronary endothelial function. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2013; 304: H393–7.
2. Voigt A., Jelinek H. F. Humanin: a mitochondrial signaling peptide as a biomarker for impaired fasting glucose-related oxidative stress. *Physiological Reports*. 2016; 4(9): 1-5.
3. De Dona V., Ciaccio M., Wan J., Guercio G., Vaiani E., Krochik G. et al. Plasma humanin levels during normal childhood and huberty. Study of possible correlations with sex, age, and insulin levels *Horm. Res. Paediatr.* 2014; 82 (suppl. 1).
4. Hoang P.T., Park P., Cobb L.J., Paharkova-Vatchkova V., Hakimi

- M., Cohen P. et al. The neurosurvival factor Humanin inhibits beta-cell apoptosis via signal transducer and activator of transcription 3 activation and delays and ameliorates diabetes in nonobese diabetic mice. *Metabolism*. 2010; 59(3): 343-9.
5. Muzumdar R.H., Huffman D.M., Atzmon G., Buettner C., Cobb L.J., Fishman S. et al. Humanin: A novel central regulator of peripheral insulin action. *PLoS ONE*. 2009; 4(7): e6334.
6. Remor A.P., de Matos F.J., Ghisoni K., da Silva T.L., Eidt G., Búrigo M. et al. Differential effects of insulin on peripheral diabetes-related changes in mitochondrial bioenergetics: involvement of advanced glycosylated end products. *Biochim. Biophys. Acta*. 2011; 1812(11): 1460–71.
7. Lee C., Yen K., Cohen P. Humanin: a harbinger of mitochondrial-derived peptides? *Trends Endocrinol. Metab.* 2013; 24(5): 222–8.
8. Bodzioch M., Lapicka-Bodzioch K., Zapala B., Kamysz W., Kiec-Wilk B., Dembinska-Kiec A. Evidence for potential functionality of nuclearly-encoded humanin isoforms. *Genomics*. 2009; 94(4): 247-56.
9. Uniprot, the unified database (2018). Available at: <http://www.uniprot.org/uniprot/Q8IVG9> (accessed March, 6 2018).
10. Hill S., van Remmen H. Mitochondrial stress signaling in longevity: A new role for mitochondrial function in aging. *Redox. Biol.* 2014; 2: 936–44.
11. Gao G.S., Li Y., Zhai H., Bi J.W., Zhang F.S., Zhang X.Y. et al. Humanin analogue, S14G-humanin, has neuroprotective effects against oxygen glucose deprivation/reoxygenation by reactivating Jak2/Stat3 signaling through the PI3K/AKT pathway. *Exp. Ther. Med.* 2017; 14(4): 3926-34.
12. Gong Z., Tas E., Musumdar R. Humanin and age-related diseases: a new link? *Front. Endocrinol. (Lausanne)*. 2014; 5: 210.
13. Tietz N.W., ed. *Clinical Guide to Laboratory Tests [Klinicheskaya otsenka laboratornykh testov]*. Moscow: Meditsina; 1986. (in Russian)
14. Zhloba A.A., Subbotina T.F., Shipaeva K.A. The way for determination the content of homoarginine in blood plasma and other biological fluids of human. Patent RF N 2609873; 2017. (in Russian)
15. Zhloba A.A., Subbotina T.F. Homocysteinylated score of high-molecular weight plasma proteins. *Amino Acids*. 2014; 46(4): 893-9.
16. Zhloba A.A., Subbotina T.F., Alekseevskaya E.S., Moiseeva O.M., Gavrilyuk N.D., Irtyuga O.B. The level of circulating PGC1 $\alpha$  in cardiovascular diseases. *Biomeditsinskaya khimiya*. 2016; 62(2): 198-205. (in Russian)
17. Hipkiss A.R. Mitochondrial dysfunction, proteotoxicity, and aging: causes or effects, and the possible impact of NAD $^{+}$ -controlled protein glycation. *Adv. Clin. Chem.* 2010; 50: 123-50.
18. Hernandez, M., Wan, J., Valdes, C., Avila, A., Codner, E., Cohen, P. Reduced Humanin Levels in Children with Type-1 Diabetes Mellitus. *Horm. Res. Paediatr.* 2015; 84(suppl. 2): 12.
19. März W., Meinitzer A., Drechsler C., Pilz S., Krane V., Kleber M.E. et al. Homoarginine, cardiovascular risk, and mortality. *Circulation*. 2010; 122(10): 967–75.
20. Pilz S., Meinitzer A., Tomaschitz A., Drechsler C., Ritz E., Krane V. et al. Low homoarginine concentration is a novel risk factor for heart disease. *Heart*. 2011; 97 (15): 1222–7.
21. Atzler D., Rosenberg M., Anderssohn M., Choe C.U., Lutz M., Zugck C. et al. Homoarginine—an independent marker of mortality in heart failure. *Int. J. Cardiol.* 2013; 168(5): 4907–9.
22. Raedle-Hurst T., Mueller M., Meinitzer A., Maerz W., Dschietzig T. Homoarginine-A prognostic indicator in adolescents and adults with complex congenital heart disease? *PLoS One*. 2017; 12(9): e0184333.

Поступила 16.03.18

Принята к печати 10.04.18