

© Коллектив авторов, 2018
УДК 616-092

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

Ассоциация гетероплазмии мутаций митохондриального генома с ишемической болезнью сердца

¹ МГУ им. М.В.Ломоносова, 119991, г. Москва, Ленинские горы, д. 1

² ФГБУ «Национальный Российский исследовательский центр кардиологии» Минздрава России, 121552, г. Москва, ул. 3-я Черепковская, д. 15-а

³ ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии», 125315, г.Москва, ул. Балтийская, д.8

⁴ Российский экономический университет им. Г.В.Плеханова, 117997, Россия, Москва, Стремянный переулок, 36

Цель исследования. Усовершенствование алгоритма оценки генетической предрасположенности к развитию ишемической болезни сердца (ИБС), инфаркта миокарда (ИМ). **Методика.** Для оценки диагностической значимости степени гетероплазмии митохондриального было выполнено определение этого показателя у 100 здоровых лиц и 325 больных ИБС, в том числе у 225 больных ИБС с перенесенным инфарктом миокарда. Методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ПЦР-РВ) было проанализировано девять мутаций митохондриального генома, которые имеют корреляцию со степенью выраженности каротидного атеросклероза. **Результаты.** В настоящей работе проведена сравнительная оценка результатов генотипирования образцов ДНК участников исследования без клинических проявлений атеросклероза (условно здоровых лиц) и больных ИБС. В итоге была разработана математическая модель определения генетического риска ишемической болезни сердца, включающая анализ степени гетероплазмии четырех наиболее информативных генетических маркеров (m.15059G>A, m.3256C>T, m.12315G>A и m.13513G>A) и оценку полученных результатов с помощью ряда статистических методов. Данная модель объясняла не менее 60% вариабельности клинических проявлений атеросклероза (таких, как ИБС и ИМ) и не зависела от других факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний. **Заключение.** На основе анализа суммарной мутационной нагрузки митохондриального генома была разработана математическая модель определения генетической предрасположенности к ишемической болезни сердца и инфаркту миокарда.

Ключевые слова: атеросклероз; ишемическая болезнь сердца; митохондриальные мутации; гетероплазмия; инфаркт миокарда; генетическая предрасположенность.

Для цитирования: Орехова Н.А., Собенин И.А., Митрофанов К.Ю., Сазонова М.А., Постнов А.Ю., Карагодин В.П., Орехов А.Н. Ассоциация гетероплазмии мутаций митохондриального генома с ишемической болезнью сердца. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2018; 62(1): 4–10.

DOI: 10.25557/0031-2991.2018.01.4-10

Для корреспонденции: Орехова Нина Александровна, e-mail: orekhovanina@yandex.ru

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование проводилось при поддержке Российского научного фонда, грант 14-14-01038.

Поступила 18.05.2017

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

Association of heteroplasmic mutations in the mitochondrial genome with coronary heart disease

¹ M.V. Lomonosov Moscow State University, 1 Leninskie Gory, Moscow119991, Russia

² National Medical Research Centre of Cardiology, 15-a 3rd Cherepkovskaya Str., Moscow 121552, Russia

³ Institute of General Pathology and Pathophysiology, 8 Baltiyskaya Str., 125315 Moscow, Russia

⁴ G.B. Plekhanov Russian University of Economics, Stremyany Pereulok 36, Moscow117997, Russia

Aim. To improve the algorithm for assessing the genetic predisposition to development of cardiovascular diseases. **Methods.** To evaluate the diagnostic value of the degree of mitochondrial heteroplasmy, this index was determined for 100 healthy individuals and 325 patients with coronary heart disease (CHD), including 225 CHD patients after myocardial infarction. The method of real-time polymerase chain reaction (RT-PCR) was used to analyze 9 mutations in the mitochondrial genome, which correlated with the extent of carotid atherosclerosis. **Results.** A mathematical model was developed to

determine the genetic risk of CHD based on calculation of the total mutational load in the mitochondrial genome by mtDNA variants m.12315G>A in MT-TL2 gene, m.15059G>A in MT-CYB gene, m.3256C>T in MT-TL1 gene, and m.13513G>A in MT-ND5 gene. This model explained at least 60% of the variability in clinical manifestations of atherosclerosis and did not depend on other cardiovascular risk factors. **Conclusion.** Based on the analysis of total mutational load in the mitochondrial genome, a method was developed to assess the genetic risk for development of CHD and myocardial infarction.

