

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ СОСТОЯТЕЛЬНОСТЬ МИТОХОНДРИЙ И ПОЛИМОРФИЗМ
МИТОХОНДРИАЛЬНОГО ГЕНОМА КАК ФАКТОРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА АРИТМОГЕНЕЗ
ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА

С.А.Афанасьев¹, В.А.Корепанов¹, Н.П.Бабушкина², Т.Ю.Реброва¹, Э.Ф.Муслимова¹,
М.В.Голубенко², А.А.Гарганеева¹, Т.А.Атабеков¹

¹НИИ кардиологии Томского НИМЦ РАН, Россия, Томск, ул. Киевская, д. 111А; ²НИИ медицинской генетики
Томского НИМЦ РАН, Россия, Томск, Набережная реки Ушайки, д. 10.

Цель. Исследовать функциональную состоятельность митохондрий и полиморфизм митохондриальной ДНК (мтДНК) у пациентов с ишемической болезнью (ИБС), имеющих жизнеугрожающие нарушения ритма сердца (НРС).

Материал и методы исследования. Исследовали венозную кровь 45 пациентов с неосложненной ИБС и 120 пациентов, имеющих ИБС с НРС. Определяли скорости потребления кислорода митохондрией лейкоцитов в состояниях V3 и V4 в пируват-малатном и сукцинатном буферах, а также присутствии пальмитиновой кислоты (ПК). У пациентов с осложнённой ИБС определяли гаплогруппу мтДНК и замены в генах, кодирующих белки комплексов дыхательной цепи и рРНК митохондрий. Статистический анализ результатов проводили, используя тест Манна-Уитни, критерий Вилкоксона и критерий Хи-квадрат с поправкой Йейтса.

Результаты. Скорость потребления кислорода интактных митохондрий при неосложненной ИБС и ИБС с НРС достоверно не различались ни в пируват-малатном, ни в сукцинатном буферах. При неосложненной ИБС, добавление ПК увеличивает скорость потребления кислорода митохондриями и в сукцинатном, и пируват-малатном буфере. Большинство (41%) пациентов, имеющих ИБС с НРС, являлись носителями гаплогруппы «Н» и по этому показателю рассматриваемая выборка не отличалась от пациентов с неосложнённой ИБС. Однако мтДНК пациентов с осложнённой ИБС характеризовались более частым сочетанным носительством двух и более миссенс-замен в генах дыхательной цепи и рРНК.

Выводы. Митохондрии пациентов с ишемической болезнью и жизнеугрожающими нарушениями ритма сердца имеют сниженный функциональный резерв. Распределение частот основных гаплогрупп мтДНК пациентов, имеющих ишемическую болезнь с жизнеугрожающими нарушениями ритма сердца, соответствует популяционному. Для мтДНК таких пациентов характерна высокая частота носительства сочетанных полиморфизмов в генах белков электрон-транспортной цепи и рРНК.

Ключевые слова: ишемическая болезнь сердца; нарушение ритма сердца; митохондрии; митохондриальная ДНК; полиморфизмы; гаплогруппа

Конфликт интересов: отсутствует.

Финансирование: отсутствует.

Рукопись получена: 04.04.2023 **Исправленная версия получена:** 19.10.2023 **Принята к публикации:** 04.12.2023

Ответственный за переписку: Корепанов Вячеслав Андреевич, E-mail: vakorep41811@gmail.com

С.А.Афанасьев - ORCID ID 0000-0001-6066-3998, В.А.Корепанов - ORCID ID 0000-0002-2818-1419, Н.П.Бабушкина - ORCID ID 0000-0001-6133-8986, Т.Ю.Реброва - ORCID ID 0000-0003-3667-9599, Э.Ф.Муслимова - ORCID ID 0000-0001-7361-2161, М.В.Голубенко - ORCID ID 0000-0002-7692-9954, А.А.Гарганеева - ORCID ID 0000-0002-9488-6900, Т.А.Атабеков - ORCID ID 0000-0003-2645-4142

Для цитирования: Афанасьев СА, Корепанов ВА, Бабушкина НП, Реброва ТЮ, Муслимова ЭФ, Голубенко МВ, Гарганеева АА, Атабеков ТА. Функциональная состоятельность митохондрий и полиморфизм митохондриального генома как факторы, влияющие на аритмогенез при хронической ишемической болезни сердца. *Вестник аритмологии*. 2024;31(1): 71-76. <https://doi.org/10.35336/VA-1294>.

