

УДК 616.12-008.331.1

Патогенетическая роль свободно циркулирующей митохондриальной ДНК крови в формировании артериальной гипертензии

Лепехова С.А.¹, Трофимова Е.А.², Кирильчик С.В.³, Киреева В.В.^{1,2}, Усольцев Ю.К.², Апарцин К.А.¹

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Иркутский научный центр» Сибирского отделения Российской академии наук.

664033, Иркутск, ул. Лермонтова, д. 134

² Федеральное государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Больница Иркутского научного центра Сибирского отделения Российской академии наук».

664033, Иркутск, ул. Лермонтова, д. 283 В

³ Государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Областной онкологический диспансер».

664035, Иркутск, улица Фрунзе, д. 32

Изучение свободно циркулирующей митохондриальной ДНК (мтДНК) плазмы крови вызывает растущий интерес. Предполагается, что показатель мтДНК может быть перспективным клиническим биомаркером оценки рисков течения заболеваний.

Целью исследования явилась оценка взаимосвязи количественного показателя мтДНК со стадией заболевания и сердечно-сосудистым риском у пациентов с артериальной гипертензией (АГ).

Методы. В исследовании участвовал 70 пациентов, которые были разделены на группу с АГ (n = 51) и контрольную группу практически здоровых пациентов (n = 19). Все пациенты подписали информированное согласие на обследование и обработку данных в рамках научного исследования. Проведена оценка демографических данных, длительности заболевания АГ, факторов риска, наследственности, уровня физической активности, антропометрических данных, лабораторное и инструментальное обследование. Оценка уровня мтДНК проведена методом количественной полимеразной цепной реакции. Использовали фрагмент мтДНК с праймерами FmtMinArc 5'-СТАААТАGCCACACGTTCC-3' и RmtMinArc 5'-AGAGCTCCCGTGAGTGGTTA-3'.

Результаты. На основании проведенного исследования оценки взаимосвязи количественного показателя мтДНК в крови пациентов с АГ, выявлено, что независимо от стадии заболевания, достоверных различий в показателях уровня мтДНК не выявлено, однако отметим, что количество копий имело тенденцию к увеличению по сравнению с условно здоровыми пациентами. При анализе сердечно-сосудистого риска обнаружено, что количественный показатель мтДНК не зависит от стадии АГ. В то же время уровень мтДНК статистически значимо повышается у пациентов с АГ очень высокого сердечно-сосудистого риска по сравнению с условно здоровыми субъектами: Me (Q1; Q3) – 56731 (42531; 129375) копий/мл против 35156 (18325; 54956) копий/мл соответственно (p = 0,015).

Заключение. Уровень мтДНК у пациентов с АГ может явиться маркером сердечно-сосудистого риска. Учитывая ранее показанную патогенетическую роль уровня мтДНК при остром коронарном синдроме, следует продолжить анализ, чувствительность которого может быть повышена за счет включения количественных показателей содержания ядерной ДНК.

Ключевые слова: артериальная гипертензия; свободно циркулирующая митохондриальная ДНК; стадия артериальной гипертензии; сердечно-сосудистый риск.

Для цитирования: Лепехова С.А., Трофимова Е.А., Кирильчик С.В., Киреева В.В., Усольцев Ю.К., Апарцин К.А. Патогенетическая роль свободно циркулирующей митохондриальной ДНК крови в формировании артериальной гипертензии. Патогенез. 2021; 19(2): 50-57.

DOI: 10.25557/2310-0435.2021.02.50-57

Для корреспонденции: Трофимова Елена Анатольевна, e-mail: tea.med@mail.ru

Финансирование. Исследование выполнено в рамках государственного задания

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 02.04.2021

Pathogenetic role of cell-free circulating mitochondrial DNA in blood in the development of arterial hypertension

Lepekova S.A.¹, Trofimova E.A.², Kirilchik S.V.³, Kireeva V.V.^{1,2}, Usoltsev Yu.K.², Apartsin K.A.¹

¹ Irkutsk Scientific Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences.

Lermontov St. 134, Irkutsk 664033, Russian Federation

² Hospital of the Irkutsk Scientific Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences.

Lermontov St. 283 V, Irkutsk 664033, Russian Federation

³ Irkutsk Regional Cancer Center,

Frunze St. 32, Irkutsk 664035, Russian Federation

Studying cell-free circulating mitochondrial DNA (mtDNA) in blood plasma induces growing interest. It is assumed that an indicator of mtDNA may appear a promising clinical biomarker for assessment of the risks in the course of diseases.

The aim of this study was evaluating the relationship between the quantitative indicator of mtDNA in the blood of patients with arterial hypertension (AH) and the stage of the disease and the cardiovascular risk.

Methods The study included 70 patients who were divided into a group with AH (n = 51) and a control group of apparently healthy patients (n = 19). All patients signed the informed consent for examination and the processing of personal data as a part of the study. Demographic data, duration of hypertension, risk factors, heredity, physical activity, anthropometric data, results of laboratory and instrumental examinations were recorded. Concentration of mtDNA was measured by the quantitative polymerase chain reaction. A mtDNA fragment with primers FmtMinArc 5'-CTAAATAGCCACACGTTCCC-3' and RmtMinArc 5'-AGAGCTCCCGTGGTGA-3' was used.

Results. Studying the relationships between the quantitative indicator of mtDNA in the blood and AH showed that there were no significant differences in the indicators for the level of mtDNA regardless of the AH stage. However, we noted that the number of copies tended to increase in comparison with that in conventionally healthy patients. Analysis of the cardiovascular risk showed that the quantitative indicator of mtDNA did not depend on the stage of hypertension. At the same time, the level of mtDNA was significantly increased in very high cardiovascular risk patients with AH as compared to conventionally healthy subjects: Me (LQ; UQ), 56731.2 (42531.25; 129375.0) copies/ml vs. 35156.00 (18325.00; 54956.00) copies/ml, respectively (p = 0.015).

