

# ВОЗМОЖНАЯ РОЛЬ МУТАЦИЙ МИТОХОНДРИАЛЬНОГО ГЕНОМА ПРИ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА

Л.А. Егорова<sup>1</sup>, М.В. Ежов<sup>1</sup>, Г.М. Шиганова<sup>2</sup>, А.Ю. Постнов<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ «Российский кардиологический научно-производственный комплекс» Минздрава России, Москва;

<sup>2</sup>ГБУЗ «Городская поликлиника № 2» Департамента здравоохранения г. Москвы

**Контакты:** Марат Владиславович Ежов [marat\\_ezhov@mail.ru](mailto:marat_ezhov@mail.ru)

*Митохондрии являются не только основными производителями аденозинтрифосфата, но и эндогенным источником активных форм кислорода. Митохондриальная дисфункция играет ключевую роль в запуске и прогрессировании атеросклеротического поражения. Нарушение функций митохондрий вследствие повышения в них уровня окисленных форм кислорода, накопления поврежденных митохондриальной ДНК, истощения дыхательных цепей вызывает дисфункцию и апоптоз эндотелиальных клеток, активацию матриксных металлопротеиназ, рост сосудистых гладкомышечных клеток и их миграцию в интиму, экспрессию молекул адгезии и окисление липопротеинов низкой плотности. Митохондриальная дисфункция может быть важным объединяющим механизмом, объясняющим атерогенное действие основных факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний. Небольшие клинические пилотные исследования показали ассоциацию различных мутаций митохондриального генома с атеросклеротическим поражением артерий. Учитывая появившиеся данные о возможной роли митохондрий в атерогенезе, в настоящее время ведутся разработки новых лекарственных препаратов, оказывающих влияние на функцию митохондрий.*

**Ключевые слова:** митохондриальный геном, мутации, ишемическая болезнь сердца

## POSSIBLE ROLE OF MITOCHONDRIAL GENOME MUTATIONS IN CORONARY HEART DISEASE

L.A. Egorova<sup>1</sup>, M.V. Ezhov<sup>1</sup>, G.M. Shiganova<sup>2</sup>, A.Yu. Postnov<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Russian Cardiology Research-and-Production Complex, Ministry of Health of Russia, Moscow

<sup>2</sup>City Polyclinic Two, Moscow Healthcare Department

*Mitochondria are not only the major producers of adenosine triphosphate, but also an endogenous source of reactive oxygen species. Mitochondrial dysfunction plays a key role in the trigger and progression of atherosclerotic lesion. Impaired function in the mitochondria due to their elevated level of oxidized oxygen species, the accumulation of mitochondrial DNA damages, and the exhaustion of respiratory chains induces dysfunction and apoptosis in the endothelial cells; activation of matrix metalloproteinases; growth of vascular smooth muscle cells and their migration into the intima; expression of adhesion molecules, and oxidation of low-density lipoproteins. Mitochondrial dysfunction may be an important unifying mechanism that accounts for the atherogenic effect of major cardiovascular risk factors. Small clinical pilot studies have shown an association of different mitochondrial genome mutations with atherosclerotic lesion in the artery. Taking into account the available data on the possible role of mitochondria in atherogenesis, novel drugs are now being designed to affect mitochondrial function.*

**Key words:** mitochondrial genome, mutations, coronary heart disease

### Введение

Ишемическая болезнь сердца (ИБС) занимает первое место в структуре смертности от сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ). ИБС представляет собой мультифакторное заболевание, в развитии и прогрессировании которого играет роль взаимодействие генетических, фенотипических, средовых и социально-экономических факторов. Данные последних исследований свидетельствуют о том, что в развитии ИБС имеет значение не только генетическая предрасположенность: приобретенные соматические мутации ДНК также могут вносить значительный вклад в патогенез заболевания. В течение длительного времени мутациям мито-

хондриального генома не уделялось должного внимания, хотя они могут играть важную роль в формировании атеросклеротических поражений артерий, вызывая различные дефекты в белковой цепи некоторых дыхательных ферментов, что приводит к митохондриальной дисфункции, которая вносит свой вклад в развитие окислительного стресса и повышает вероятность возникновения и развития атеросклероза [1].

### Митохондриальный геном и мутации митохондриальной ДНК

В 1963 г. было установлено, что митохондрии имеют собственный уникальный геном. Полная нуклео-

тидная последовательность митохондриальной ДНК (мтДНК) человека была определена в 1981 г. МтДНК человека представляет собой двухцепочечную кольцевую молекулу размером 16 569 пар нуклеотидов, в которой расположены 37 генов, участвующих в процессе выработки энергии в дыхательной цепи митохондрий. В их число входят 13 структурных генов, кодирующих субъединицы комплексов окислительного фосфорилирования, а также гены 22 транспортных РНК (тРНК) и 2 рибосомных РНК (рРНК), принимающих участие в синтезе белка непосредственно в митохондриях [2]. Под контролем митохондриального генома кодируются 7 субъединиц аденозинтрифосфат-синтетазы, 3 субъединицы цитохромоксидазы и 1 субъединица убихинол-цитохром-с-редуктазы.

