

© Коллектив авторов, 2017
УДК 616-092; 575.133: 577.21

Митрофанов К.Ю.^{1,2}, Желанкин А.В.^{1,2}, Сазонова М.А.^{1,3}, Постнов А.Ю.³,
Собенин И.А.^{1,3}, Карагодин В.П.⁴, Орехов А.Н.^{1,2}

Гаплотипы мутаций *m.3256C>T*, *m.12315G>A*, *m.13513A>G* и *m.15059G>A* митохондриального генома, ассоциированные с фенотипическими проявлениями предрасположенности к атеросклеротическим поражениям

¹ — ФГБУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии РАН», 125315, г. Москва, Россия ул. Балтийская, д. 8

² — Научно-исследовательский институт атеросклероза, Инновационный центр Сколково, Московская область, Россия, Сколково, ул. Новая, д.100

³ — ФГБУ «Российский кардиологический научно-производственный комплекс» Минздрава России, г. Москва, Черепковская 3-я ул., д. 15-а

⁴ — Российский экономический университет им. Г.В. Плеханова, 115054, г. Москва, Россия, Стремянный переул., д. 36

Цель исследования. Выявление ассоциации между проявлениями атеросклероза (ТИМС, бляшки) и гаплотипами мутаций митохондриального генома. **Методика.** Обследовано 130 человек: больные ИБС, перенёвшие инфаркт миокарда, пациенты с УЗИ признаками атеросклероза, а также условно здоровые лица, без УЗИ признаков атеросклероза. Материалом исследования были образцы ДНК, выделенные из клеток крови участников исследования. Выделение ДНК проводилось фенол-хлороформным методом. Выделенная ДНК была использована для определения процента гетероплазмии по 9 митохондриальным мутациям, с использованием метода ПЦР в реальном времени. **Результаты.** Были идентифицированы гаплотипы мутаций митохондриального генома, ассоциированные с фенотипическими проявлениями предрасположенности к атеросклеротическим поражениям. Преобладающие антиатеросклеротические гаплотипы CGAG и CGGG встречались у 21,3% участников исследования. Преобладающие проатеросклеротические гаплотипы TAAA, TAGG и TAGA встречались у 44,8% участников исследования. Таким образом, было установлено, что существуют несколько наиболее распространенных гаплотипов мутаций митохондриального генома, охватывающих около 65% популяции; 2/3 этих гаплотипов связаны с повышенной предрасположенностью к атеросклерозу. **Заключение.** Полученные результаты свидетельствуют, что предположительная степень генетического риска митохондриального «гаплотипа» по мутациям *m.3256C>T*, *m.12315G>A*, *m.13513A>G* и *m.15059G>A* линейно связана с абсолютной толщиной интимо-медиального слоя сонных артерий и выраженностью атеросклеротических бляшек в обследованной группе участников экспериментально-клинического исследования.

Ключевые слова: мутация; гаплотип; митохондриальный; патология; гетероплазмия.

Для цитирования: Митрофанов К.Ю., Желанкин А.В., Сазонова М.А., Постнов А.Ю., Собенин И.А., Карагодин В.П., Орехов А.Н. Гаплотипы мутаций *m.3256C>T*, *m.12315G>A*, *m.13513A>G* и *m.15059G>A* митохондриального генома, ассоциированные с фенотипическими проявлениями предрасположенности к атеросклеротическим поражениям. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2017; 61(1): 37–42.