Conclusion. The level of mtDNA in AH patients is a potential a marker for cardiovascular risk as shown by the increase in mtDNA in very high cardiovascular risk patients. Taking into account the previously demonstrated pathogenetic role of the level of mtDNA in acute coronary syndrome, the analysis should be continued. The analysis sensitivity can be increased by inclusion of quantitative indicators for the content of nuclear DNA.

Key words: arterial hypertension; cell-free circulating mitochondrial DNA; stage of arterial hypertension; cardiovascular risk.

For citation: Lepekhova S.A., Trofimova E.A., Kirilchik S.V., Kireeva V.V., Usoltsev Yu.K., Apartsin K.A. [Pathogenetic role of cell-free circulating mitochondrial DNA in blood in the development of arterial hypertension]. *Patogenez [Pathogenesis]*. 2021; 19(2): 50-57 (in Russian)

DOI: 10.25557/2310-0435.2021.02.50-57

For correspondence: Trofimova Elena Anatolyevna, e-mail: tea.med@mail.ru

Funding. The study was carried out as part of a state assignment.

Conflict of interest. The authors declare that they have no conflicts of interest.

Received: 02.04.2021

Введение

Артериальная гипертензия (АГ) — одно из наиболее распространенных заболеваний, а осложнения, связанные с нею, являются основной причиной смертности и инвалидизации населения во всем мире [1].

Свободно циркулирующую митохондриальную ДНК (мтДНК) крови относят к «молекулярным паттернам риска» (danger associated molecular patterns, DAMPs) [2]. Определение уровня мтДНК крови используют для прогноза развития осложнений и смертности при злокачественных опухолях, септических процессах, а также для оценки вероятности летального исхода у пациентов отделений интенсивной терапии [3]. Однако патогенетическая роль мтДНК крови как клинического биомаркера течения АГ на данный момент изучена мало.

Считается, что выход ДНК из митохондрий в циркуляторное русло происходит в результате общих механизмов либо повреждения, либо гибели клеток, когда потеря целостности клеточной мембраны приводит к высвобождению внутриклеточного содержимого [4]. В эксперименте на модели острой ишемии миокарда после подкожной инъекции адреналина установлено возрастание концентрации мтДНК в плазме крови [4]. В 2016–2017 гг. на базе Больницы Иркутского научного центра Сибирского отделения Российской академии наук (ИНЦ СО РАН) была проведена исследовательская работа, с оценкой изменения уровня мтДНК в плазме крови больных хронической ишемией миокарда в отношении прогнозирования течения заболевания и эффективности проводимой терапии. Показаны предикторные свойства изменения уровня мтДНК в процессе лечения ИБС [5–7].

Альтерация митохондриального аппарата клеток лежит в основе патогенеза ишемической болезни сердца, нейродегенеративных заболеваний, развития фи-

брозных изменений в печени и многих других патологических процессов [4]. Однако до сих пор мало изучена патофизиологическая роль мтДНК в развитии того или иного заболевания. Повышенный уровень мтДНК является отражением протекающих в организме патогенетических процессов, что может быть использовано с прогностической и/или диагностической целью. Учитывая это, целью нашей работы явилась оценка взаимосвязи количественного показателя мтДНК со стадией заболевания и сердечно-сосудистым риском у пациентов с АГ.

Материалы и методы исследования

На базе Больницы ИНЦ СО РАН было проведено одноцентровое, наблюдательное исследование (за период 2020 года), в котором принял участие 71 субъект, сформированы 2 группы. Группа 1 — 51 пациент с АГ, в возрасте 58 (51; 62) лет (данные приведены в формате Me (Q1; Q3)), и группа 2 — 20 условно здоровых добровольцев, у которых отсутствовала АГ и сопутствующие заболевания. Один субъект 2-й группы, женщина с индексом массы тела (ИМТ) 44 кг/м², была исключена из исследования. Таким образом, во 2-й группе оказалось 19 человек в возрасте 44 (37; 51) лет. Критерии включения в группу 1 исследования: мужчины или женщины в возрасте от 18 до 80 лет; наличие подписанного информированного согласия субъекта на участие в наблюдательном исследовании; диагноз — АГ (эссенциальная). Критерии невключения/исключения из исследования: сердечная недостаточность ПБ-III стадии по классификации Василенко–Стражеско или III–IV функционального класса по Нью-Йоркской кардиологической ассоциации (НУНА); хронические заболевания печени и/или повышение уровня аланинаминотрансферазы свыше 2 верхних границ нормы или уровня общего билирубина бо-

лее чем в 1,5 раза выше верхней границы нормы, либо вирусный гепатит В или С в анамнезе или другие отклонения со стороны печени, которые, по мнению исследователя, препятствуют участию в исследовании; тяжелые нарушения функции почек: хроническая болезнь почек IV-V ст.; активная форма туберкулеза, вирус иммунодефицита человека, оппортунистические инфекции, или инфекции угрожающие жизни; системные заболевания соединительной ткани; злокачественные новообразования любой локализации, в том числе в анамнезе; идиопатические кардиомиопатии (дилатационная и гипертрофическая), миокардиты, эндокардиты, врожденные и приобретенные пороки сердца; злоупотребление алкоголем или наркотиками (или другими запрещенными препаратами) в течение 2 лет до включения; тиреотоксикоз, гипотиреоз средней и тяжелой степени; трансплантация любого органа в анамнезе или запланированная трансплантация органа; заболевания крови, в том числе анемии средней и тяжелой степени; любое сопутствующее состояние, приводящее к продолжающейся значимой кровопотере; беременность и ранний послеродовый период; любые медицинские состояния, включая активную клинически значимую инфекцию, которые по мнению исследователя способны повлиять на результаты оценок или препятствовать участию в исследовании.