Митохондриальный биогенез и регулирование митохондриальных функций являются результатом сложного процесса, который включает в себя скоординированную экспрессию митохондриальных и ядерных генов [3]. Большая часть мтДНК кодирует белки дыхательной цепи. Ядро регулирует многочисленные митохондриальные функции, ядерная ДНК (ядДНК) кодирует часть митохондриальных белков, например комплексы I и III кодируются яДНК и мтДНК, тогда как комплекс II кодируется только яДНК. Некоторые субъединицы комплекса IV в зависимости от типа тканей также могут быть закодированы мтДНК [4].

В течение жизни в митохондриальном геноме возникают соматические мутации, это обусловлено особенностями его структурной организации, близким прилеганием мтДНК к мембране [5], ошибками репликации, неэффективной системой репарации, функциональным состоянием рибонуклеотидредуктазы, отсутствием защитных гистонов, отсутствием интронов. Однако наибольший вклад вносят активные формы кислорода (АФК) [6]. Скорость мутирования мтДНК примерно в 10–20 раз выше, чем яДНК [7].

В каждой клетке содержатся сотни митохондрий, мутации мтДНК могут происходить как в соматических, так и в половых клетках. Последствия их различны: мутации в соматических клетках приводят к снижению производства энергии в них, мутации, возникающие в половых клетках, могут передаваться следующим поколениям и приводить к развитию новых полиморфизмов или митохондриальных заболеваний. МтДНК передается преимущественно через цитоплазму яйцеклетки, т. е. наследуется по материнской линии.

Фенотипические проявления мутаций митохондриального генома определяются такими факторами, как гетероплазмия, пороговый эффект и эффект генетической воронки. Существование множества копий мтДНК в клетке приводит к гетероплазмии – состоянию, при котором в одной митохондрии, клетке или органе существует несколько вариантов мтДНК (мутантной и немутантной ДНК), в отличие от гомоплаз-

мии, когда все мтДНК идентичны [8]. Митохондриальные мутации могут накапливаться в течение жизни индивида, формируя фенотип носителя. Пенетрантность и экспрессивность митохондриальных мутаций варьируют в широких пределах и зависят от многих факторов, но главным образом от генотипа и уровня гетероплазмии [9].

При делении клетки митохондрии распределяются между дочерними клетками случайным образом, в результате чего дочерние клетки различаются уровнем гетероплазмии. Уровень гетероплазмии мутации мтДНК определяет тяжесть митохондриального заболевания. Для манифестации митохондриального заболевания необходимо, чтобы количество мутантной мтДНК превысило определенный уровень, – это явление получило название порогового эффекта [10]. Проявление мутантного гена происходит тогда, когда количество мутаций достигает определенного критического уровня, после чего наступает нарушение процессов клеточной биоэнергетики. Поэтому при минимальных нарушениях в первую очередь будут страдать наиболее энергозависимые органы и ткани (нервная система, головной мозг, глаза, мышцы).

МтДНК наследуется по материнской линии. Зрелые яйцеклетки содержат десятки тысяч копий мтДНК [11]. Но уже в следующем поколении мтДНК может быть представлена новыми вариантами – это проявление эффекта «генетической воронки» на одной из стадий развития яйцеклеток [12].

### Роль митохондрий в норме и при патологии

Основной функцией митохондрий является синтез аденозинтрифосфата (АТФ) – универсальной формы энергии в любой живой клетке. Окислительное фосфорилирование протекает во внутренней мембране митохондрий и состоит из 4 стадий: 1) превращение поступивших из цитоплазмы в митохондрию пирувата и жирных кислот в ацетил-СоА; 2) окисление ацетил-СоА в цикле Кребса, ведущее к образованию никотинамидадениндинуклеотида (НАДН); 3) перенос электронов с НАДН на кислород по дыхательной цепи; 4) образование АТФ в результате деятельности мембранного АТФ-синтетазного комплекса [13].

Помимо синтеза АТФ, окислительное фосфорилирование представляет собой эндогенный источник АФК: супероксида, пероксида водорода и гидроксильного радикала [3]. Длительное воздействие АФК на клетку приводит к окислительному повреждению белков, липидов и нуклеиновых кислот, а острое воздействие – к инактивации Fe-S-центров ферментативных комплексов окислительного фосфорилирования и фермента цикла трикарбоновых кислот – аконитазы, что приводит к снижению продукции АТФ. Воздействие АФК на мтДНК приводит к накоплению множественных мутаций, снижению скорости окислительного фосфорилирования и еще большему накоплению

АФК. Все это в итоге нарушает функционирование клетки, вызывает программируемую клеточную смерть – апоптоз [14].

Активное изучение митохондриального генома в 1990-х годах позволило выделить целый класс болезней, в основе которых лежат мутации генов митохондриального генома [15]. Митохондриальные болезни (цитопатии) – большая гетерогенная группа наследственных заболеваний и патологических состояний, обусловленных нарушениями структуры, функции митохондрий и тканевого дыхания, при которых наиболее часто поражаются органы нервной, мышечной и сердечно-сосудистой систем [16]. К первичным митохондриальным болезням, обусловленным мутациями яДНК и мтДНК, относят: синдром MELAS (mitochondrial encephalomyopathy, lactic acidosis, stroke-like episodes – митохондриальная энцефаломиопатия, лактат-ацидоз, инсультоподобные эпизоды), синдром MERRF (myoclonic epilepsy with ragged-red fibers – миоклонус-эпилепсия, «рваные красные волокна»), синдром Кернса–Сейра (наружная офтальмоплегия, пигментный ретинит, атриовентрикулярная блокада сердца), синдром Барта, синдром Пирсона, наследственная оптическая нейропатия Лебера и др.