Для корреспонденции: Митрофанов Константин Юрьевич, мл. науч. сотр. лаб. ангиопатологии, e-mail: kyu-mitrofanov@gmail.com

Финансирование. Работа проводилась при поддержке Министерства образования и науки РФ, проект RFMEFI61314X0006.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 01.06.2016

Mitrofanov K.Yu.^{1,2}, Zhelankin A.V.^{1,2}, Sazonova M.A.^{1,3}, Postnov A.Yu.³,
Sobenin I.A.^{1,3}, Karagodin V.P.⁴, Orekhov A.N.^{1,2}

Haplotype of the mutations *m.3256C>T*, *m.12315G>A*, *m.13513A>G* and *m.15059G>A* mitochondrial genome associated with phenotypic expression of the predisposition to atherosclerotic lesions

¹ — Institute of General Pathology and Pathophysiology, Moscow 125315, Russia, st. Baltiyskaya, 8

² — Institute for Atherosclerosis Research, Skolkovo Innovative Centre, Moscow 143025, Russia, Moscow region, Skolkovo, st. Novaya, d.100

³ — Russian Cardiology Research and Production Complex, Moscow 121552, Russia, Cherepkovskaya 3rd st., 15-a

⁴ — Plekhanov Russian University of Economics, Moscow 115054, Russia, Stremyanniy pereulok, 36

Mitochondrial genome mutations haplotypes associated with phenotypic manifestations of predisposition to atherosclerotic lesions were identified. The data suggests the existence of several «haplotypes» mitochondrial mutations associated with an increased risk of atherosclerosis. To formulate names of mitochondrial genome «haplotypes» the principle of individual heteroplasmy indicators relative to the mid-point was used. The median value for heteroplasmy level of mutations m.3256C>T amounted to 17.5%, mutation m.12315G>A — 28%, mutation m.13513A>G — 19.5%, and mutation m.15059G>A — 39%. On the basis of the estimated degree of genetic risk (СРЕМ) most small and meaningful options for aggregate mutations m.3256C>T, m.12315G>A, m.13513A>G and m.15059G>A are «haplotype» CGAG (lowest susceptibility to atherosclerosis) and TAGA (the greatest susceptibility to atherosclerosis) respectively; other possible combinations are intermediate. Prevailing anti-atherosclerotic haplotype CGAG and CGGG met at 21.3% of survey participants. The prevailing proatherosclerotic haplotype TAAA, TAGG and TAGA met at 44.8% of survey participants. 2/3 of these haplotypes are associated with increased risk of atherosclerosis. Approximate extent of the genetic risk of mitochondrial «haplotype» on mutations, m.3256C>T, m.12315G>A, m.13513A>G and m.15059G>A and linearly related to absolute thickness intimo-medial layer of the carotid arteries and the manifestation of atherosclerotic plaques in the surveyed group of persons-participants of experimental clinical studies. **The purpose.** Find an association between atherosclerosis manifestations (TIMS, plaques) and gapoltipami mutations of the mitochondrial genome. **Methods.** The object of the research were 130 people: patients with coronary artery disease who underwent myocardial infarction, patients with ultrasound evidence of atherosclerosis, and relatively healthy, with no ultrasound evidence of atherosclerosis. The material of the studies were DNA samples isolated from blood cells collected from study participants. DNA extraction was performed with phenol-chloroform method. The isolated DNA was used to determine the percentage of mitochondrial heteroplasmy 9 mutations using PCR in real time. **Results.** Haplotypes of mutations of the mitochondrial genome have been identified associated with the phenotypic manifestations of susceptibility to atherosclerotic lesions. The prevailing anti-atherosclerotic and haplotypes CGAG CGGG occurred in 21.3% of study participants. Prevailing atherosclerotic haplotypes TAAA, TAGG and TAGA occurred in 44.8% of study participants. Thus, it was found that there are a few common haplotypes of mutations of the mitochondrial genome, covering about 65% of the population; 2/3 of these haplotypes is associated with increased susceptibility to atherosclerosis. **Conclusion.** The results indicate that the presumed degree of genetic risk of mitochondrial «haplotype» for mutations m.3256C>T, m.12315G>A, m.13513A>G and m.15059G>A is linearly related to the absolute thickness of intima-media layers of the carotid arteries and the severity of atherosclerotic plaques in the studied group of persons — participants of experimental and clinical studies.