FUNCTIONAL ABILITY OF MITOCHONDRIA AND MITOCHONDRIAL GENOME POLYMORPHISM
AS FACTORS AFFECTING ARRHYTHMOGENESIS IN CHRONIC CORONARY ARTERY DISEASE

S.A.Afanasiev¹, V.A.Korepanov¹, N.P.Babushkina², T.Yu.Rebrova¹, E.F.Muslimova¹,
M.V.Golubenko², A.A.Garganeeva¹, T.A.Atabekov¹

¹Cardiology RI of the Tomsk NRMC of the RAS, Russia, Tomsk, 111A Kievskaya str.; ²RI of Medical Genetics of the
Tomsk NRMC of the RAS, Russia, Tomsk, 10 Ushayka river Qy.

Aim. To investigate functional state of mitochondria and mitochondrial DNA (mtDNA) polymorphism in coronary artery disease (CAD) patients with life-threatening cardiac rhythm disorders (CRD).

Methods. We investigated venous blood samples of 45 patients with uncomplicated CAD and 120 CAD patients with CRD. Oxygen consumption rate of mitochondrias of leukocytes in V3 and V4 states were determined in pyruvate-malate and succinate buffers, as well as in the presence of palmitic acid (PA). In patients with complicated CAD, mtDNA haplogroup and substitutions in gene encoding proteins of the respiratory chain complexes and mitochondrial rRNA were determined. Statistical analysis was performed using Mann-Whitney, Wilcoxon tests and Chi-square test with Yates' correction.

Results. In CAD and CAD with CRD, oxygen consumption rate of intact mitochondria did not differ in either pyruvate-malate or succinate buffers. In uncomplicated CAD, PA supplementation increases oxygen consumption rate by mitochondria in both succinate and pyruvate-malate buffers. The majority of patients (41%) with CAD and CRD were carriers of the haplogroup «H» and, in this indicator, the sample did not differ from patients with uncomplicated CAD. However, mtDNA of patients with complicated CAD was characterized by a more frequent combined carriage of two and more missense substitutions in genes of respiratory chain and rRNA.

Conclusion. Mitochondria of patients with coronary artery disease and life-threatening cardiac rhythm disorders have reduced functional reserve. The distribution of frequencies of main mtDNA haplogroups of patients with coronary artery disease with life threatening cardiac rhythm disorders corresponds to the population. The mtDNA of such patients is characterized by a high frequency of carriage of combined polymorphisms in gene of electron transport chain proteins and rRNA.

Key words: coronary artery disease; cardiac arrhythmia; mitochondria; mitochondrial DNA; polymorphisms; haplogroup

Conflict of interest: none.

Funding: none.

Received: 04.04.2023 **Revision received:** 19.10.2023 **Accepted:** 04.12.2023

Corresponding author: Viacheslav A. Korepanov, E-mail: vakorep41811@gmail.com

S.A.Afanasiev - ORCID ID 0000-0001-6066-3998, V.A.Korepanov - ORCID ID 0000-0002-2818-1419, N.P.Babushkina - ORCID ID 0000-0001-6133-8986, T.Yu.Rebrova - ORCID ID 0000-0003-3667-9599, E.F.Muslimova - ORCID ID 0000-0001-7361-2161, M.V.Golubenko - ORCID ID 0000-0002-7692-9954, A.A.Garganeeva - ORCID ID 0000-0002-9488-6900, T.A.Atabekov - ORCID ID 0000-0003-2645-4142

For citation: Afanasiev SA, Korepanov VA, Babushkina NP, Rebrova TYu, Muslimova EF, Golubenko MV, Garganeeva AA, Atabekov TA. Functional ability of mitochondria and mitochondrial genome polymorphism as factors affecting arrhythmogenesis in chronic coronary artery disease. *Journal of Arrhythmology*. 2024;31(1): 71-76. <https://doi.org/10.35336/VA-1294>.

Нарушения ритма сердца (НРС) представляют собой одно из грозных осложнений ишемической болезни сердца (ИБС) [1]. Именно они часто становятся причинами внезапной сердечной смерти (ВСС) [2]. Цикличность процесса электрохимического сопряжения в кардиомиоцитах обеспечивается благодаря энергии аденозинтрифосфата, синтез которого осуществляется электрон-транспортной цепью митохондрий. Кодирование части белков электрон-транспортной цепи (13 субъединиц, входящих в четыре ферментных комплекса) определяется митохондриальной ДНК (мтДНК). Кроме того, мтДНК кодирует 2 гена рРНК и 22 гена тРНК, необходимых для осуществления трансляции в митохондриях [3]. В популяциях человека мтДНК характеризуется выраженным полиморфизмом. Наследуемые сочетания вариантов мтДНК объединены в отдельные гаплогруппы. Носительство таких генетических вариантов может определять функциональные возможности дыхательной цепи митохондрий. Это обстоятельство отражается на энергетике клеток и целых органов, внося негативный вклад в развитие патологии сердечно-сосудистой системы [4].