Keywords: coronary heart disease, mitochondrial mutations, heteroplasmy, infarction.

For citation: Orekhova N.A., Sobenin I.A., Mitrofanov K.Yu., Sazonova M.A., Postnov A.Yu., Karagodin V.P., Orekhov A.N. Association of heteroplasmic of mutations of mitochondrial genome with coronary heart disease. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya Terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2018; 62(1): 4–10. (in Russian). DOI: 10.25557/0031-2991.2018.01.4-10

For correspondence: Nina Orekhova, e-mail: orekhovanina@yandex.ru

Information about authors:

Orekhov A.N., <http://orcid.org/0000-0002-6495-1628>

Sazonova M.A., <http://orcid.org/0000-0002-8610-4593>

Karagodin V.P., <http://orcid.org/0000-0003-0501-8499>

Funding: The study was supported by the Russian Science Foundation, grant 14-14-01038.

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

Received 18.05.2017

Введение

Сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) в большинстве стран, в том числе и в России, занимают первое место в структуре смертности и заболеваемости [1]. Несмотря на значительные достижения биологии и медицины в области изучения ССЗ, успехи терапии остаются недостаточными. Основные факторы риска развития сердечно-сосудистых заболеваний и современные способы оценки и прогнозирования риска объясняют около 70% случаев развития атеросклероза и связанных с ним заболеваний, таких, как, например, ишемическая болезнь сердца (ИБС) и инфаркт миокарда [2].

Генетическую оценку гаплотипов в настоящее время можно считать наиболее эффективным и перспективным способом оценки предрасположенности к сердечно-сосудистым заболеваниям [3, 4]. В онтогенезе возможно появление мутаций в кодирующих областях митохондриальной ДНК (мтДНК), которые впоследствии могут привести к развитию различных патологических процессов у человека, таких, как стеноз коронарных артерий, глухота, кардиомиопатия, диабет или инфаркт миокарда [5, 6]. Однако все еще остается малоизученным механизм митохондриальных мутаций и их корреляция с возникновением и развитием сердечно-сосудистых заболеваний, особенно при ИБС [4, 7–10]. Следствием данных мутаций в митохондриях могут быть дефекты в структуре ферментов дыхательной цепи и транспортных РНК (тРНК), снижение концентрации ферментов, митохондриальная дисфункция [5, 9, 10]. Вполне возможно, что данные процессы способствуют возникновению и развитию атеросклероза.

Такое клиническое проявление атеросклероза, как ИБС, является полигенным многофакторным заболеванием [2, 11]. Согласно эпидемиологическим исследованиям, возраст, генетическая предрасположенность, артериальная гипертония, сахарный диабет, гиперхолестеринемия, курение и мужской пол являются основными факторами риска ИБС [2]. Атеросклероз коронарных артерий, который сопровождается сужением просвета сосуда (атеросклеротическими бляшками), является причиной ИБС приблизительно в 97–98% случаев [11, 12]. Ишемическая болезнь сердца может привести к инфаркту миокарда и при умеренном стенозировании коронарных сосудов и отсутствии видимых симптомов заболевания [2, 12–15].

Атеросклероз без видимых клинических проявлений (субклинический атеросклероз) является весьма распространенной патологией. Клинические симптомы могут проявляться после многих лет неуклонно прогрессирующего атеросклеротического поражения артерий. В настоящее время число случаев субклинического атеросклероза у лиц зрелого и пожилого возраста, не имеющих клинических проявлений атеросклеротических заболеваний, близко к 100% [16–18].