Keywords: mutation; haplotype; mitochondrial; pathology; heteroplasmy.

For citation: Mitrofanov K.Yu., Zhelankin A.V., Sazonova M.A., Postnov A.Yu., Sobenin I.A., Karagodin V.P., Orekhov A.N. Haplotype of the mutations m.3256C>T, m.12315G>A, m.13513A>G and m.15059G>A mitochondrial genome associated with phenotypic expression of the predisposition to atherosclerotic lesions. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental' naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal). 2017; 61 (1): 37–42. (in Russ.).*

For correspondence: Mitrofanov K.Yu., Junior Researcher, Leading Researcher work Institute of General Pathology and Pathophysiology, Moscow 125315, Russia, st. Baltiyskaya, 8, e-mail: kymitrofanov@gmail.com

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

Funding. The work was supported by the Ministry of Education and Science of the Russian Federation, the project RFMEFI61314X0006.

Received 01.06.2016

Введение

В России, как и в большинстве индустриальных стран, сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) занимают первое место в структуре инвалидизации и смертности. Несмотря на существенные достижения в области медицины и биологии, заболеваемость и смертность от атеросклеротических заболеваний остаются на высоком уровне, в то время как арсенал эффективных терапевтических средств и адекватных целей антиатеросклеротической терапии весьма ограничен [1]. Современные алгоритмы оценки сердечно-сосудистого риска, учитывающие совокупное взаимодействие нескольких факторов риска, в состоянии объяснить около 70% варибельности возникновения острого инфаркта миокарда [2, 3].

В качестве важного и перспективного компонента эффективной системы оценки предрасположенности к атеросклеротическим заболеваниям следует рассматривать анализ гаплотипов генов предрасположенности к ССЗ. Так, при различных патологиях человека выявлена ассоциация различных заболеваний (например, стеноза коронарных сосудов, сахарного диабета, глухоты, инфаркта миокарда, кардиомиопатий) с мутациями митохондриального генома, локализованными в кодирующих участках генов и, возможно, возникающими в процессе онтогенеза [4, 5]. При этом практически неразработанным направлением исследований является изучение связи митохондриальных мутаций с возникновением и развитием атеросклеротических поражений в артериях человека, в част-

ности с ишемической болезнью сердца (ИБС) [6—10]. Данные мутации могут вызывать дефекты в белковых цепях некоторых дыхательных ферментов и транспортных РНК (тРНК), синтезирующихся непосредственно в митохондриях [8—10, 11—15]. Это приводит, в частности, к уменьшению концентрации данных ферментов и тРНК или полной их дисфункции в митохондриях, что, в свою очередь, ведет к дисфункции митохондрий в организме человека, с большой вероятностью способствующей возникновению и развитию атеросклероза [3, 14—18].

Методика

Материалом исследования были образцы ДНК, выделенные из клеток крови, взятой у 130 участников исследования. Объектом исследования были больные ИБС, перенесшие инфаркт миокарда, пациенты с УЗИ признаками атеросклероза. Больные проходили обследование в кардиологическом центре им. Мясникова и в поликлинике МГУ. В качестве контрольной группы были взяты 42 условно здоровых донора, не имеющих УЗИ признаков атеросклероза.

Выделение ДНК

Кровь после забора хранили при -20°C . Выделение ДНК проводилось фенол-хлороформным методом. Концентрацию ДНК в полученной пробе определяли на спектрофотометре NanoPhotometer Pearl UV/Vis с SDRAM P-34 («IMPLEN», Германия). Для работы с коллекцией пробы ДНК разводили в ТЕ-буфере до концентрации 0.03 мкг/мкл, помещали разведённые образцы в отдельные пробирки. После измерения концентрации пробы ДНК хранили при -20°C .

Полимеразная цепная реакция реального времени

Выделенная ДНК была использована для определения процента гетероплазии по 9 митохондриальным мутациям, с использованием метода ПЦР в реальном времени. Уровень гетероплазии мутаций митохондриального генома человека всех 9 проанализи-

рованных мутаций был измерен с помощью метода выплечения 5'-концевой метки (TaqMan Assay).