Цель данного исследования - изучить функциональную состоятельность митохондрий и полиморфизм мтДНК у пациентов с ишемической болезнью сердца, имеющих нарушения ритма сердца.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В исследование было включено 45 пациентов с диагнозом ИБС без НРС и перенесенного инфаркта миокарда и 120 пациентов, имеющих ИБС с НРС в форме желудочковой тахикардии (фибрилляция желудочков или желудочковая тахикардия (ЖТ)) и имплантированными кардиовертерами-дефибрилляторами (ИКД). Критериями включения пациентов в исследование являлись: возраст старше 40 лет, наличие документированной ИБС, функциональный класс сердечной недостаточности I-III по NYHA, подписанное информированное согласие; для пациентов с ИБС и НРС дополнительно - наличие имплантированного кардиовертера-дефибриллятора. Имплантацию ИКД осуществляли в целях первичной или вторичной профилактики ВСС. Пациенты, которым имплантацию ИКД осуществляли в целях первичной профилактики ВСС, входили в группу высокого риска развития ВСС. Пациенты, которым ИКД имплантировали в целях вторичной профилактики ВСС имели в анамнезе эпизоды устойчивой ЖТ и/или фибрилляции желудочков, наличие симптоматики развития нарушений ритма сердца (синкопе, зарегистрированные на ЭКГ желудочковые

тахикардии), перенесенную ВСС. Согласно клиническим рекомендациям устойчивость ЖТ оценивали по ее продолжительности: устойчивыми считались ЖТ при их продолжительности 30 и более секунд; неустойчивыми - при продолжительности ЖТ менее 30 сек. Критериями исключения стали: перенесенный инфаркт миокарда (для пациентов с ИБС без НРС), каналопатии (синдром удлиненного интервала QT, синдром Бругада и пр.), наличие онкологических заболеваний, беременность, наличие неврологических расстройств или психоэмоциональных состояний, которые потенциально могли помешать проведению исследования. Также в исследование не включались пациенты, которые являлись кандидатами на трансплантацию сердца, либо отказавшиеся от участия в исследовании на любом из этапов. Нарушения ритма сердца (ЖТ, фибрилляция желудочков) у пациентов верифицировали по данным записи ЭКГ, 24-часового холтеровского мониторирования ЭКГ и по данным записи эндограмм ИКД. Все пациенты, включенные в исследование, имели стабильную ИБС без показаний к реваскуляризации миокарда. Перед имплантацией ИКД всем пациентам с ИБС и НРС проводилась коронароангиография с целью исключения показаний к реваскуляризации. Имплантация ИКД проводилась на ранее, чем через 3 месяца после перенесенного инфаркта миокарда, и

не ранее, чем через 6 месяцев после стентирования или шунтирования. Краткая клиничко-анамнестическая картина пациентов обеих групп приведена в табл. 1. Для 81 пациента с осложнённым течением ИБС было проведено генотипирование мтДНК. Пациенты наблюдались в профильных отделениях НИИ Кардиологии Томского НИМЦ. Исследование одобрено комитетом по биомедицинской этике НИИ Кардиологии Томского НИМЦ (протокол №219 от 26.10.2021).

Забор венозной крови у пациентов с ИБС без НРС производили на контрольном визите, у пациентов с ИБС и НРС - либо перед операцией имплантации ИКД, либо на контрольном визите пациента для плановой проверки параметров ИКД. Кровь забиралась в вакутейнеры с антикоагулянтom ЭДТА. Лейкоциты периферической крови выделяли на градиенте плотности Histopaque-1077 (США). Кольцо выделенных клеток отмывали в фосфатно-солевом буфере (pH=7.4) (Sigma, США). Клеточный осадок переносили в сахарозную среду (0,25 М) с ЭДТА и проводили лизис мягким пипетированием. Митохондрии лейкоцитов выделяли методом дифференциального центрифугирования в градиенте сахарозы (0,25 М) [5]. Содержание митохондрий в исследуемых образцах контролировали по концентрации общего белка, оцениваемого методом Лоури. Для инкубации изолированных митохондрий