Одной из наиболее энергозависимых систем организма человека является сердечно-сосудистая, которая часто поражается при митохондриальных болезнях. В связи с этим представляет интерес изучение роли митохондрий, мтДНК и функционально связанных с ней ядерных генов при заболеваниях сердечно-сосудистой системы.

Митохондриальная физиология и биогенез играют ключевую роль в запуске и прогрессировании ССЗ, вызванных окислительным повреждением. К таким заболеваниям, например, относится атеросклероз. Митохондрии играют важную роль в обеспечении нормального функционирования эндотелиоцитов, они не только производят АТФ, но и регулируют работу таких клеточных посредников, как кальций и АФК. АФК играют важную роль в процессах клеточной сигнализации [17]. Митохондрии взаимодействуют с другими органеллами и вносят существенный вклад в эндотелиальную кальциевую сигнализацию. Даже производство оксида азота эндотелием зависит от митохондриального обмена кальция [18]. АФК в низких концентрациях играют роль в процессах сосудистой сигнализации, регулируют деятельность белков-посредников, ферментов и ионных каналов в клетках эндотелия [19, 20]. Так, например, эндотелий-расслабляющий фактор – одна из наиболее изученных сигнальных молекул – является свободным радикалом.

Сердечно-сосудистые факторы риска, такие как гиперлипидемия [21], сахарный диабет [22], артериальная гипертензия (АГ), курение, вызывают дисфункцию митохондрий, что приводит к перепроизводству АФК и вызывает нарушение функции эндотелия,

пролиферацию и апоптоз гладкомышечных клеток сосудов и макрофагов, внося тем самым вклад в прогрессирование атеросклеротического поражения и последующего разрыва бляшки [23].

При эндотелиальной дисфункции снижается продукция оксида азота эндотелиальной NO-синтазой [24], вместе с перепроизводством АФК это инициирует развитие атеросклероза. Избыток АФК приводит к образованию пероксинитрит-аниона, который, в свою очередь, ингибирует тетрагидриобиптерин, важнейший кофактор эндотелиальной NO-синтазы, что приводит к дальнейшему снижению синтеза NO. Значительное снижение уровня NO способствует не только повышению продукции АФК, но также открытию митохондриальных АТФ-зависимых K-каналов, следствием чего является высвобождение АФК, и запуску атеросклероза. Окислительное повреждение митохондрий вызывает дисфункцию эндотелия в экспериментальных исследованиях [5]. Клинические исследования также показали связь между митохондриальной дисфункцией и нарушением функции эндотелия у больных ИБС [25]. Нарушение функций митохондрий вследствие повышения в них уровня окисленных форм кислорода, накопления поврежденных мтДНК, истощения дыхательных цепей вызывает гибель эндотелия и гладкомышечных клеток, что способствует формированию/разрыву атеросклеротических бляшек.

АФК могут повреждать такие важные компоненты клеток, как полиненасыщенные жирные кислоты, протеины, нуклеиновые кислоты, углеводы. Это, в свою очередь, может нарушать нормальные свойства клеточных мембран, например текучесть, ионный транспорт, а также менять активность ферментов, синтез и транспорт белков, что ведет к апоптозу.

Митохондрии имеют важную функцию в запуске ферментативного каскада самоуничтожения – апоптозе [26]. Исследования показывают, что апоптоз эндотелиальных клеток может играть особую роль в патофизиологии микро- и макроангиопатий при определенных условиях, таких как сахарный диабет или гиперлипидемии [27]. В отличие от некроза апоптоз представляет собой определенный каскад событий, на который можно влиять фармакологически, и поэтому определение точных молекулярных механизмов, приводящих к гибели эндотелиальных клеток, имеет важное значение в разработке в дальнейшем новых лекарственных препаратов.

Продукция АФК является ключевым механизмом, с помощью которого митохондрии вовлечены в развитие таких ССЗ, как ИБС, кардиомиопатии, повреждения при ишемии или реперфузии, сердечная недостаточность, аритмии. АФК индуцируют целый ряд нарушений: одно- и двунитевые разрывы, делеции, хромосомные транслокации, которые способствуют как геномной, так и митохондриальной нестабиль-

ности [28]. Таким образом, баланс митохондриальных окислителей является ключевым регулятором жизни и гибели клеток и обуславливает накопление мутаций мтДНК.

При атеросклерозе в эндотелиальных клетках является делеция 4977 bp мтДНК, которая приводит к митохондриальной дисфункции. При делеции 4977 bp происходит удаление генов *ND5*, *ND4*, *ND4L*, *ND3*, *COXIII*, а также генов 6 и 8 АТФазы и генов тРНК [29]. Это приводит к нарушению 7 полипептидных компонентов дыхательной цепи митохондрий и 5 из 22 тРНК, необходимых для белкового синтеза. У больных ИБС имеется более высокий лейкоцитарный микроядерный индекс (маркер генетической нестабильности), чем у здоровых людей, что коррелирует с тяжестью заболевания [30]. Показано, что у мышей с дефицитом супероксиддисмутазы — митохондриального фермента, являющегося антиоксидантом, отмечено наличие повреждений мтДНК и более раннее развитие атеросклероза. В макрофагах и гладкомышечных клетках в атеросклеротической бляшке обнаружен высокий уровень АФК [31].