Для каждой из 9 мутаций были разработаны зонды TaqMan, характеристики которых приведены в табл. 1.

Дизайн праймеров и зондов (табл. 1) был проведён для девяти мутаций митохондриального генома с использованием следующих программ [19—22]:

- primer 3;
- oligo calc;
- клиент-сервер DINAMELT;
- база данных Mitomap.

Для определения последовательностей праймеров была использована Кембриджская последовательность мтДНК человека, версия J01415.2, идентификационный номер GenBank NC_012920 gi:251831106.

Проверку специфичности праймеров и зондов проводили на приборе Real Time PCR System 7500 Fast («Applied Biosystems», США). Также для каждого из видоспецифичных зондов подобраны флуоресцентные красители, спектры флуоресценции которых не перекрывались. Регистрацию сигнала ПЦР в реальном времени проводили по каналам, соответствующим флуорофорам FAM и ROX, детектирующим продукт амплификации нормального и мутантного аллеля (соответственно).

ПЦР-анализ с выплечением 5'-концевой метки (TaqMan система) проводили на приборе Real Time PCR System 7500 Fast («Applied Biosystems», США). 10 мкл реакционной смеси содержало 1x TaqMan Buffer, 3 mM MgCl₂, 250 мкМ каждого dNTP, 300 нМ праймеры, 300 нМ гибридационных зондов, 0,5 ед. Taq-полимеразы («Хеликон», Москва), 4 мкл анализируемой ДНК.

ПЦР, с измерением интенсивности флуоресценции, проводили по следующему алгоритму:

1. Цикл общей денатурации в течение 2 мин при температуре 94°C ;

2. Этап амплификации с флуоресцентной детекцией. Он включал в себя денатурацию в течение 10 с при температуре 94°C и отжиг, при температуре, специфичной для каждой исследуемой мутации ($61\text{—}67^{\circ}\text{C}$), в течение 15 с.

Таблица 1

Зонды и праймеры для ПЦР-РВ TAQMAN

Мутация	Праймеры	Зонды
m.3256C>T	F ataccsacacccaccscaag R aagaagaggaattgaacctctgact	5'-ROX- gcagagcccggtaatcgtataaaaactta -BHQ-2 -3' 5'-FAM- agagcccggtaatcgcataaaaacttaaa -BHQ-1 -3'
m.12315G>A	F cagctatccattggtcttaggc R ggaagtcagggttaggggtgt	5'-ROX- ccaaaaattttagtcaactccaataaaag -BHQ-2 -3' 5'-FAM- ccaaaaattttgtgcaactccaataaa -BHQ-2 -3'
m.13513A>G	F gcagcctagcattagcagga R ataggcctcaggcgtttgt	5'-ROX- caggtttctactccaaaaccacatcatc -BHQ-2 -3' 5'-FAM- caggtttctactccaaaaccacatcatc -BHQ-2 -3'
m.15059G>A	F caatggcgcctcaatattct R caggaggataatgccgatgt	5'-ROX- gggcaggcctatattacagatcatttct -BHQ-2 -3' 5'-FAM- gcgaggcctatattacgatcatttct -BHQ-2 -3'

Статистический анализ

Данные были обработаны с использованием пакета программ SPSS 20.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA), SigmaPlot 12 (SSI, San Jose, California, USA) и программы Statistica 8.0 (StatSoft Inc., Tulsa, USA). Вариабельность процента гетероплазмии оценивалась с помощью описательной статистики и критерия Т. Для оценки однородности дисперсий была использована статистика Ливиня. Мутационная нагрузка рассчитана с помощью логит-регрессионного и пробит-регрессионного анализов, а также теста по Манну—Уитни.