использовали среду следующего состава (в мМ): сахароза - 250,0; KCl - 10,0; KH_2PO_4 - 5,0; MgCl_2 - 1,25; HEPES - 5,0; пируват - 6; малат - 8, или сукцинат - 5; pH = 7,35-7,40. В качестве дополнительного метаболического субстрата использовали пальмитиновую кислоту, добавляемую в инкубационную среду в концентрации - 20 мкМ/л [6]. После оксигенации инкубационной среды в неё добавляли суспензию митохондрий (0,5-1 мг белка). Содержание кислорода оценивали полярографическим методом, используя электрод Кларка, в термостатируемой камере объемом 1 мл при температуре 25 °C и постоянном перемешивании. Скорость поглощения кислорода рассчитывали в нМ O_2 /мин/мг белка. Расчет коэффициента дыхательного контроля (ДК) производили по формуле $V3/V4$, где V3 - скорость поглощения кислорода в присутствии субстрата окисления (сукцинат или смесь пирувата и малата) и субстрата фосфорилирования (200 мкМ АДФ), а V4 - по исчерпанию АДФ [7].

Выделение геномной ДНК производили из мононуклеарных клеток периферической крови фенол-хлороформным методом [8]. Измерение концентрации полученной ДНК осуществляли на спектрофотометре «Nanodrop-2000C» (Thermo Fisher Scientific, США). Для установления

Таблица 1.

Клиническая характеристика пациентов

Показатель	Пациенты с ИБС без НРС (n=45)	Пациенты с ИБС с НРС (n=120)	p
Возраст, лет	67,0 (63,0; 70,8)	64,0 (59,0; 72,0)	0,13
Пол, мужской, % (n)	21 (46,7)	92 (76,7)	<0,001
Инфаркт миокарда, n (%)	0 (0)	72 (60,0)	
I ФК СН (НУНА), n (%)	19 (42,2)	16 (13,3)	<0,001
II ФК СН (НУНА), n (%)	19 (42,2)	65 (54,2)	0,17
III ФК СН (НУНА), n (%)	7 (15,6)	39 (32,5)	0,03
Неустойчивые ЖТ, n (%)	0 (0)	93 (77,5)	
Устойчивые ЖТ, n (%)	0 (0)	17 (14,2)	
ФЖ, n (%)	0 (0)	10 (8,3)	
АГ, n (%)	44 (97,8)	112 (93,3)	0,25
Ожирение, n (%)	25 (59,5)	48 (40,0)	0,07
ИМТ, кг/м ²	31,2 (27,0; 34,5)	28,4 (25,6; 32,5)	0,05
иАПФ, БРА, n (%)	34 (75,6)	70 (58,3)	0,04
БАБ, n (%)	26 (57,8)	102 (85,0)	0,02
Антикоагулянты, n (%)	10 (22,2)	50 (41,7)	0,07
Антиагреганты, n (%)	30 (66,6)	75 (62,5)	0,26
Статины, n (%)	39 (86,7)	91 (75,8)	0,16

Примечания: ИБС - ишемическая болезнь сердца; НРС - нарушения ритма сердца; ФК СН (НУНА) - функциональный класс сердечной недостаточности по Нью-Йоркской классификации; ЖТ - желудочковые тахикардии; ФЖ - фибрилляция желудочков; АГ - артериальная гипертензия; ИМТ - индекс массы тела; иАПФ - ингибиторы ангиотензин-превращающего фермента; БРА - блокаторы рецептора ангиотензина II; БАБ - бета-адреноблокаторы.

принадлежности изучаемых образцов к конкретной гаплогруппе мтДНК проводили секвенирование первого гипервариабельного сегмента (ГВС1) D-петли мтДНК и генотипирование отдельных полиморфных сайтов рестрикции, по ранее описанному протоколу [9]. Для каждого пациента определяли гаплотип в виде перечня замен по сравнению с референсной последовательностью мтДНК человека [10]. На основании этой информации мтДНК пациентов распределяли по гаплогруппам и подтверждали принадлежность к этим гаплогруппам с помощью рестрикции. Для классификации и для поиска миссенс-замен в отдельных гаплогруппах использовали базу данных и родословное древо мтДНК человека mtDNA tree Build 17 [11].

Статистический анализ

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием пакета статистических программ STATISTICA 13.0. Проверку на подчинение распределения количественных переменных нормальному закону выполняли при помощи теста Шапиро-Уилка. Для сравнения независимых групп данных применяли непараметрический тест Манна-Уитни, для зависимых переменных - критерий Вилкоксона. Значения представлены в виде медианы и межквартильного размаха (Me (Q1; Q3)). Качественные данные представлены в виде частот и процентных долей, сравнения проводили с помощью критерия Хи-квадрат с поправкой Йейтса. Критический уровень значимости p принят за $p < 0,05$.

ПОЛУЧЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

Исследование скорости поглощения кислорода митохондриями пациентов с ИБС, неосложненной НРС, и ИБС с НРС выявило следующее: интактные изолированные митохондрии пациентов этих групп, в пируват-малатном буфере в состоянии V3 имели схожие ($p=0,44$) скорости потребления кислорода 127,7 (85,3; 196,4) и 119,1 (82,6; 174,0) нМ O_2 /мин/мг белка, соответственно. В состоянии V4 скорости потребления кислорода тоже практически не отличались ($p=0,29$), составляя 46,6 (38,5; 56,3) и 43,7 (27,5; 66,7) нМ O_2 /мин/мг белка, соответственно. При использовании сукцинатного буфера, в состоянии V3 скорости потребления кислорода для групп ИБС и ИБС с НРС составляли, соответственно, 125,5 (64,4; 172,3) и 112,0 (65,0; 165,0) нМ O_2 /мин/мг белка ($p=0,50$), а в состоянии V4 - 44,2 (27,5; 71,9) и 40,2 (21,1; 68,7) нМ O_2 /мин/мг белка, соответственно ($p=0,58$). Степени сопряженности процессов окисления и фосфорилирования (коэффициент ДК) при неосложненной и осложненной ИБС также не имели значимых различий, составляя, соответственно, 2,5 (2,0; 3,3) и 2,4 (2,1; 2,7) - для пируват-малатного буфера ($p=0,50$), а для сукцинатного буфера - 2,7 (2,33; 3,22) и 2,6 (2,1; 2,8) ($p=0,34$).

Добавление в инкубационную среду пальмитиновой жирной кислоты в разной степени отразилось на потреблении кислорода митохондриями рассматриваемых групп пациентов. Так, в группе пациентов, не имеющих НРС, на фоне пальмитиновой кислоты, скорость потребления кислорода в пируват-малатном буфере для состояния V3 характеризовалась статистически значимым ($p=0,04$) увеличением до 198,3 (162,7; 234,9) нМ O_2 /мин/мг белка. В состоянии V4 скорость потребления кислорода тоже была статистически значимо ($p=0,02$) выше и составляла 64,4 (60,3; 87,7) нМ O_2 /мин/мг белка. В сукцинатном буфере, для этой группы пациентов, увеличение скорости потребления кислорода в состояниях V3 и V4 не достигало статистически значимых величин ($p=0,07$), составляя, соответственно, 184,3 (47,3; 406,3) и 86,1 (36,9; 159,4) нМ O_2 /мин/мг белка. Напротив, в группе ИБС с НРС добавление пальмитиновой кислоты не отразилось на скорости потребления кислорода в состояниях V3 и V4 и ДК при использовании как пируват-малатного, так и сукцинатного буферов.

При генотипировании мтДНК пациентов с ИБС и НРС установлено, что преобладающей гаплогруппой в исследуемых образцах является мтДНК ветви H (41%) (рис. 1). Кроме показанных на рисунке гаплогрупп в изученной нами выборке были зарегистрированы единичные случаи носительства мтДНК гаплогрупп A, X, U7, U8a1, N1b1, R1a, R0a, N2a.

Результаты оценки носительства миссенс-полиморфизмов генов, кодирующих белки электрон-транспортной цепи митохондрий (замены аминокислот в белках), а также генов рРНК и тРНК, у пациентов с ИБС, имеющих жизнеугрожающие нарушения ритма сердца, представлены на рис. 2. Эти результаты оказались практически аналогичны тем, что были показаны ранее при анализе мтДНК пациентов с ИБС без жизнеугрожающих нарушений ритма [9]. Другая ситуация сложилась при оценке частоты сочетанной встречаемости двух и более миссенс-замен в генах различных комплексов электрон-транспортной цепи, а также одновременно в генах 12S и 16S рРНК. На рис. 3 показано, что в отличие от пациентов с неосложненной ИБС, в нашем исследовании мтДНК пациентов с жизнеугрожающими нарушениями ритма сердца в 1,5