Все пациенты подписали информированное согласие на обследование и обработку данных в рамках научного исследования. Всем пациентам при включении проведена оценка демографических данных (возраст, пол, расовая и этническая принадлежность), длительности заболевания АГ, наличия сопутствующих заболеваний, факторов риска, наследственности, уровня физической активности, антропометрических показателей с последующим расчётом ИМТ, проведен объективный осмотр (особое внимание уделено показателям сердечно-сосудистой системы, определению частоты пульса, артериального давления (АД)), лабораторное (общий и биохимический анализ кро-

ви, общий анализ мочи, скорость клубочковой фильтрации, микроальбуминурия) и инструментальное обследование (рентгенография органов грудной клетки, 12-канальная электрокардиография, ультразвуковое исследование почек, осмотр врача-офтальмолога и исследование глазного дна, эхокардиография для оценки структуры и функции сердца, наличия/отсутствия гипертрофии левого желудочка). Проведено исследование уровня мтДНК в крови. Проведена оценка степени и стадии АГ, степени риска сердечно-сосудистых осложнений [8]. Исследование одобрено Комитетом по биомедицинской этике Иркутского научного центра Сибирского отделения РАН (протокол №5 от 29 июня 2015 года с поправками от 23.01.2017 года протокол №17; протокол №57-1 от 01 марта 2021 года).

В соответствии с Клиническими рекомендациями (Артериальная гипертензия у взрослых. Код по МКБ 10: I10/I11/I12/I13/I15. Возрастная группа: взрослые. Год утверждения: 2020), пациенты 1-й группы распределены по стадии гипертонической болезни (ГБ), степени повышения АД, оценки сердечно-сосудистого риска по критериям риска развития сердечно-сосудистых осложнений (табл. 1).

Пациенты группы 1 с АГ распределились по категории сердечно-сосудистого риска: низкий риск – 1 (2%), умеренный риск – 11 (22%), высокий риск – 24 (47%), очень высокий риск – 15 (29%). Учитывая, что с низким риском был один пациент, для статистической обработки он объединен с группой умеренного риска. Таким образом, низкий и умеренный риск – 12 (24%), высокий риск – 24 (47%), очень высокий риск – 15 (29%).

По стадии ГБ: I (не осложненная) – 19 (37%), II (бессимптомная) – 26 (51%), III (осложненная) – 6 (12%).

Определение свободной циркулирующей митохондриальной ДНК

Для определения уровня мтДНК образцы крови в вакуумных пробирках с ЭДТА центрифугиро-

Таблица 1

Стратификация риска у пациентов с АГ

Стадия АГ	ФР, ПОМ, заболевания	АД, мм рт.ст.		
		АГ 1-й степени	АГ 2-й степени	АГ 3-й степени
		САД 140-159 и/или ДАД 90-99	САД 160-179 и/или ДАД 100-109	САД ≥180- и/или ДАД ≥110
Стадия I (не осложненная)	Других ФР нет	Низкий риск	Умеренный риск	Высокий риск
	1-2 ФР	Умеренный риск	Высокий риск	Высокий риск
	3 и более ФР	Высокий риск	Высокий риск	Высокий риск
Стадия II (бессимптомная)	Субклиническое ПОМ, ХБП III стадии или СД	Высокий риск	Высокий риск	Очень высокий риск
Стадия III (осложненная)	ССЗ, ЦВБ, ХБП ≥IV стадии или СД с ПОМ или ФР	Очень высокий риск	Очень высокий риск	Очень высокий риск

Примечания: ФР – фактор риска; САД – систолическое артериальное давление; ДАД – диастолическое артериальное давление; ПОМ – поражение органов-мишеней; ХБП – хроническая болезнь почек; СД – сахарный диабет; ССЗ – сердечно-сосудистые заболевания; ЦВБ – цереброваскулярные болезни.

вали при 800 g в течение 10 мин. Плазму отбирали, оставляя около 5 мм до лейкоцитарного слоя, и переносили в другую пробирку. После этого отобранную плазму центрифугировали повторно при 2000 g в течение 30 мин. Надосадочную плазму переносили в чистую пробирку. Выделение мтДНК проводили из 800 мкл плазмы с использованием набора DNeasy Blood & Tissue Kit (QIAGEN). Непосредственно перед началом выделения в плазму добавляли 1 мкг осадителя Carrier RNA(poly A) (QIAGEN). Выделение проводили в соответствии с протоколом производителя, увеличив объем растворов пропорционально объему плазмы.

Уровень мтДНК определяли с использованием метода количественной полимеразной цепной реакции (ПЦР) с использованием автоматического анализатора LightCycler® 96 (Roche). Для амплификации маркера мтДНК использовали фрагмент контрольного региона мтДНК с праймерами FmtMinArc 5'-CTAAATAGCCCACACGTTCCC-3' и RmtMinArc 5'-AGAGCTCCCGTGAGTGGTTA-3' (Phillips et al, 2014). ПЦР проводили в 50 мкл реакционной смеси. В качестве интеркалирующего красителя использовали EvaGreen® (Biotium). Реакционная смесь содержала 1 ед. полимеразы Tersus (Evrogen, Россия), 1 Tersus Plus буфер, 200 нМ каждого прай-