Результаты и обсуждение

Были идентифицированы гаплотипы мутаций митохондриального генома, ассоциированные с фенотипическими проявлениями предрасположенности к атеросклеротическим поражениям. Преобладающие антиатеросклеротические гаплотипы CGAG и CGGG встречались у 21,3% участников исследования. Преобладающие проатеросклеротические гаплотипы TAAA, TAGG и TAGA встречались у 44,8% участников исследования. Таким образом, было установлено, что существуют несколько наиболее распространенных гаплотипов мутаций митохондриального генома, охватывающих около 65% популяции; 2/3 этих гаплотипов связаны с повышенной предрасположенностью к атеросклерозу. Традиционная характеристика гаплотипа, основанная на простом определении нали-

чия мутантного аллеля, используемая при характеристике ядерного генома, неадекватна потому, что в одном образце мтДНК присутствуют в различных соотношениях молекулы, несущие нормальный («дикий тип») и мутантный аллель. Для формулирования названий гаплотипов митохондриального генома был использован принцип распределения индивидуальных показателей гетероплазмии относительно медианы.

Данные, приведенные в табл. 2, позволяют предположить существование ряда «гаплотипов» митохондриальных мутаций, ассоциированных с повышенным риском атеросклероза. По критерию предположительной степени генетического риска (ПСГР) самым незначительным и значимым вариантами для совокупности мутаций m.3256C>T, m.12315G>A, m.13513A>G и m.15059G>A являются «гаплотипы» CGAG (наименьшая предрасположенность к атеросклерозу) и TAGA (наибольшая предрасположенность к атеросклерозу) соответственно; остальные возможные сочетания занимают промежуточное положение. Мутации митохондриального генома характеризуются явлением гетероплазмии, когда в одном образце ДНК присутствуют в различных соотношениях молекулы, несущие нормальный («дикий тип») и мутантный аллель. Поэтому традиционная характеристика «гаплотипа», основанная на простом определении наличия мутантного аллеля, которая используется при характеристике ядерного генома, неадекватна. Для формулирования названий «гаплотипов» митохондриального генома был использован принцип

Таблица 2

Теоретические варианты «гаплотипов» митохондриального генома по мутациям m.3256C>T, m.12315G>A, m.13513A>G и m.15059G>A

Гаплотип	Число антиатеросклеротических аллелей	Число проатеросклеротических аллелей	Предположительная степень генетического риска "гаплотипа"	Частота в исследованной выборке, %
CGAG	4	0	0	10,4
CAAG	3	1	1	0,5
CGAA	3	1	1	4,2
CGGG	3	1	1	10,9
TGAG	3	1	1	1,6
CAAA	2	2	2	2,1
CAGG	2	2	2	4,2
CGGA	2	2	2	4,7
TAAG	2	2	2	2,6
TGAA	2	2	2	3,6
TGGG	2	2	2	5,7
CAGA	1	3	3	4,7
TAAA	1	3	3	33,3
TAGG	1	3	3	7,3
TAGA	0	4	4	4,2

«Гаплотипы» мутаций митохондриального генома и предрасположенность к атеросклерозу

Показатель	Предположительная степень генетического риска "гаплотипа"					P (Манн—Уитни)
	0 (n = 20)	1 (n = 33)	2 (n = 44)	3 (n = 87)	4 (n = 8)	
ТИМС ОСА, мкм	782 (118)	814 (121)	854 (173)	922 (175)	823 (150)	<0,001
Бляшки, баллы	0,65 (0,81)	0,67 (0,82)	0,61 (0,81)	1,11 (0,88)	0,25 (0,46)	<0,001

распределения индивидуальных показателей гетероплазмы относительно медианы. Значение медианы для уровня гетероплазмы по мутации m.3256C>T составило 17,5%, по мутации m.12315G>A — 28%, по мутации m.13513G>A — 19,5%, и по мутации m.15059G>A — 39%.