На основании современных алгоритмов оценки риска развития ИБС можно выделить 3 группы риска: высокий риск (приблизительно 8% населения), средний риск (около 15% населения) и низкий/умеренный риск (примерно 77% населения). В этих группах риск инфаркта миокарда и внезапной смерти составляет 32%, 14,8% и 2,7% соответственно [19]. В результате в группе высокого риска происходит около 37% всех случаев инфаркта миокарда и внезапной

сердечной смерти в популяции, в группе среднего риска — приблизительно 33% случаев, а в группе с низким и умеренным риском — около 30% случаев [1]. Таким образом, почти треть случаев инфарктов миокарда в популяции практически невозможно предсказать, поскольку у лиц с низким и умеренным риском отсутствует воздействие традиционных факторов риска ИБС. Следовательно, требуются усовершенствованные алгоритмы оценки степени риска, и генетическая диагностика предрасположенности к развитию атеросклероза и ССЗ может стать существенным компонентом таких алгоритмов.

Одним из перспективных генетических маркеров риска развития ССЗ могут быть мутации митохондриального генома. При гетероплазмии в митохондриях могут одновременно присутствовать неизмененные и мутантные копии ДНК. Количество мутантных копий мтДНК в клетке может варьировать от 0% до 100%, хотя степень гетероплазмии зависит от типа ткани в организме человека [20]. Распределение клонов мутантной мтДНК в тканях в процессе онтогенеза является случайным. Возможно, что нормальные митохондрии подвергаются постоянному окислительному стрессу, и доля митохондрий, содержащих мутантные копии мтДНК, возрастает в тканях при старении [18].

На данный момент известно несколько мутаций митохондриального генома, ассоциированных с атеросклеротическими поражениями аорты и сонных артерий. Данные мутации локализованы в генах 2 и 5 субъединиц NADH-дегидрогеназы, в 6 генах тРНК, в генах 12S субъединицы рибосомальной РНК. Согласно источникам литературы, данные мутации связаны с митохондриальными цитопатиями, клинически проявляющимися как синдром MERRF, несемейные формы дилатационной (ДКМП) и гипертрофической кардиомиопатии (ГКМП), сахарный диабет 2 типа, инсульт, энцефалопатия, синдром MIDD, кардиоэнцефаломиопатия [21, 22].

Цель исследования — проверка гипотезы, что мутации мтДНК, ассоциированные с формированием атеросклеротических бляшек, могут иметь диагностическую значимость в отношении клинических проявлений атеросклероза — ИБС и инфаркта миокарда.

Методика

В исследовании участвовали 325 больных ИБС, в том числе 225 больных ИБС с перенесённым инфарктом миокарда. Контрольная группа состояла из 100 условно здоровых лиц без клинических проявлений атеросклероза. Все пациенты давали информированное согласие на участие в исследовании. В качестве материала для исследования использовали образцы

ДНК, выделенные из клеток крови. Подбор пациентов проводили в поликлинике № 202 г. Москвы и Российском кардиологическом научно-производственном комплексе.

Выделение ДНК осуществлялось из крови методом фенол-хлороформной экстракции с использованием протеиназы К [23]. Концентрацию ДНК в полученных образцах определяли спектрофотометрически с использованием NanoPhotometer Pearl UV/VIS с SDRAM, P-34 (Implen, Германия). Образцы ДНК разводили в ТЕ-буфере до концентрации 0,03 мкг/мкл и хранили до проведения генотипирования при -20°C.

Генотипирование мтДНК проводили с использованием полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ПЦР-РВ), с выщеплением 5'-концевой метки (TaqMan). Для проектирования праймеров и зондов использовали нуклеотидную последовательность полного генома мтДНК базы данных GenBank. Были использованы программы Primer 3, Oligocalculator, PrimerBlast и DinaMelt [18—22, 24]. Проверка на отсутствие взаимной гомологии между парами праймеров и соответствующих зондов и на отсутствие гомологии с нуклеотидными последовательностями ядерной ДНК была проведена с помощью программ DinaMelt. Спроектированные олигонуклеотиды были произведены компанией «Синтол» (Москва, Россия). Нуклеотидные последовательности праймеров для амплификации участков мтДНК, содержащих варианты нуклеотид, и TaqMan-зондов представлены в табл. 1. Постановку ПЦР-РВ и проверку на специфичность осуществляли на амплификаторах АНК-32 (Синтол, Россия) и Real Time PCR System 7500 Fast (Applied Biosystems, США). Сигнал ПЦР-РВ регистрировали по каналам флуорофоров ROX и FAM, которые детектировали продукт амплификации мутантного и нормального аллеля соответственно. Состав реакционной смеси для проведения ПЦР-РВ представлен в табл. 2.