Таблица 2

Общая и клиническая характеристика в группах

	Группа 1 n = 51	Группа 2 n = 19	P
Возраст (лет), Me(Q1; Q3)	58 (51; 62)	44 (37; 51)	<0,001 ²
Пол			
мужчины	9/51(18%)	1/19 (5%)	0,178 ¹ NS
женщины	42/51 (82%)	18/19 (95%)	
Стадия АГ			
I стадия АГ	19/51 (37%)	Нп	
II стадия АГ	26/51 (51%)	Нп	
III стадия АГ	6/51 (12%)	Нп	
Сердечно-сосудистый риск			
низкий (риск 1)	1/51 (2%)	Нп	
умеренный (риск 2)	11/51 (22%)	Нп	
высокий (риск 3)	24/51 (47%)	Нп	
очень высокий (риск 4)	15/51 (29%)	Нп	
Длительность АГ			
Средняя (лет), Me(Q1; Q3)	6 (4; 10)	Нп	
1-5 лет	25/51(49%)	Нп	
6-10 лет	15/51 (29%)	Нп	
более 10 лет	11/51 (22%)	Нп	
ИМТ			
Средний (кг/м ²), Me(Q1; Q3)	29,5 (25,0; 33,0)	23,0 (21,0; 25,0)	<0,001 ²
18,5 – 25,0 кг/м ²	10/51 (20%)	14/19 (74%)	<0,001 ³
25,1 – 29,9 кг/м ²	18/51 (35%)	5/19 (26%)	NS
30,0 – 40,0 кг/м ²	20/51 (39%)	0/19 (0%)	NS
более 40,1 кг/м ²	3/51 (6%)	0/19 (0%)	NS
Физическая активность			
Очень низкая	3/51 (6%)	1/19 (5%)	0,394 ³ NS NS
Низкая	25/51 (49%)	6/19 (32%)	
Средняя	23/51 (45%)	12/19 (63%)	
Среднесуточная калорийность питания (ккал), Me (Q1; Q3)	2100 (2000; 2300)	2100 (2000; 2300)	0,807 ²
Отягощенная наследственность по АГ			
нет	13/51 (25%)	9/19 (47%)	0,074 ¹ NS
есть	38/51 (75%)	10/19 (53%)	
Наличие сопутствующих заболеваний			
нет	25/51 (49%)	19/19 (100%)	<0,001 ¹ NS
есть	26/51 (51%)	0/19 (0%)	
ИБС	7/51 (14%)	0/19 (0%)	0,097 ¹
СД	7/51 (14%)	0/19 (0%)	0,097 ¹
Ожирение	21/51 (41%)	0/19 (0%)	<0,001 ¹
БА	1/51 (2%)	0/19 (0%)	0,729 ¹

Примечания: ¹ – односторонний точный критерий Фишера; ² – U-критерий Манна-Уитни; ³ – Критерий Пирсона χ^2 ; Нп – не применимо; NS – не важно (non significance).

мера, 200 мкМ dNTP, 0,5 EvaGreen. В качестве стандарта была подготовлена серия 10-кратных разведений ДНК, выделенной из крови анонимного донора. В каждую ПЦР смесь стандарта добавляли 10 мкл ДНК. Расчет концентраций стандарта проводили следующим образом: Максимальное разведение стандарта, позволяющее получить положительный сигнал мтДНК, принимали за 1 копию. Десятикратные разведения стандарта, таким образом, готовили от 0 (нет амплификации) до 10^5 копий мтДНК. Все реакции ПЦР, включая стандарты, проводили в двух повторах. Специфичность ампликонов подтверждена секвенированием и проверялась в конце каждой серии циклирования анализом кривых плавления. Протокол ПЦР был следующим: предварительная денатурация 95°C 3 мин; 4 цикла 95°C 15 с, 64°C–60°C 15 с в режиме touchdown с шагом –1°C, 72°C 20 с; 45 циклов 95°C 10 с, 60°C 15 с, 72°C 20 с; плавление 65°C – 95°C. Результат выражали в количестве копий мтДНК на 1 мл крови.

Статистический анализ проводили с помощью программы Statistica 10 (StatSoft Inc., США). Для определения близости к нормальному закону распределения данных использовали тест Шапиро-Уилка. В качестве описательной статистики для переменных с количественными данными использовали медиану и интерквартильный размах Me (Q1; Q3). При анализе межгрупповых различий применяли непараметрический критерий Манна-Уитни, Kruskal-Wallis ANOVA by Ranks, Multiple Comparisons (2-tailed). Различия в частотах бы-

ли проверены с помощью теста χ^2 (или одностороннего точного критерия Фишера и z-критерия). Анализ связи между параметрами, проводился с использованием ранговой корреляции Спирмена. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты исследования

Данные, характеризующие состав групп пациентов по полу, возрасту, сопутствующим заболеваниям отражены в **табл. 2**. Соотношение мужчин и женщин было сопоставимо в группах, преобладали женщины, также были сопоставимы показатели физической активности, среднесуточной калорийности питания, отягощенной наследственности по АГ.

Сравнительная оценка уровня мтДНК в группах пациентов показывает, что уровень мтДНК группы 1 выше, чем группы 2, однако, значимых различий не выявлено – 51113 (29188; 84313) копий/мл и 35156 (18325; 54956) копий/мл соответственно ($p = 0,086$, Манна-Уитни U Test).

Для уточнения возможности использования мтДНК как дополнительного прогностического критерия течения и степени тяжести АГ, в группе 1 выделены стадии гипертонической болезни и степень сердечно-сосудистого риска.

В результате исследования статистически значимых различий уровня мтДНК у пациентов с различной стадией АГ группы 1 и группы 2 не получено (**табл. 3**).

Таблица 3

Уровень мтДНК (копий/мл) в плазме крови в зависимости от стадии АГ

	Группа 1 <i>n</i> = 51			Группа 2 <i>n</i> = 19	<i>p</i>
	стадия I <i>n</i> = 19	стадия II <i>n</i> = 26	стадия III <i>n</i> = 6		
Коды групп для сравнений	(1)	(2)	(3)	(4)	
мтДНК, копий/мл	42631 (26306; 71188)	53209 (29188; 87500)	57403 (42519; 84688)	35156 (18325; 54956)	¹⁻⁴ 0,369 ²⁻⁴ 0,074 ³⁻⁴ 0,198 ¹⁻²⁻³ 0,552

Примечания: попарные сравнения – U-критерий Манна-Уитни; множественные сравнения – Kruskal-Wallis ANOVA by Ranks.

Таблица 4

Уровень мтДНК (копий/мл) в плазме крови в зависимости от сердечно-сосудистого риска

	Группа 1 <i>n</i> = 51			Группа 2 <i>n</i> = 19	<i>p</i>
	Умеренный риск <i>n</i> = 12	Высокий риск <i>n</i> = 24	Очень высокий риск <i>n</i> = 15		
Коды групп для сравнений	(1)	(2)	(3)	(4)	
мтДНК, копий/мл	82218 (30800; 85906)	40643 (24118; 53831)	56731 (42531; 129375)	35156 (18325; 54956)	¹⁻⁴ 0,045 ²⁻⁴ 0,816 ³⁻⁴ 0,015 ¹⁻²⁻³ 0,029

Примечания: попарные сравнения – U-критерий Манна-Уитни; множественные сравнения – Kruskal-Wallis ANOVA by Ranks.