Наиболее вероятные варианты «гаплотипов» (наиболее часто встречающиеся в исследованной выборке) и их характеристики, определенные на соотношении антиатеросклеротических и проатеросклеротических аллелей, приведены в таблице (табл. 2).

Предположительная степень генетического риска «гаплотипа» приведена в баллах (0 — наименьшая ПСГР, имеются только антиатеросклеротические аллели, соотношение 4:0; 1 — низкая ПСГР, преобладают антиатеросклеротические аллели, соотношение 3:1; 2 — умеренная ПСГР, равное соотношение антиатеросклеротических аллелей, соотношение 2:2; 3 — повышенная ПСГР, преобладают проатеросклеротические аллели, соотношение 1:3; 4 — высокая ПСГР, имеются только проатеросклеротические аллели, соотношение 0:4).

Анализ частот наиболее распространенных «гаплотипов» мутаций митохондриального генома (доля в выборке более 5%) представлен в табл. 2.

Наиболее распространенные антиатеросклеротические «гаплотипы» CGAG и CGGG встречались у 21,3% участников исследования (табл. 2). В целом, 27,6% участников исследования можно охарактеризовать как лиц, имеющих низкую генетическую предрасположенность к атеросклерозу. Наиболее распространенные проатеросклеротические «гаплотипы» TAAA, TAGG и TAGA встречались у 44,8% участников исследования. В целом, 49,5% участников исследования можно охарактеризовать как лиц, имеющих высокую генетическую предрасположенность к атеросклерозу. Частота выявления для остальных «гаплотипов» составляла менее 6%. Таким образом, существуют несколько весьма распространенных «гаплотипов» мутаций митохондриального генома, охватывающих около 65% выборки населения различных регионов мира; 2/3 этих «гаплотипов» связаны с повышенной предрасположенностью к атеросклерозу. Эти данные вполне сочетаются с эпидемиологическими показателями распространенности атеросклероза и сердечно-сосудистых заболеваний.

Анализ ассоциации совокупности мутаций («гаплотипов») с предрасположенностью к атеросклерозу представлен в табл. 3.

Из данных, представленных в табл. 3, следует, что предположительная степень генетического риска митохондриального «гаплотипа» по мутациям m.3256C>T, m.12315G>A, m.13513A>G и m.15059G>A линейно связана с абсолютной толщиной интимо-медиального слоя сонных артерий и выраженностью атеросклеротических бляшек в обследованной группе лиц — участников экспериментально-клинического исследования.

References

1. Temchenko A.V., Nikiforov N.G., Orekhova V.A., Melnichenko A.A., Karagodin V.H., Sobenin I.A., Orekhov A.N. Achievements in therapy of atherosclerosis. *Pathogenesis* 2013; 11(2): 11-8.
2. Bruckmeier B.V. *Pocket guide to prevention of coronary heart disease. International Task Force for Prevention of Coronary Heart Disease*. 2003, pp. 128.
3. Sobenin I.A., Sazonova M.A., Ivanova M.M., Zhelankin A.V., Myasoedova V.A., Postnov A.Y., Nurbaev S.D., Bobryshev Y.V., Orekhov A.N. Mutation C3256T of mitochondrial genome in white blood cells: novel genetic marker of atherosclerosis and coronary heart disease. *PLoS One*. 2012; 7(10):1-7.
4. Chinnery P.F., Thorburn D.R., Samuels D.C. et al. The inheritance of mtDNA heteroplasmy: random drift, selection or both? *Trends. Genet.* 2000; 16: 500-5.
5. Kaufmann P., Koga Y., Shanske S. et al. Mitochondrial DNA and RNA processing in MELAS. *Ann. Neurol.* 1996; 40: 172-80.
6. Mitrofanov K.Y., Sazonova M.A. Association mitochondrial mutations of the human genome with the clinical manifestations of coronary heart disease. *Problemi i perspektivy sovremennoy nauki*. 2011; 3(1): 92-6. (in Russian)
7. Singh V.N. *Coronary Heart Disease*. Medicine health, 2002.
8. Sazonova M.A., Nurbaev S.D., Chicheva M.M., Mitrofanov K.Y., Orekhov A.N., Postnov A.Y., Sobenin I.A. Detection of mitochondrial gene mutations of cytochromes B and C in human aortic intima lipofibrous plaques (message 1). *Patol Fiziol Eksp Ter.* 2012; (4):62-5. (in Russian)
9. Sazonova M.A., Sinyov V.V., Chicheva M.M., Mitrofanov K.Y., Zhelankin A.V. Association of RNA genes of mitochondrial heteroplasmy mutations c homogenates of diseased atherosclerotic aortic intima (message 2). *Patol Fiziol Eksp Ter.* 2012; (4):67-70. (in Russian)
10. Sazonova M.A., Sinyov V.V., Chicheva M.M., Zhelankin A.V., Mitrofanov K.Y., Orekhov A.N., Sobenin I.A. Analysis of heteroplasmy some subunit genes NADH dehyd-