На приборах Real Time PCR System 7500 Fast и АНК-32 проводился ПЦР-анализ с выщеплением 5'-концевой метки (TaqMan система).

Статистический анализ результатов проводили с помощью программ SigmaPlot 12.0 (SSI, США), IBMSPSS 21.0 (IBMSPSS, США) и Statistica 8.0 (StatSoft, США). Были использованы функции ковариационного анализа, описательной статистики, параметрической и непараметрической статистики, вариационного анализа, корреляционного анализа, линейной и логистической регрессии. Кроме того, использовали тесты для независимых выборок по Краскеллу—Уоллису, Манну—Уитни и t-тест [25]. Данные представлены в виде средней величины с указанием стандартного отклонения, или в виде медианы

с указанием межквартильных границ и/или 95% доверительного интервала. Статистическую значимость различий оценивали по вероятности безошибочного прогноза более 95% ($p < 0,05$).

Результаты и обсуждение

В настоящей работе проведена сравнительная оценка результатов генотипирования образцов ДНК участников исследования без клинических проявлений атеросклероза (условно здоровых лиц) и больных ИБС.

Для оценки значимости различий были проведен анализ критерия однородности дисперсий (F-критерий) (табл. 3) и сравнение медиан значений гетероплазмы для каждой мутации (рис. 1). Согласно полученным результатам, между выборками больных ИБС и условно здоровых участников исследования есть высокозначимые различия, а по мутации m.15059G>A имеются отличия на уровне значимости 0,1.

На рис. 1 показаны различия значений медиан в двух группах — условно здоровых лиц и больных ИБС с перенесенным инфарктом миокарда — по каждой из 9 мутаций. Значимые отличия были выявлены для мутаций m.3256C>T, m.13513G>A, m.1555A>G и m.14846G>A. Для сравнения медиан использовали U-тест по методу Манна—Уитни.

На основе анализа суммарной мутационной нагрузки митохондриального генома была разработана математическая модель определения генетической предрасположенности к развитию ишемической болезни сердца и инфаркта миокарда, включающая анализ степени гетероплазмы четырех наиболее информативных генетических маркеров (m.15059G>A, m.3256C>T, m.12315G>A и m.13513G>A) и оценку полученных результатов с помощью ряда статистических методов. Остальные оцениваемые мутации митохондриального генома были исключены из рассмотрения как генетические маркеры риска, поскольку

Таблица 1

Зонды и праймеры для ПЦР-РВ

Мутации	Праймеры	Зонды
m.1555A>G	F aggacatttaactaaaaccctctacg R agctacactctgttctgtcca	5'-ROX- agaggaaacaagtcgtaacatggtaagtgtac -BHQ-2 -3' 5'-FAM- agaggagacaagtcgtaacatggtaagtgtac -BHQ-1 -3'
m.3256C>T	F ataccacacaccaccaag R aagaagagggaattgaacctctgact	5'-ROX- gcagagcccggtaatcgataaaaactta -BHQ-2 -3' 5'-FAM- agagcccggtaatcgataaaaacttaaa -BHQ-1 -3'
m.3336T>C	F acagtcagaggttcaattctctt R ttcgttcggaagcattagga	5'-ROX- tactcctcatcgtaaccattctaactcgc -BHQ-2 -3' 5'-FAM- tcctcattgtacccttctaactcgcact -BHQ-2 -3'
m.5178C>A	F cttaaactccagcaccacgac R aggccctcctaggagagga	5'-ROX- atctcgcacctgaacaagataacatga -BHQ-2 -3' 5'-FAM- cgcacctgaacaagataacatgactaa -BHQ-1 -3'
m.12315G>A	F cagctatccattggtcttaggc R ggaagtcagggttaggggtgt	5'-ROX- ccaaaaattttagtgcaactccaataaaaag -BHQ-2 -3' 5'-FAM- ccaaaaattttggtgcaactccaataaa -BHQ-2 -3'
m.13513G>A	F gcagcctagcattagcagga R ataggctcagcgctgtgt	5'-ROX- caggtttctactccaaaaccacatcatc -BHQ-2 -3' 5'-FAM- caggtttctactccaaagaccacatcatc -BHQ-2 -3'
m.14459G>A	F ccaataaaactcaccagaacc R tttaggggaatgatggttg	5'-ROX- ctcaggatactctcaatagccatcatgt -BHQ-2 -3' 5'-FAM- ggatactctcaatagccatcgcgttag -BHQ-2 -3'
m.14846G>A	F aaccactcattcatcgacctc R cctgtggtgatttgaggat	5'-ROX- gcatgatgaaactcagctcactcctt -BHQ-2 -3' 5'-FAM- catgatgaaactcagctcactcctt -BHQ-2 -3'
m.15059G>A	F caatggcgctcaatattct R caggaggataatgccgatgt	5'-ROX- gggcgaggcctatattacagatcatttct -BHQ-2 -3' 5'-FAM- gcgaggcctatattacagatcatttct -BHQ-2 -3'