Оценка результатов в зависимости от степени сердечно-сосудистого риска (табл. 4) показала, что уровень мтДНК в группе 1 в подгруппах очень высокого, высокого и умеренного сердечно-сосудистого риска статистически в целом (по результатам множественного сравнения) значимо различается ($p = 0,029$). При этом уровень мтДНК в подгруппе очень высокого сердечно-сосудистого риска группы 1 был статистически значимо выше, чем в группе 2 ($p = 0,015$, коды в таблице 3-4), в подгруппе умеренного сердечно-сосудистого риска – статистически значимо выше, чем в группе 2 ($p = 0,045$, коды в таблице 1-4). У пациентов подгруппы высокого сердечно-сосудистого риска группы 1 по сравнению с группой 2 значимых отличий уровня мтДНК не установлено ($p = 0,816$, коды в таблице 2-4).

В группе 1 между уровнем мтДНК и скоростью клубочковой фильтрации (СКФ) подтверждена статистически значимая ($p = 0,015$) обратная корреляция средней степени ($R = -0,34$). Снижение СКФ является значимым прогностическим фактором при АГ и в связи с наличием доказанной связи между даже незначительным снижением СКФ и повышением сердечно-сосудистой смертности [10], что важно у пациентов с АГ для выявления заболеваний почек и оценки сердечно-сосудистого риска.

Обсуждение

Ранее нашей исследовательской группой было показано повышение уровня мтДНК в крови при экспериментальной дислипидемии (как патогенетический механизм атеросклероза) [9, 10], на модели острого ишемического повреждения миокарда как токсического генеза [4, 11, 12], так и при перевязке коронарной артерии [13, 14]. В дальнейшем у пациентов с острым коронарным синдромом, включенных в наблюдательное исследование [15] были установлены предикторные свойства повышения уровня мтДНК в отношении прогноза заболевания [16]. Соответствующий способ прогнозирования исхода острой ишемии миокарда запатентован [17]. Основываясь на патогенетической роли повышения уровня мтДНК как маркера митохондриальной дисфункции при остром коронарном синдроме, мы продолжили исследования на клинических моделях хронической ишемии миокарда и головного мозга [5, 7]. Именно эти результаты, полученные ранее, позволили предположить существование патогенетического механизма формирования АГ в виде повышения уровня мтДНК, прямо пропорционального тяжести патологического процесса (стадии АГ и риска). База данных, подготовленная и зарегистрированная нами, включала данные объективного осмотра, функционального, ультразвукового и лабораторного обследования, мтДНК и ядерной ДНК пациентов с АГ в сочетании с группой контроля [8], включенных в более широкое комплексное исследование молекулярно-генетического профиля лиц, занимающихся интеллектуальным трудом, с сер-

дечно-сосудистыми и другими неинфекционными заболеваниями, проводимое в Иркутском научном центре Сибирского отделения РАН [18] в соответствии с современными принципами формирования общедоступной базы данных кардиоваскулярных клинических исследований [19]. По замыслу исследовательской группы, эта серия трансляционных исследований позволит сформировать персонализированный подход к профилактике АГ [20].

Причины выявленного отсутствия зависимости уровня мтДНК от стадии АГ могут заключаться как в недостаточном количестве субъектов, включенных в базу данных, так и в существующих погрешностях оценок. Кроме того, закономерности и механизмы формирования пула мтДНК в крови при АГ, очевидно, отличаются от таковых при атеросклерозе и, тем более, острой ишемии миокарда. Отдельным вопросом, требующим анализа и осмысления, является анализ соотношения свободно циркулирующей ядерной ДНК и мтДНК, поскольку патогенетические механизмы альтерации митохондриального и ядерного аппаратов различаются. Эти результаты будут обработаны нами и опубликованы в дальнейшем.

Заключение

Получены данные позволяют предположить, что повышение уровня мтДНК у пациентов с АГ является патогенетическим механизмом формирования очень высокого сердечно-сосудистого риска. Это может иметь клиническое значение для прогнозирования течения АГ.

Список литературы

1. Усаченко Ю.В., Белоглазов В.А., Гордиенко А.И. Системное воспаление, уровень липополисахарид-связывающего белка и растворимых sCD14 рецепторов при коморбидности сезонного аллергического ринита, эссенциальной артериальной гипертензии и ожирения. *Патогенез*. 2020; 18(3): 61-67. DOI: 10.25557/2310-0435.2020.03.61-67
2. Zhang Q., Raoof M., Chen Y., Sumi Y., Sursal T., Junger W., Brohi K., Itagaki K., Hauser C.J. Circulating mitochondrial DAMPs cause inflammatory responses to injury. *Nature*. 2010; 464(7285): 104-107. DOI: 10.1038/nature08780
3. Nakahira K., Kyung S.Y., Rogers A.J., Gazourian L., Youn S., Marsano A.F., Quintana C., Osorio J.C., Wang Z., Zhao Y., Lawler L.A., Christie J.D., Meyer N.J., Mc Causland F.R., Waikar S.S., Waxman A.B., Chung R.T., Bueno R., Rosas I.O., Fredenburgh L.E., Baron R.M., Christiani D.C., Hunninghake G.M., Choi A.M. Circulating mitochondrial DNA in patients in the ICU as a marker of mortality: derivation and validation. *PLoS Med*. 2013; 10(12): e1001577. DOI: 10.1371/journal.pmed.1001577
4. Судаков Н.П., Попкова Т.П., Новикова М.А., Катышев А.И., Никифоров С.Б., Пушкарев Б.Г., Гольдберг О.А., Клименков И.В., Лепехова С.А., Апарцин К.А., Ежикеева С.Д., Тен М.Н., Константинов Ю.М. Взаимосвязь уровня свободно циркулирующей митохондриальной ДНК крови с активностью маркеров цитолиза при экспериментальной острой мелкоочаговой ишемии миокарда. *Сибирский медицинский журнал (Иркутск)*. 2013; 120(5): 83-86.
5. Киреева В.В., Усольцев Ю.К., Лифшиц Г.И., Лепехова С.А., Кожевникова Е.Е., Апарцин К.А. Трансляционное исследование: методы диагностики митохондриальной дисфункции у пациентов с сердечно-сосудистой патологией. *Сибирское медицинское обозрение*. 2017; 4(106): 35-43. DOI: 10.20333/2500-0136
6. Трофимова Е.А., Киреева В.В., Лепехова С.А. Новый прогностический фактор мониторинга эффективности лечения ише-