#### Роль факторов риска атеросклероза в развитии дисфункции митохондрий

Существуют доказательства того, что факторы риска развития ИБС приводят к увеличению уровня производства АФК [32]. Недавние исследования были направлены на изучение роли митохондрий в атерогенезе. При митохондриальной дисфункции избыточное производство активных форм кислорода и азота способствует воспалительным сосудистым реакциям, ведущим к развитию атеросклеротического поражения [33]. Активные формы кислорода и азота играют важную роль в атерогенезе, они вовлечены в такие процессы, как дисфункция и апоптоз эндотелиальных клеток, активация матриксных металлопротеиназ, рост сосудистых гладкомышечных клеток и их миграция в интиму, экспрессия молекул адгезии и окисление липопротеинов низкой плотности [34, 35]. Все эти процессы способствуют прогрессированию атеросклеротического поражения. Митохондриальная дисфункция может быть наиболее важным объединяющим механизмом, объясняющим атерогенное действие основных факторов риска ССЗ.

Холестерин липопротеидов низкой плотности (ЛНП) и окисленные ЛНП могут вызвать повреждение митохондрий. Нагрузка макрофагов свободным холестерином [36] ассоциирована с митохондриальной дисфункцией. Предполагается, что происходят снижение трансмембранного потенциала митохондрий и активация митохондриального пути апоптоза. Циркулирующие окисленные ЛНП представляют собой независимый фактор риска развития атеросклероза. Окисленные ЛНП вызывают увеличение митохондриальной продукции АФК в клетках эндотелия (процесс, связанный с апоптозом [37]) через активацию митохондриального комплекса II и НАДН-оксидазы [38]. Окисленные ЛНП

вызывают апоптоз во всех клетках, участвующих в атеросклерозе: эндотелиальных и гладкомышечных, макрофагах, Т-лимфоцитах [39].

Как и другие факторы риска атеросклероза, АГ связана с эндотелиальной дисфункцией и окислительным стрессом [40]. Также при АГ отмечается нарушение работы митохондриальной АТФ-синтазы в кардиомиоцитах. Кроме того, в развитие АГ значительный вклад вносит митохондриальная перегрузка кальцием [41].

Курение сигарет может значительно увеличить риск раннего атеросклероза, влияя на функцию митохондрий. Помимо повреждения эндотелия, активации тромбоцитов и окисления холестерина ЛНП, атерогенные эффекты курения обусловлены также окислительным повреждением мтДНК с появлением делеций мтДНК и потерей митохондриального мембранного потенциала [42].

Мутации мтДНК могут способствовать развитию ИБС. По данным литературы, при ИБС описано 17 мутаций митохондриального генома, локализующихся в 6 генах тРНК, генах субъединицы 12S рРНК, генах II и V субъединиц НАДН-дегидрогеназы. Мутации митохондриальных генов, найденные при таких заболеваниях, как несемейные формы дилатационной и гипертрофической кардиомиопатии, синдром MELAS, митохондриальная миопатия, синдром MIDD, также встречаются и при ИБС [43].

Ниже приведены мутации мтДНК, ассоциированные с ИБС:

- G1541A, A1555G — нуклеотидные замены, расположенные в 12S рРНК, вызывающие снижение функции рибосомы;

- C1624T локализована в гене тРНК—*Val*. При ее наличии происходит замена цитозина на урацил в позиции 25 тРНК—*Val*, вследствие чего изменяется вторичная структура тРНК. Это приводит к снижению активности тРНК—*Val*. Данная мутация ассоциирована с гипертрофической кардиомиопатией [44, 45];

- A3243G, C3256T, A3260G — нуклеотидные замены, расположенные в гене тРНК—*Leu* (кодон узнавания UUR) и вызывающие дефект тРНК—*Leu*, приводящий к снижению ее активности;

- A4269G, A4300G, A4317G — нуклеотидные замены, расположенные в гене тРНК—*Ile* и вызывающие дефект тРНК—*Ile*, приводящий к снижению ее активности;

- A4833G — мутация, расположенная в гене субъединицы 2 НАДН-дегидрогеназы и вызывающая дефект белковой цепи 2 НАДН-дегидрогеназы, приводящий к снижению функции фермента;

- A8296G, G8363A — нуклеотидные замены, расположенные в гене тРНК—*Lys* и вызывающие дефект тРНК—*Lys*, приводящий к снижению ее активности [46];

- T9997C — мутация, расположенная в гене тРНК—*Gly*, при наличии которой наблюдается дефект тРНК—*Gly*, приводящий к снижению ее активности [47];

– G12192A – мутация гена тРНК–*His*, провоцирующая дефект тРНК–*His*, приводящий к снижению ее активности; вызывает дилатационную кардиомиопатию [48];

– T12297C, G12315A – нуклеотидные замены, расположенные в гене тРНК–*Leu* (кодон узнавания CUN) и вызывающие дефект тРНК–*Leu*, приводящий к снижению ее активности. G12315A разрушает высококонсервативные G–C основания в TψC–стебле молекулы тРНК;

– G13513A – мутация гена субъединицы 5 НАДН-дегидрогеназы, вызывающая дефект белковой цепи фермента, приводящий к снижению его функции [49].