rogenase in homogenates of atherosclerotic lesions of the intima of the aorta (message 3). *Patol Fiziol Eksp Ter.* 2012; (4):71-3. (in Russian)

11. Ingman M., Kaessmann H., Paabo S., Gyllensten U. Mitochondrial genome variation and the origin of modern humans. *Nature.* 2000; 408: 708-13.

12. Lightowlers R.N., Chinnery P.F., Turnbull D.M., Howell N. Mammalian mitochondrial genetics: heredity, heteroplasmy and disease. *Trends. Genet.* 1997; 13: 450-5.

13. Robinson B.H. Human Complex I deficiency: clinical spectrum and involvement of oxygen free radicals in the pathogenicity of the defect *Biochem. Biophys. Acta.* 1998; 1364: 271-86.

14. Sukhorukov V.S. *Disorders of cellular energy [narushe-niya kletочноy energetiki]*. Moscow: Moskovskij nii pediatrii i detskoj hirurgii minzdrava RF; 2002. (in Russian)

15. Sukernik R.I., Derbeneva O.A. Starikovskaya E.B., Mitochondrial genome and human mitochondrial diseases. *Genetika*, 2002; 38(2): 1-10. (in Russian)

16. Ivanova M.M., Borodachev E.N. Sazonova M.A. Human diseases associated with mutations in the mitochondrial genome. *Patol Fiziol Eksp Ter.* 2012; (3):115-22. (in Russian)

17. Mitrofanov K.Y., Sazonova M.A. Association of point mutations of mitochondrial and nuclear genomes of human coronary heart disease. *Patol Fiziol Eksp Ter.* 2012; (2):51-5. (in Russian)

18. Sobenin I.A., Sazonova M.A., Myasoedova V.A., Kirichenko T.V., Ivanova M.M., Postnov A.Y., Orekhov A.N. The polymorphism of 3256S/T mitochondrial DNA as a marker of coronary heart disease and atherosclerosis. *Problemi i perspektivy sovremennoy nauki.* 2011; 3(1):108-10. (in Russian)

19. Primer 3 version 4.0 www.frodo.wi.mit.edu/primer3/.

20. Oligocalculator www.basic.northwestern.edu/biotools/oligocalc.html.

21. DinaMelt web server www.mfold.rna.albany.edu/?q=DINAMelt.

22. Mitomap server www.mitomap.org/MITOMAP.

Сведения об авторах:

Желанкин Андрей Викторович, канд. биол. наук, науч. сотр.

Сазонова Маргарита Александровна, канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаборатории ангиопатологии

Постнов Антон Ювенальевич, доктор мед. наук, зав. лаб. сердечно-сосудистой хирургии

Собенин Игорь Александрович, доктор мед. наук, вед. науч. сотр.

Карагодин Василий Петрович, канд. биол. наук

Орехов Александр Николаевич, доктор биол. наук, проф. биохимии