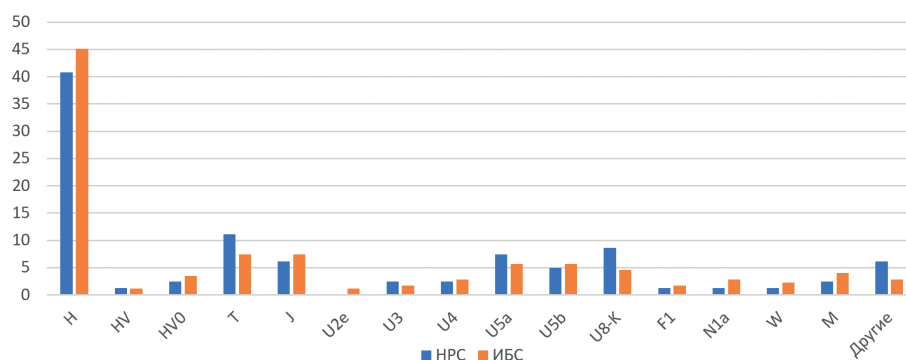


Рис. 1. Распределение частот основных гаплогрупп мтДНК среди пациентов, где по оси ординат - частота гаплогрупп (в процентах); по оси абсцисс - основные гаплогруппы мтДНК человека; здесь и далее НПС - пациенты с ИБС, имеющие жизнеугрожающие нарушения ритма сердца; ИБС - пациенты с неосложненной ИБС (по ранее опубликованным данным) [9].

раза чаще имели множественные миссенс-полиморфизмы в генах белков, относящихся к двум различным комплексам электрон-транспортной цепи. Для генов с миссенс-заменами в трех комплексах электрон-транспортной цепи, а также с заменами одновременно в 12S и 16S рРНК, эти различия оказались ещё более выраженными и составили 1,6 и 1,7 раза, соответственно.

ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

На основании полученных данных можно говорить, что в отличие от пациентов с неосложненной ИБС, пациенты группы с осложнённым течением ИБС характеризуются сниженной функциональной возможностью митохондрий. Поскольку эти различия получены при исследовании митохондрий, выделенных из лейкоцитов, а не из кардиомиоцитов, то их нельзя рас-

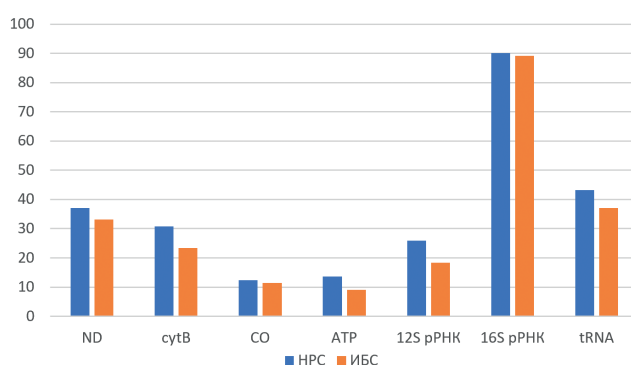


Рис. 2. Распространенность миссенс-полиморфизмов генов, кодирующих белки электрон-транспортной цепи митохондрий, а также в генах РНК, локализованных в мтДНК, где по оси ординат - число пациентов в %, имеющих соответствующий полиморфизм; по оси абсцисс - гены мтДНК, кодирующие белки комплексов дыхательной цепи, рРНК и тРНК; ND-гены НАДН дегидрогеназы; cytB-ген цитохрома В; CO-гены цитохром С оксидазы; ATP-гены - АТФ синтазы; 12S рРНК, 16S рРНК, tRNA - гены РНК.

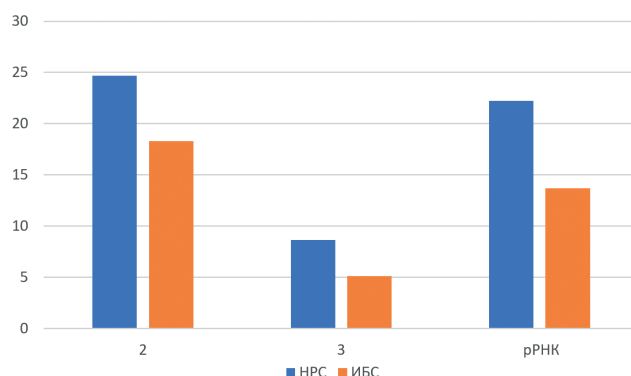


Рис. 3. Частота сочетанного носительства двух и более миссенс-полиморфизмов в генах электрон-транспортной цепи и рРНК, локализованных в мтДНК, где по оси ординат - пациенты в %, по оси абсцисс - множественные миссенс-полиморфизмы в генах (2 - в двух комплексах электрон-транспортной цепи, 3 - в трех комплексах электрон-транспортной цепи; рРНК - в двух генах рРНК).