- мических повреждений миокарда. *Перспективы развития биомедицинских технологий в Байкальском регионе: сборник тезисов Международной научной конференции, Иркутск, 05–07 февраля 2019 года.* – Иркутск: Институт географии имени В.Б. Сочавы Сибирского отделения Российской академии наук, 2019: 104–105.
7. Усольцев Ю.К., Киреева В.В., Апарцин К.А., Лифшиц Г.И., Лепехова С.А. Исследование митохондриальной дисфункции у пациентов с хронической ишемией миокарда и/или головного мозга: дизайн и процедура исследования. *Трансляционная медицина*. 2016; 3(4): 82–89.
 8. Трофимова Е.А., Киреева В.В., Усольцев Ю.К., Лепехова С.А., Химич А.И., Павлова Е.Г. Данные объективного осмотра, функционального, ультразвукового и лабораторного обследования, митохондриальной и ядерной ДНК пациентов с артериальной гипертензией. Свидетельство о государственной регистрации базы данных 2021620151; РФ; 2021.
 9. Судаков Н.П., Клименков И.В., Попкова Т.П., Никифоров С.Б., Гольдберг О.А., Лепехова С.А., Апарцин К.А., Катышев А.И., Константинов Ю.М. Ранние этапы развития атеросклероза и уровень свободно циркулирующей митохондриальной ДНК крови при экспериментальной дислипидемии. *Атеросклероз*. 2015; 11(3): 15–21.
 10. Sudakov N.P., Popkova T.P., Katsyhev A.I., Goldberg O.A., Nikiforov S.B., Pushkarev B.G., Klimenkov I.V., Lepekhova S.A., Apartsin K.A., Nevinsky G.A., Konstantinov Yu.M. Level of blood cell-free circulating mitochondrial DNA as a novel biomarker of acute myocardial ischemia. *Biochemistry Moscow*. 2015; 80: 1387–1392. DOI: 10.1134/S000629791510020X
 11. Судаков Н.П., Попкова Т.П., Катышев А.И., Гольдберг О.А., Никифоров С.Б., Пушкарев Б.Г., Клименков И.В., Лепехова С.А., Апарцин К.А., Невинский Г.А., Константинов Ю.М. Уровень свободно циркулирующей митохондриальной ДНК крови как новый биомаркер острой ишемии миокарда. *Биохимия*. 2016; 81(1): 78–84.
 12. Судаков Н. П., Клименков И. В., Катышев А. И., Никифоров С.Б., Гольдберг О.А., Пушкарев Б.Г., Лепехова С.А., Апарцин К.А., Константинов Ю.М. Митохондриальная дисфункция при атеросклерозе и инфаркте миокарда: молекулярные и цитохимические маркеры. *Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра Сибирского отделения Российской академии медицинских наук* 2016; 1(3–2(109)): 131–134.
 13. Судаков Н. П., Попкова Т. П., Катышев А. И., Гольдберг О.А., Пушкарев Б.Г., Никифоров С.Б., Клименков И.В., Лепехова С.А., Апарцин К.А., Константинов Ю.М. Изменения уровня свободно циркулирующей митохондриальной ДНК крови при перевязке левой коронарной артерии сердца в эксперименте. *Известия Иркутского государственного университета. Серия: Биология. Экология*. 2014; 8: 85–91.
 14. Судаков Н.П., Попкова Т.П., Катышев А.И., Гольдберг О.А., Новикова М.А., Никифоров С.Б., Пушкарев Б.Г., Клименков И.В., Лепехова С.А., Апарцин К.А., Ежикеева С.Д., Тен М.Н., Константинов Ю.М. Острая ишемия миокарда: закономерности изменений уровня свободно циркулирующей митохондриальной ДНК крови при перевязке верхней трети левой нисходящей ветви коронарной артерии. *Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра Сибирского отделения Российской академии медицинских наук* 2013; 5(93): 150–153.
 15. Лифшиц Г.И., Апарцин К.А. Проспективное многоцентровое наблюдательное исследование ПРОТОКОЛ: Персонализированная терапия клопидогрелем при стентировании по поводу Острого Коронарного синдрома с учётом генетических полиморфизмов. *Качественная клиническая практика* 2015; 1: 78–86.
 16. Sudakov N.P., Apartsin K.A., Lepekhova S.A., Lifshits G.I., Nikiforov S.B., Vyvivantseva A.V., Konstantinov Y.M., Katsyhev A.I. The level of free circulating mitochondrial DNA in blood as predictor of death in case of acute coronary syndrome. *Eur. J. Med. Res.* 2017; 22(1): 1. DOI 10.1186/s40001-016-0241-x
 17. Судаков Н.П., Клименков И.В., Катышев А.И., Никифоров С.Б., Гольдберг О.А., Пушкарев Б.Г., Лепехова С.А., Апарцин К.А., Лифшиц Г.И., Константинов Ю.М. *Способ прогнозирования исхода острой ишемии миокарда*. Патент РФ 2649774 С1; 2016.
 18. Коробейников И. В., Киреева В. В., Лепехова С. А., Мансурова Л.Н., Кох Н.В., Лифшиц Г.И., Апарцин К.А. *Молекулярно-генетический профиль лиц, занимающихся интеллектуальным трудом, с сердечнососудистыми и другими неинфекционными заболеваниями*. Свидетельство о государственной регистрации базы данных 2019620905; РФ; 2019.
 19. Academic Research Organization Consortium for Continuing Evaluation of Scientific Studies--Cardiovascular (ACCESS CV); Patel M., Armstrong P.W., Bhatt D.L., Braunwald E., Camm A.J., Fox K.A., Harrington R.A., Hiatt W.R., James S.K., Kirtane A.J., Leon M.B., Lincoff A.M., Mahaffey K.W., Mauri L., Mehran R., Mehta S.R., Montalescot G., Nicholls S.J., Perkovic V., Peterson E.D., Pocock S.J., Roe M.T., Sabatine M.S., Sekeres M., Solomon S.D., Steg G., Stone G.W., Van de Werf F., Wallentin L., White H.D., Gibson M. Sharing Data from Cardiovascular Clinical Trials - A Proposal. *N. Engl. J. Med.* 2016; 375(5): 407–409. DOI 10.1056/NEJMp1605260
 20. Мансурова Л.Н., Киреева В.В., Лепехова С.А., Алексеевская Т.И. Современные представления о диагностике и профилактике артериальной гипертензии методами персонализированной медицины. *Медицинские технологии. Оценка и выбор*. 2020; 4(42): 30–37. DOI 10.17116/medtech20204204130.