В экспериментальном исследовании, выполненном в РКНПК, при изучении мутации митохондриального генома G14459A в образцах ДНК, выделенных из пораженных атеросклерозом и нормальных участков интимы аорты 10 молодых людей, погибших вследствие несчастного случая, обнаружено, что уровень гетероплазмии данной мутации значительно выше в пораженных участках [50]. Мутация G14459A вызывает дефект шестой белковой субъединицы фермента дыхательной цепи митохондрий, ведущий к дисфункции НАДН-дегидрогеназы. Ассоциация данной мутации с атеросклеротическим поражением, возможно, связана с тем, что уменьшение количества нормально функционирующих ферментов в митохондриях приводит к окислительному повреждению клеток интимы сосудов человека.

В клиническом исследовании, выполненном в РКНПК с участием 191 больного [1], показана ассоциация между степенью гетероплазмии по полиморфизму 3256T в лейкоцитах крови и атеросклеротическим поражением сонных артерий. Полиморфизм 3256T локализуется в гене *MT-TL1* (кодон узнавания UUR) митохондриального генома человека, кодирующем последовательность тРНК лейцина. Данная мутация на клеточном уровне проявляется снижением количества органелл и нарушением синтеза белка [51, 52]. Клинические и фенотипические проявления зависят от уровня гетероплазмии. Авторы работы сделали вывод, что гетероплазмия по полиморфизму 3256T мтДНК лейкоцитов крови является признаком митохондриальной дисфункции, маркером генетической предрасположенности к развитию атеросклероза.

Проводилось исследование [53], в котором сравнили частоту мутации T16189C в зоне контроля мтДНК у пациентов с ИБС ( $n = 482$ ) и сахарным диабетом 2-го типа ( $n = 505$ ) и у здоровых людей ( $n = 1481$ ) европейского происхождения в Австрии. Полиморфизм был определен в 9 основных европейских гаплогруппах путем секвенирования ДНК. По сравнению с контрольной группой распространенность T16189C была значительно выше у пациентов с ИБС (11,8 % против 21,6 %), а также у больных сахарным диабетом 2-го типа (11,8 % против 19,4 %). Ассоциация T16189C

с ИБС (но не с сахарным диабетом 2-го типа) остается статистически значимой после поправки на возраст, пол и индекс массы тела. Данное исследование впервые показало связь мутации митохондриального генома T16189C с ИБС у европейского населения.

#### Новые митохондриальные объекты терапии

Знание функций митохондрий в нормальных и патологических условиях имеет решающее значение не только для понимания причин ССЗ, но и для разработки терапевтических стратегий. Если митохондриальные нарушения прямо или косвенно способствуют развитию патологических состояний, то устранение митохондриальной дисфункции должно уменьшить тяжесть или замедлить прогрессирование заболевания [3]. Митохондрии могут быть потенциальными мишенями для терапевтического вмешательства при лечении ССЗ.

Открытие митохондриальных мембранных пор (MPTP – mitochondrial permeability transition pore) служит ведущим механизмом некроза и апоптоза клетки при ишемическом поражении. Препараты, воздействующие на эти молекулы, являются перспективными терапевтическими кардиопротективными агентами. Первый препарат, ингибирующий открытие MPTP, – циклоспорин А, который показал защитные свойства при ишемии–реперфузии в миоцитах интактного миокарда. Пилотное клиническое исследование продемонстрировало уменьшение зоны инфаркта на 20 % при введении препарата перед чрескожным коронарным вмешательством у пациентов с острым инфарктом миокарда [54], причем различия наблюдались и через 6 мес наблюдения [55]. Исследование CIRCUS, 3-я фаза (NCT01502774), в настоящее время еще не завершено. Цель исследования заключается в определении способности циклоспорина, введенного перед чрескожным коронарным вмешательством пациентам с острым инфарктом миокарда с подъемом сегмента *ST*, улучшить клинический исход. В исследовании включены 972 пациента. Дата завершения исследования – август 2013 г.

Одними из производных оксида азота, участвующих в митохондриальном метаболизме, являются нитролипиды. Эти молекулы синтезируются эндогенно в митохондриях при ишемическом прекодиционировании, а будучи добавленными экзогенно, оказывают защитное действие при ишемии–реперфузии [56]. Производные нитролипидов проходят клинические испытания. Также изучаются антиишемические свойства нитрита ( $\text{NO}^{2-}$ ) [57] (исследования NCT01401517, NCT00924118, NCT01098409). В исследовании NCT00924118, 2-я фаза, проводится изучение переносимости и безопасности 48-часовой инфузии нитрита натрия у пациентов с острым инфарктом миокарда с подъемом сегмента *ST*, подвергнутых чрескожному коронарному вмешательству. Нитрит натрия преобразуется в оксид азота в условиях ишемии и уменьшает повреждение при ишемии–реперфузии.

Также проводятся исследования роли калиевых ( $K^+$ ) каналов в кардиопротекции. Митохондриальные АТФ-зависимые  $K^+$ -каналы играют основную роль при ишемической кардиопротекции [58]. Наиболее активно изучаемое соединение, способствующее открытию этих каналов, — диазоксид. В двух небольших клинических исследованиях был показан кардиопротективный эффект предварительного введения диазоксида при кардиоплегии в ходе хирургического вмешательства [59]. В исследование были включены 40 пациентов, имеющих трехсосудистое поражение коронарного русла и клиническую картину стабильной стенокардии. Во время аортокоронарного шунтирования при кардиоплегии использовали раствор диазоксида. В группе пациентов с введением диазоксида требовалась меньшая инотропная поддержка, в послеоперационный период эти пациенты имели более высокий средний сердечный индекс, а также не отмечалось ишемического отека митохондрий по данным микроскопии (во время операции брали образцы для биопсии из верхушки левого желудочка) по сравнению с группой плацебо.