смаивать как результат влияния специфических патологических факторов, характерных для ИБС. Скорее, можно предполагать наследственную природу таких различий. В частности, учитывая возможную роль митохондрий в аритмогенезе [12], причиной может быть влияние полиморфизма мтДНК на функциональные особенности кодируемых ею компонентов электрон-транспортной цепи.

Для проверки этого предположения мы выполнили генотипирование мтДНК пациентов, имеющих НРС, с целью определения гаплогрупп, к которым относятся индивидуальные мтДНК. Результаты сравнивали с ранее опубликованными данными, полученными для пациентов с ИБС без жизнеугрожающих нарушений ритма сердца [9]. На рис. 1 видно, что преобладающей гаплогруппой в исследуемых образцах является мтДНК ветви Н (41%). Кроме показанных на рисунке гаплогрупп в изученной нами выборке были зарегистрированы единичные случаи носительства мтДНК гаплогрупп А, Х, U7, U8a1, N1b1, R1a, R0a, N2a. Такие результаты хорошо согласуются с литературными данными. Так, известно, что гаплогруппа Н является преобладающей среди европеоидов [13]. Более того, показана ассоциация носительства гаплогруппы Н мтДНК с ИБС или с обусловленными ИБС фенотипами [9, 14, 15].

Хорошо известно, что принадлежность мтДНК каждого человека к определенной гаплогруппе означает, что она является носителем всех нуклеотидных замен, последовательно возникавших в истории этой гаплогруппы и отраженных в филогенетической схеме мтДНК человека [11].

Мы оценили носительство и встречаемость в рассматриваемой выборке миссенс-полиморфизмов генов, кодирующих белки электрон-транспортной цепи митохондрий (замены аминокислот в белках), а также генов рРНК и тРНК. На рис. 2 представлены данные, отражающие распространённость таких замен у пациентов с ИБС, имеющих жизнеугрожающие нарушения ритма сердца. Эти результаты оказались практически аналогичны тем, что были показаны при анализе мтДНК пациентов с ИБС без жизнеугрожающих нарушений ритма [9]. Другая ситуация сложилась при оценке частоты сочетанной встречаемости двух и более миссенс-замен в генах различных комплексов электрон-транспортной цепи, а также одновременно в генах 12S и 16S рРНК. Как видно на рис. 3, в отличие от пациентов с неосложнённой ИБС, в нашем исследовании мтДНК пациентов с жизнеугрожающими нарушениями ритма сердца в 1,5 раза чаще имели множественные миссенс-полиморфизмы в генах белков, относящихся к двум различным комплексам электрон-транспортной цепи. Для генов с миссенс-заменами в трех комплексах электрон-транспортной цепи, а также с заменами одновременно в 12S и 16S рРНК, эти различия оказались ещё более выраженными и составили 1,6 и 1,7 раза, соответственно.

Полученные нами результаты согласуются с ранее опубликованными данными о роли метаболической составляющей в аритмогенезе при ишемической болезни сердца [16]. Выявленная нами более высокая частота носительства сочетанных замен аминокислот в

белках электрон-транспортной цепи, а также 12S и 16S рРНК, требует проведения дальнейших генетических исследований. Это позволит повысить точность прогнозирования развития жизнеугрожающих нарушений ритма сердца при ИБС.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Митохондрии пациентов с ишемической болезнью и жизнеугрожающими нарушениями ритма сердца имеют сниженный функциональный резерв.

2. Распределение частот основных гаплогрупп мтДНК пациентов с ишемической болезнью и жизнеугрожающими нарушениями ритма сердца соответствует популяционному.