References

1. Usachenko Yu.V., Beloglazov V.A., Gordienko A.I. [Systemic inflammation and levels of lipopolysaccharide-binding protein and soluble cd14 receptors in a comorbidity of seasonal allergic rhinitis, essential hypertension. and obesity]. *Pathogenesis [Pathogenesis]*. 2020; 18(3): 61–67. DOI 10.25557 / 2310-0435.2020.03.61–67 (in Russian)
2. Zhang Q., Raoof M., Chen Y., Sumi Y., Sursal T., Junger W., Brohi K., Itagaki K., Hauser CJ. Circulating mitochondrial DAMPs cause inflammatory responses to injury. *Nature*. 2010; 464(7285): 104–107. DOI: 10.1038/nature08780
3. Nakahira K., Kyung S.Y., Rogers A.J., Gazourian L., Youn S., Massaro A.F., Quintana C., Osorio J.C., Wang Z., Zhao Y., Lawler L.A., Christie J.D., Meyer N.J., Mc Causland F.R., Waikar S.S., Waxman A.B., Chung R.T., Bueno R.A., Rosas I.O., Fredenburgh L.E., Baron R.M., Christiani D.C., Hunninghake G.M., Choi A.M. Circulating mitochondrial DNA in patients in the ICU as a marker of mortality: derivation and validation. *PLoS Med.* 2013; 10(12): e1001577. DOI: 10.1371/journal.pmed.1001577
4. Sudakov N.P., Popkova T.P., Novikova M.A., Katsyhev A.I., Nikiforov S.B., Pushkarev B.G., Goldberg O.A., Klimenkov I.V., Lepekhova S.A., Apartsin K.A., Ezhikeeva S.D., Ten M.N., Konstantinov Y.M. [Interrelation between the level of free circulating MT DNA of blood with the activity of cytolysis markers in the experimental acute small-focal myocardial ischemia]. *Sibirskiy meditsinskiy zhurnal (Irkutsk) [Siberian Medical Journal (Irkutsk)]*. 2013; 120(5): 83–86. (in Russian)
5. Kireeva V.V., Usoltsev Yu.K., Lifshits G.I., Lepekhova S.A., Kozhevnikova E.E., Apartsin K.A. [Translational study: methods of mitochondrial dysfunction diagnostics in patients with cardiovascular pathology]. *Sibirskoye meditsinskoye obozreniye [Siberian Medical Review]*. 2017; 4(106): 35–43. DOI: 10.20333/2500-0136 (in Russian)
6. Trofimova E.A., Kireeva V.V., Lepekhova S.A. [A new prognostic factor for monitoring the effectiveness of treatment of ischemic myocardial damage]. *Prospects for the development of biomedical technologies in the Baikal region: collection of abstracts of the International Scientific Conference, Irkutsk, 05–07 February 2019. Irkutsk: V.B.Sochava Institute of Geography of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences*, 2019: 104–105. (in Russian)
7. Usoltsev Yu.K., Kireeva V.V., Apartsin K.A., Lifshits G.I., Lepekhova S.A. [Study of mitochondrial dysfunction in patients with chronic myocardial ischemia, and / or brain: research design and procedures]. *Translyatsionnaya meditsina [Translational medicine]*. 2016; 3(4): 82–89. DOI: 10.18705/2311-4495-2016-3-4-82-89 (in Russian)
8. Trofimova E.A., Kireeva V.V., Usoltsev Yu. K., Lepekhova S.A., Khimich A.I., Pavlova E.G. [Objective examination data, functional, ultrasound and laboratory examination, mitochondrial and nuclear DNA of patients with arterial hypertension]. Certificate of state registration of the database 2021620151; Russian Federation; 2021. (in Russian)
9. Sudakov N.P., Klimenkov I.V., Popkova T.P., Nikiforov S.B., Goldberg O.A., Lepekhova S.A., Apartsin K.A., Katsyhev A.I., Konstantinov Yu.M. [The early events of atherosclerosis development and the level of free circulating mitochondrial DNA in blood in experimental dyslipidemia]. *Ateroskleroz [Atherosclerosis]*. 2015; 11(3): 15–21. (in Russian)
10. Sudakov N. P., Popkova T. P., Katsyhev A. I. [et al.] [Level of Blood Cell-Free Circulating Mitochondrial DNA as a Novel Biomarker of Acute Myocardial Ischemia]. *Biochemistry (Moscow)* 2015; 80(10): 1387–1392. DOI 10.1134/S000629791510020X. (in Russian)