Таблица 2

Состав реакционной смеси для ПЦР-РВ (на 10 мкл)

Компонент	Количество
TaqMan Buffer	1 мМ
MgCl ₂	3 мМ
dNTP	250 мкМ
Праймеры (прямой и обратный)	300 нМ
Гибридизационные зонды (FAM и ROX)	300 нМ
Taq-полимераза (Хеликон, Москва)	0,5 ед.
Анализируемая ДНК	2 мкл

Таблица 3

Критерий однородности дисперсий

Мутация	F-критерий	Значение
m.5178C>A	0,409	0,523
m.3336T>C	0,897	0,344
m.13513G>A	4,312	0,043
m.15059G>A	2,834	0,093
m.1555A>G	0,970	0,326
m.12315G>A	10,086	0,002
m.14459G>A	6,405	0,012
m.3256C>T	4,445	0,036
m.14846G>A	18,115	0,001

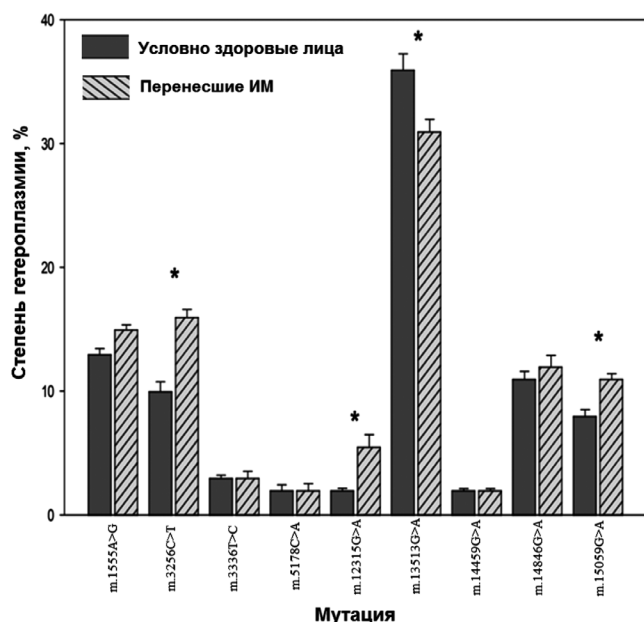


Рис. 1. Сравнение показателей степени гетероплазмы мтДНК у здоровых лиц и больных ИБС с перенесенным инфарктом миокарда.

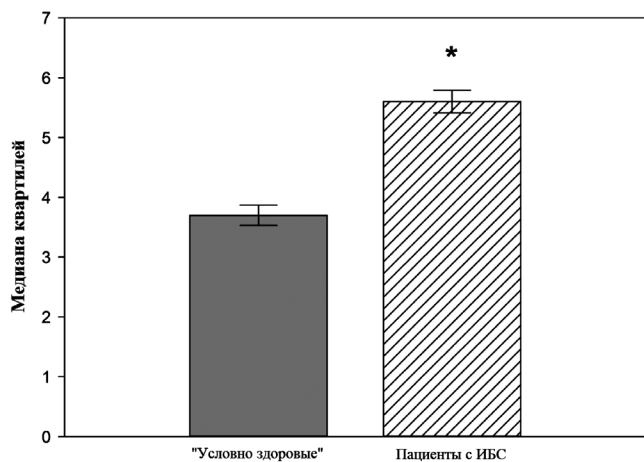


Рис. 2. Анализ суммарной мутационной нагрузки мтДНК по мутациям m.15059G>A, m.3256C>T, m.12315G>A и m.13513G>A.