3. Пациенты с ишемической болезнью сердца, имеющие жизнеугрожающие нарушения ритма, характеризуются высокой частотой носительства сочетанных полиморфизмов в генах мтДНК, кодирующих белки электрон-транспортной цепи митохондрий и митохондриальные рРНК.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бокерия ОЛ, Биниашвили МБ. Внезапная сердечная смерть и ишемическая болезнь сердца. *Анналы аритмологии*. 2013;10(2): 69-79 [Bockeria OL, Biniashvili MB. Sudden cardiac death and ischemic heart disease. *Annaly Aritmologii*. 2013;10(2): 69-79. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.15275/annaritmol.2013.2.2>.
2. Deo R, Albert CM. Epidemiology and genetics of sudden cardiac death. *Circulation*. 2012;125(4): 620-637. <https://doi.org/0.1161/CIRCULATIONAHA.111.023838>.
3. D'Souza AR, Minczuk M. Mitochondrial transcription and translation: overview. *Essays in Biochemistry*. 2018;62(3): 309-320. <https://doi.org/10.1042/EBC20170102>
4. Wallace DC. Mitochondrial DNA variation in human radiation and disease. *Cell*. 2015; 63(1): 33-8. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.08.067>.
5. Егорова МВ, Афанасьев СА. Выделение митохондрий из клеток и тканей животных и человека: современные методические приемы. *Сибирский медицинский журнал*. 2011;26(11): 22-28 [Egorova MV, Afanas'ev SA. Isolation of mitochondria from cells and tissues of animals and human: modern methodical approaches. *Siberian Medical Journal*. 2011;26(11): 22-28. (In Russ.)].
6. Егорова МВ, Афанасьев СА. Регуляторная роль свободных жирных кислот в поддержании мембранного гомеостаза митохондрий сердца при экспериментальной ишемии миокарда. *Бюллетень сибирской медицины*. 2012;11(3): 31-37 [Egorova M.V., Afanasiyev S.A. Regulatory role of free fatty acids in maintain of membrane homeostasis in heart mitochondria at experimental myocardial ischaemia. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2012;11(3): 31-37. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2012-3-31-37>.
7. Rebrova TY, Korepanov VA, Afanasiev SA. Age Peculiarities of Respiratory Activity and Membrane Microviscosity of Mitochondria from Rat Cardiomyocytes. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2021;170 (3): 368-370. <https://doi.org/10.1007/s10517-021-05069-8>.
8. Маниатис Т, Фрич Э, Сэмбрук Дж. В кн. Молекулярное клонирование. Москва 1984: 479 [Maniatis T, Fritsch E, Sambrook J. In the book. *Molecular cloning*. Moscow 1984: 479. (In Russ.)].
9. Голубенко МВ, Шумакова ТВ, Макеева ОА, и др. Полиморфизм митохондриальной ДНК и ишемия миокарда: ассоциация гаплогруппы Н. *Сибирский журнал клинической и экспериментальной медицины*. 2021;36(4): 70-77 [Golubenkov MV, Shumakova TV, Makeeva OA, et al. Mitochondrial DNA polymorphism and myocardial ischemia: Association of haplogroup H with heart failure. *The Siberian Journal of Clinical and Experimental Medicine*. 2021;36(4): 70-77. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.29001/2073-8552-2021-36-4-70-77>.
10. Andrews RM, Kubacka I, Chinnery PF, et al. Reanalysis and revision of the Cambridge reference sequence for human mitochondrial DNA. *Nature Genetics*. 1999;23(2):147. <https://doi.org/10.1038/13779>.
11. van Oven M, Kayser M. Updated comprehensive phylogenetic tree of global human mitochondrial DNA variation. *Human Mutation*. 2009;30(2): 386-394. <https://doi.org/10.1002/humu.20921>.
12. Gambardella J, Sorriento D, Ciccarelli M, et al. Functional Role of Mitochondria in Arrhythmogenesis. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. 2017;982: 191-202. https://doi.org/10.1007/978-3-319-55330-6_10.
13. Achilli A, Rengo C, Magri C, et al The molecular dissection of mtDNA haplogroup H confirms that the Franco-Cantabrian glacial refuge was a major source for the European gene pool. *The American Journal of Human Genetics*. 2004;75(5): 910-8. <https://doi.org/10.1086/425590>.
14. Fernández-Caggiano M, Barallobre-Barreiro J, Rego-Pérez I, et al. Mitochondrial haplogroups H and J: Risk and protective factors for ischemic cardiomyopathy. *PLoS One*. 2012;7(8): e44128. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0044128>.
15. Palacín M, Alvarez V, Martín M, et al. Mitochondrial DNA and TFAM gene variation in early-onset myocardial infarction: Evidence for an association to haplogroup H. *Mitochondrion*. 2011;11(1): 176-181. <https://doi.org/10.1016/j.mito.2010.09.004>.
16. Афанасьев СА, Егорова МВ, Кондратьева ДС, и др. К вопросу о возможной метаболической составляющей аритмогенной резистентности миокарда при сочетании развития постинфарктного ремоделирования сердечной мышцы и сахарного диабета. *Вестник аритмологии*. 2010;60: 65-69 [Afanasyev SA, Egorova MV, Kondratyeva DS, et al. Contribution to a potential metabolic component of arrhythmogenic resistance of myocardium in simultaneous development of post-infarction myocardial remodeling and diabetes mellitus. *Journal of Arrhythmology*. 2010;60: 65-69. (In Russ.)].