11. Sudakov N.P., Popkova T.P., Katyshev A.I., Gol'dberg O.A., Nikiforov S.B., Pushkarev B.G., Klimenkov I.V., Lepekhova S.A., Apartsin K.A., Nevinskii G.A., Konstantinov Yu.M. [The level of freely circulating mitochondrial DNA in the blood as a new biomarker of acute myocardial ischemia]. *Biokhimiya [Biochemistry]*. 2016; 81(1): 78-84. (in Russian)
12. Sudakov N.P., Klimenkov I.V., Katyshev A.I., Nikiforov S.B., Goldberg O.A., Pushkarev B.G., Lepekhova S.A., Apartsin K.A., Konstantinov Yu.M. [Mitochondrial dysfunction at atherosclerosis and myocardial infarction: molecular and cytochemical cell-markers]. *Bulletin of the East Siberian Scientific Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences* 2016; 1(3-2 (109)): 131-134. (in Russian)
13. Sudakov N.P., Popkova T.P., Katyshev A.I., Goldberg O.A., Pushkarev B.G., Nikiforov S.B., Klimenkov I.V., Lepekhova S.A., Apartsin K.A., Konstantinov Yu.M. [Changes in free circulating mitochondrial DNA levels in blood after the left coronary artery in experiment]. *Izvestiya Irkutskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Biologiya. Ekologiya [series «Biology. Ecology» of «The Bulletin of Irkutsk State University»]*. 2014; 8: 85-91. (in Russian)
14. Sudakov N.P., Popkova T.P., Katyshev A.I., Goldberg O.A., Novikova M.A., Nikiforov S.B., Pushkarev B.G., Klimenkov I.V., Lepekhova S.A., Apartsin K.A., Ezhikeeva S.D., Ten M.N., Konstantinov Yu.M. [Acute myocardial ischemia: changes of free circulating mtDNA level in blood after occlusion of the upper one-third left descending branch of the coronary artery]. *Byulleten' Vostochno-Sibirskogo nauchnogo tsentra Sibirskogo otdeleniya Rossiyskoy akademii meditsinskikh nauk [Bulletin of the East Siberian Scientific Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences]*. 2013; 5(93): 150-153. (in Russian)
15. Lifshits G.I., Apartsin K.A. [Prospective multicenter observational the personalized therapy with clopidogrel for stenting in acute coronary syndrome regarding the genetic polymorphisms (PROTOCOL study)]. *Kachestvennaya klinicheskaya praktika [Good Clinical Practice]*. 2015; 1: 78-86. (in Russian)
16. Sudakov N.P., Apartsin K.A., Lepekhova S.A., Lifshits G.I., Nikiforov S.B., Vybivantseva A.V., Konstantinov Y.M., Katyshev A.I. The level of free circulating mitochondrial DNA in blood as predictor of death in case of acute coronary syndrome. *Eur. J. Med. Res.* 2017; 22(1): 1. DOI 10.1186/s40001-016-0241-x
17. Sudakov N.P., Klimenkov I.V., Katyshev A.I., Nikiforov S.B., Goldberg O.A., Pushkarev B.G., Lepekhova S.A., Apartsin K.A., Lifshits G.I., Konstantinov Yu.M. [A method for predicting the outcome of acute myocardial ischemia RF]. Patent 2649774 C1, RF; 2016. (in Russian)
18. Korobeinikov I.V., Kireeva V.V., Lepekhova S.A., Mansurova L.N., Koh N.V., Lifshits G.I., Apartsin K.A. [Molecular genetic profile of persons engaged in intellectual work with cardiovascular and other non-communicable diseases]. Certificate of state registration of the database 2019620905; Russian Federation; 2019. (in Russian)
19. Academic Research Organization Consortium for Continuing Evaluation of Scientific Studies--Cardiovascular (ACCESS CV); Patel M., Armstrong P.W., Bhatt D.L., Braunwald E., Camm A.J., Fox K.A., Harrington R.A., Hiatt W.R., James S.K., Kirtane A.J., Leon M.B., Lincoff A.M., Mahaffey K.W., Mauri L., Mehran R., Mehata S.R., Montalescot G., Nicholls S.J., Perkovic V., Peterson E.D., Pocock S.J., Roe M.T., Sabatine M.S., Sekeres M., Solomon S.D., Steg G., Stone G.W., Van de Werf F., Wallentin L., White H.D., Gibson M. Sharing Data from Cardiovascular Clinical Trials - A Proposal. *N. Engl. J. Med.* 2016; 375(5): 407-409. DOI 10.1056/NEJMp1605260
20. Mansurova L.N., Kireeva V.V., Lepekhova S.A., Alekseevskaya T.I. [Personalized medicine for the diagnosis and prevention of arterial hypertension]. *Meditsinskiye tekhnologii. Otsenka i vybor [Medical Technologies. Assessment and Choice]*. 2020; 4(42): 30-37. DOI 10.17116 / medtech20204204130 (in Russian)

Сведения об авторах:

Лепехова Светлана Анатольевна — доктор биологических наук, заведующая отделом медико-биологических исследований и технологий Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Иркутский научный центр» Сибирского отделения Российской академии наук; <https://orcid.org/0000-0002-7961-4421>

Трофимова Елена Анатольевна — кандидат медицинских наук, заместитель главного врача Федерального государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Больница Иркутского научного центра Сибирского отделения Российской академии наук»; <https://orcid.org/0000-0001-6629-0168>

Кирильчик Сергей Васильевич — кандидат биологических наук, биолог клинико-диагностической лаборатории Государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Областной онкологический диспансер»; <https://orcid.org/0000-0002-9997-6294>

Киреева Виктория Владимировна — кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Иркутский научный центр» Сибирского отделения Российской академии наук; заместитель главного врача Федерального государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Больница Иркутского научного центра Сибирского отделения Российской академии наук»; <https://orcid.org/0000-0003-3696-9799>

Усольцев Юрий Константинович — кандидат медицинских наук, главный врач Федерального государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Больница Иркутского научного центра Сибирского отделения Российской академии наук»; <https://orcid.org/0000-0002-2826-5911>

Апарцин Константин Анатольевич — доктор медицинских наук, профессор, директор Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Иркутский научный центр» Сибирского отделения Российской академии наук; <https://orcid.org/0000-0003-0577-9001>