Несмотря на экспериментальные данные о важности окислительного стресса в прогрессировании атеросклероза, клинические исследования не продемонстрировали, что антиоксиданты оказывают какое-либо влияние на атерогенез [60]. Некоторые исследования показали, что антиоксиданты, такие как альфа-токоферол, убихинон и N-ацетилцистеин, уменьшают окислительное повреждение митохондрий в различных экспериментальных моделях [61, 62]. Однако эффективность этих соединений ограничена, так как они не накапливаются в митохондриях, а стратегии, позволяющие доставить антиоксиданты селективно в митохондрии, в настоящее время находятся в стадии развития [63]. Митохондриальная наружная мембрана является проницаемой для небольших молекул, внутренняя мембрана представляет главный барьер для доставки лекарств в митохон-

дри. Липофильные катионы могут накапливаться в митохондриях в концентрациях в 100–1000 раз выше, чем в цитозоле. Например, делокализованные липофильные катионы были использованы в качестве носителей для доставки различных биологически активных молекул в митохондрии, они накапливаются в матриксе митохондрий и используются для доставки антиоксидантов.

В исследовании, проведенном с участием 116 пациентов со стабильной ИБС, было показано, что низкий уровень привычной физической активности был связан с возникновением митохондриальной дисфункции, приводящей к апоптозу гладкомышечных клеток сосудов, макрофагов и способствующей прогрессированию атеросклеротического поражения сосудов. Регулярные физические упражнения уменьшают повреждение митохондрий, индуцированное АФК, чем объясняется их кардиопротективный эффект. Более высокий уровень привычной физической активности связан с улучшением функции эндотелия у пациентов с ИБС и приводит к снижению общей и сердечно-сосудистой смертности [64].

#### Заключение

Таким образом, в последнее время появляется все больше доказательств того, что мутации митохондриального генома ассоциированы с атеросклеротическим поражением сосудов. Дальнейшие исследования в этом направлении представляются необходимыми. Понимание точных механизмов, с помощью которых мутации митохондриального генома и, как следствие, митохондриальная дисфункция способствуют развитию атеросклероза, откроет новые мишени для разработки лекарственных препаратов. С другой стороны, мутации митохондриального генома могут быть использованы в качестве информативных маркеров генетической предрасположенности к атеросклерозу и, в частности, к ИБС в клинической практике.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Sobenin I.A., Sazonova M.A., Ivanova M.M. et al. Mutation C3256T of mitochondrial genome in white blood cells: novel genetic marker of atherosclerosis and coronary heart disease. *PLoS One* 2012;7(10):46573.
2. Anderson S., Bankier A.T., Barrell B.G. et al. Sequence and organization of the human mitochondrial genome. *Nature* 1981;290(5806):457–65.
3. Camara A.K., Lesnefsky E.J., Stowe D.F. Potential therapeutic benefits of strategies directed to mitochondria. *Antioxid Redox Signal* 2010;13(3):279–347.
4. Lenka N., Vijayarathu C., Mullick J., Avadhani N.G. Structural organization and transcription regulation of nuclear genes encoding the mammalian cytochrome c oxidase complex. *Prog Nucleic Acid Res Mol Biol* 1998;61:309–44.
5. Ballinger S.W., Petterson C., Yan C.N. et al. Hydrogen peroxide- and peroxynitrite-induced mitochondrial DNA damage and dysfunction in vascular endothelial and smooth muscle cells. *Circ Res* 2000;86(9):960–6.
6. Тодоров И.Н., Тодоров Г.И. Мультифакторная природа высокой частоты мутаций в мтДНК соматических клеток млекопитающих. *Биохимия* 2009;74(9):1184–94.
7. Wallace D.C., Ye J.H., Neckelmann S.N. et al. Sequence analysis of cDNAs for the human and bovine ETP synthase beta subunit: mitochondrial DNA genes sustain seventeen times more mutations. *Curr Genet* 1987;12(2):81–90.
8. Kmiec B., Woloszyńska M., Janska H. Heteroplasmy as a common state of mitochondrial genetic information in plants and animals. *Curr Genet* 2006;50(3):149–59.
9. Wonnapijit P., Chinnery P.F., Samuels D.C.

- The distribution of mitochondrial DNA heteroplasmy due to random genetic drift. *Am J Hum Genet* 2008;83(5):582–93.
10. Lightowers R.N., Chinnery P.F., Turnbull D.M., Howell N. Mammalian mitochondrial genetics: heredity, heteroplasmy and disease. *Trends Genet* 1997;13(11):450–5.
  11. van Blerkom J. Mitochondria as regulatory forces in oocytes, preimplantation embryos and stem cells. *Reprod Biomed Online* 2008;16(4):553–69.
  12. Cree L.M., Samuels D.C., de Sousa Lopes S.C. et al. A reduction of mitochondrial DNA molecules during embryogenesis explains the rapid segregation of genotypes. *Net. Genet* 2008;40(2):249–54.
  13. Lenaz G., Genova M.L. Structure and organization of mitochondrial respiratory complexes: a new understanding of an old subject. *Antioxid Redox Signal* 2010;12(8):961–1008.
  14. Waldmeier P.C. Prospects for antiapoptotic drug therapy of neurodegenerative diseases. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2003;27(2):303–21.
  15. Fernandez-Moreno M.A., Bornstein B., Petit N., Garesse R. The pathophysiology of mitochondrial biogenesis: towards four decades of mitochondrial DNA research. *Mol Genet Metab* 2000;71(3):481–95.
  16. Dimauro S. Mitochondrial medicine. *Biochim Biophys Acta* 2004;1659(2–3):107–14.
  17. Irani K. Oxidant signaling in vascular cell growth, death, and survival: a review of the roles of reactive oxygen species in smooth muscle and endothelial cell mitogenic and apoptotic signaling. *Circ Res* 2000;87(3):179–83.
  18. Dedkova E.N., Ji X., Lipsius S.L., Blatter L.A. Mitochondrial calcium uptake stimulates nitric oxide production in mitochondria of bovine vascular endothelial cells. *Am J Physiol* 2004;286(2):C406–15.
  19. Poteser M., Graziani A., Rosker C. et al. TRPC3 and TRPC4 associate to form a redox-sensitive cation channel. Evidence for expression of native TRPC3–TRPC4 heteromeric channels in endothelial cells. *J Biol Chem* 2006; 281(19):13588–95.
  20. Spitaler M.M., Graier W.F. Vascular targets of redox signaling in diabetes mellitus. *Diabetologia* 2002;45(4):476–94.
  21. Knight-Lozano C.A., Young C.G., Burow D.L. et al. Cigarette smoke exposure and hypercholesterolemia increase mitochondrial damage in cardiovascular tissues. *Circulation* 2002;105(7):849–54.
  22. Kelley D.E., He J., Menshikova E.V., Ritov V.B. Dysfunction of mitochondria in human skeletal muscle in type 2 diabetes. *Diabetes* 2002;51(10):2944–50.
  23. Madamanchi N.R., Runge M.S. Mitochondrial dysfunction in atherosclerosis. *Circ Res* 2007;100(4):460–73.
  24. Puddu P., Puddu G.M., Galletti L. et al. Mitochondrial dysfunction as an initiating event in atherogenesis: a plausible hypothesis. *Cardiology* 2005;103(3):137–41.
  25. Dai Y.L., Luk T.H., Siu C.W. et al. Mitochondrial dysfunction induced by statin contributes to endothelial dysfunction in patients with coronary artery disease. *Cardiovasc Toxicol* 2010;10(2):130–8.
  26. Vaux D.L. Apoptogenic factors released from mitochondria. *Biochim Biophys Acta* 2011;1813(4):546–50.
  27. Vindis C., Elbaz M., Escargueil-Blanc I. et al. Two distinct calcium-dependent mitochondrial pathways are involved in oxidized LDL-induced apoptosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005;25(3):639–45.
  28. Gorenne I., Kavurma M., Scott S., Bennett M. Vascular smooth muscle cell senescence in atherosclerosis. *Cardiovasc Res* 2006;72(1):9–17.
  29. Nakamura N., Hattori N., Tanaka M., Mizuno Y. Specific detection of deleted mitochondrial DNA by in situ hybridization using a chimera probe. *Biochim Biophys Acta* 1996;1308(3):215–21.
  30. Botto N., Rizza A., Colombo M.G. et al. Evidence for DNA damage in patients with coronary artery disease. *Mutat Res* 2001;493(1–2):23–30.
  31. Martinet W., Knaapen M.W., De Meyer G.R. et al. Elevated levels of oxidative DNA damage and DNA repair enzymes in human atherosclerotic plaques. *Circulation* 2002;20;106(8):927–32.
  32. Ballinger S.W., Patterson C., Knight-Lozano C.A. et al. Mitochondrial integrity and function in atherogenesis. *Circulation* 2002;106(5):544–9.
  33. Ballinger S.W. Mitochondrial dysfunction in cardiovascular disease. *Free Radic Biol Med* 2005;38(10):1278–95.
  34. Harrison D., Griendling K.K., Landmesser U. et al. Role of oxidative stress in atherosclerosis. *Am J Cardiol* 2003;91(3A):7A–11A.
  35. Fearon I.M., Faux S.P. Oxidative stress and cardiovascular disease: novel tools give (free) radical insight. *J Mol Cell Cardiol* 2009;47(3):372–81.
  36. Yao P.M., Tabas I. Free cholesterol loading of macrophages is associated with widespread mitochondrial dysfunction and activation of the mitochondrial apoptosis pathway. *J Biol Chem* 2001;276(45):42468–76.
  37. Raha S., Robinson B.H. Mitochondria, oxygen free radicals, and apoptosis. *Am J Med Genet* 2001;106(1):62–70.
  38. Fleming I., Mohamed A., Galle J. et al. Oxidized low-density lipoprotein increases superoxide production by endothelial nitric oxide synthase by inhibiting PKC $\alpha$ . *Cardiovasc Res* 2005;65(4):897–906.
  39. Geng Y.J., Libby P. Progression of atheroma: a struggle between death and procreation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002;22(9):1370–80.
  40. Ward N.C., Croft K.D. Hypertension and oxidative stress. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2006;33(9):872–6.
  41. Postnov Iu.V. The role of mitochondrial calcium overload and energy deficiency in pathogenesis of arterial hypertension. *Arkh Patol* 2001;63(3):3–10.
  42. Miró O., Alonso J.R., Jarreta D. et al. Smoking disturbs mitochondrial respiratory chain function and enhances lipid peroxidation on human circulating lymphocytes. *Carcinogenesis* 1999;20(7):1331–6.
  43. Andreassi M.G., Botto N., Colombo M.G. et al. Genetic instability and atherosclerosis: can somatic mutations account for the development of cardiovascular diseases? *Environ Mol Mutagen* 2000;35(4):265–9.
  44. Pohjoismäki J.L., Goffart S., Taylor R.W. et al. Developmental and pathological changes in the human cardiac muscle mitochondrial DNA organization, replication and copy number. *PLoS One* 2010;5(5):e10426.
  45. Rorbach J., Yüsoff A.A., Tuppen H. et al. Overexpression of human mitochondrial valyl tRNA synthetase can partially restore levels of cognate mt-tRNA<sup>Val</sup> carrying the pathogenic C25U mutation. *Nucleic Acids Res* 2008;36(9):3065–74.
  46. Bornstein B., Mas J.A., Patrono C. et al. Comparative analysis of the pathogenic mechanisms associated with the G8363A and A8296G mutations in the mitochondrial tRNA(Lys) gene. *Biochem J* 2005;387(Pt 3):773–8.
  47. Raha S., Merante F., Shoubridge E. et al. Repopulation of rho0 cells with mitochondria from a patient with a mitochondrial DNA point mutation in tRNA(Gly) results in respiratory chain dysfunction. *Hum Mutat* 1999;13(3):245–54.
  48. Mimaki M., Ikota A., Seto A. et al. A double mutation (G11778A and G12192A) in mitochondrial DNA associated with Leber's hereditary optic neuropathy and cardiomyopathy. *J Hum Genet* 2003;48(1):47–50.
  49. Chol M., Lebon S., Bénéit P. et al. The mitochondrial DNA G13513A MELAS mutation in the NADH dehydrogenase 5 gene is a frequent cause of Leigh-like syndrome with isolated complex I deficiency. *J Med Genet* 2003;40(3):188–91.
  50. Sazonova M., Budnikov E., Khasanova Z. et al. Studies of human aortic intima by a direct quantitative assay of mutant alleles in the mitochondrial genome. *Atherosclerosis* 2009;204(1):184–90.
  51. Moraes C.T., Ciacci F., Bonilla E. et al. Two novel pathogenic mitochondrial DNA mutations affecting organelle number and protein synthesis. Is the tRNA(Leu(UUR)) gene an etiologic hot spot? *J Clin Invest*

- 1993;92(2):2906–15.
52. Rossmanith W., Karwan R.M. Impairment of tRNA processing by point mutations in mitochondrial tRNA(Leu) (UUR) associated with mitochondrial diseases. *FEBS Lett* 1998;433(3):269–74.
53. Mueller E.E., Eder W., Ebner S. et al. The mitochondrial T16189C polymorphism is associated with coronary artery disease in Middle European populations. *PLoS One* 2011;6(1):e16455.
54. Piot C., Croisille P., Staat P. et al. Effect of cyclosporine on reperfusion injury in acute myocardial infarction. *N Engl J Med* 2008;359(5):473–81.
55. Mewton N., Croisille P., Gahide G. et al. Effect of cyclosporine on left ventricular remodeling after reperfused myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 2010;55(12):1200–5.
56. Rudolph V., Rudolph T.K., Schopfer F.J. et al. Endogenous generation and protective effects of nitro-fatty acids in a murine model of focal cardiac ischaemia and reperfusion. *Cardiovasc Res* 2010;85(1):155–66.
57. Shiva S., Sack M.N., Greer J.J. et al. Nitrite augments tolerance to ischemia/reperfusion injury via the modulation of mitochondrial electron transfer. *J Exp Med* 2007;204(9):2089–102.
58. Mureta M., Akao M., O'Rourke B., Marbon E. Mitochondrial ETP-sensitive potassium channels attenuate matrix Ca<sup>2+</sup> overload during simulated ischemia and reperfusion: possible mechanism of cardioprotection. *Circ Res* 2001;89(10):891–8.
59. Deja M.A., Malinowski M., Golba K.S. et al. Diazoxide protects myocardial mitochondria, metabolism, and function during cardiac surgery: a double-blind randomized feasibility study of diazoxide-supplemented cardioplegia. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2009;137(4):997–1004.
60. Yusuf S., Dagenais G., Pogue J. et al. Vitamin E supplementation and cardiovascular events in high-risk patients. The Heart Outcomes Prevention Evaluation Study Investigators. *N Engl J Med* 2000;342(3):154–60.
61. Victor V.M., Rocha M., De la Fuente M. N-acetylcysteine protects mice from lethal endotoxemia by regulating the redox state of immune cells. *Free Radic Res* 2003;37(9):919–29.
62. Victor V.M., Rocha M., Esplugues J.V., De la Fuente M. Role of free radicals in sepsis: antioxidant therapy. *Curr Pharm Des* 2005;11(24):3141–58.
63. Armstrong J.S. Mitochondrial medicine: pharmacological targeting of mitochondria in disease. *Br J Pharmacol* 2007;151(8):1154–65.
64. Luk T.H., Dai Y.L., Siu C.W. et al. Habitual physical activity is associated with endothelial function and endothelial progenitor cells in patients with stable coronary artery disease. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil* 2009;16(4):464–71.