ку не улучшали диагностических характеристик модели. Сокращение числа маркеров до информативного минимума объясняется тем, что оно приводит к упрощению использования теста без потери точности диагностики и значительному снижению затрат на тест-системы.

Значения исследуемого признака (показатели гетероплазмы) были перекодированы в порядковую шкалу по квартилям (от 1 до 4). Суммарная мутационная нагрузка представляла собой результат сложения этих порядковых значений с учётом знака коэффициента линейной регрессии.

На рис. 2 представлены значения суммарной мутационной нагрузки мтДНК условно здоровых лиц и больных ИБС (независимо от наличия перенесенного инфаркта миокарда в анамнезе). Как видно на рис. 2, мутационная нагрузка мтДНК больных ИБС существенно выше, чем у лиц без клинических проявлений атеросклероза. Согласно результатам, представленным на рис. 2, можно рассматривать 3 группы, различающиеся по суммарной мутационной нагрузке мтДНК: 1 — группа низкого генетического риска, в которой преобладают условно здоровые лица; 2 — группа умеренного генетического риска, занимающая промежуточное положение; 3 — группа высокого генетического риска, в которой значения суммарной мутационной нагрузки мтДНК выше среднего значения данного показателя у больных ИБС.

На основании полученных результатов можно утверждать, что уровень гетероплазмы четырех митохондриальных мутаций m.12315G>A (ген MT-TL2), m.3256C>T (ген MT-TL1), m.15059G>A (ген MT-CYB) и m.13513G>A (ген MT-ND5) связан с атеросклерозом и его клиническими проявлениями, такими, как ишемическая болезнь сердца и инфаркт миокарда [5, 6]. Данные мутации, локализованные в генах, кодирующих тРНК-Лейцин, субъединицу 5 NADH-дегидрогеназы и цитохром В, могут вызывать дефекты в белко-

вых цепях дыхательных ферментов и транспортных РНК, синтезирующихся непосредственно в митохондриях. Вероятно, данный процесс может приводить к дисфункции ферментов и тРНК в митохондриях. В результате в клетках может снижаться уровень АТФ, возникать энергетическое голодание клеток и, в виде компенсации, их неограниченная пролиферация. Вследствие этого может возрасти вероятность развития атеросклероза.

Согласно разработанной математической модели, суммарная нагрузка 4 исследуемых митохондриальных мутаций (m.12315G>A, m.13513G>A, m.3256C>T и m.15059G>A) объясняет около 60% варибельности клинических проявлений атеросклероза и не зависит от других атерогенных факторов.

Информация, полученная в ходе данного исследования, может быть использована в медицинской генетике и клинической практике для оценки предрасположенности к атеросклеротическим заболеваниям, а также для семейного анализа ИБС.

Заключение

Таким образом, на основе анализа суммарной мутационной нагрузки митохондриального генома разработана математическая модель выявления генетической предрасположенности к развитию ИБС и инфаркта миокарда, включающая анализ степени гетероплазмии 4 наиболее информативных генетических маркеров (m.15059G>A, m.3256C>T, m.12315G>A и m.13513G>A) и оценку полученных результатов с помощью ряда статистических методов. Данная модель охватывает около 60% варибельности клинических проявлений атеросклероза (ИБС и инфаркта миокарда), и не зависит от других атерогенных факторов.

References

1. McCullagh K.G., Duance V.C., Bishop K.A. The distribution of collagen types I, III and V(AB) in normal and atherosclerotic human aorta. *J. Pathol.* 1980; 130: 45-55.
2. Zhelankin A.V., Sazonova M.A. Association of the mutations in the human mitochondrial genome with chronic non-inflammatory diseases: type 2 diabetes, hypertension and different types of cardiomyopathy. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya* 2012; 3:123-8. (in Russian)
3. Sobenin I.A., Chistiakov D.A., Bobryshev Y.V., Postnov A.Y., Orekhov A.N. Mitochondrial mutations in atherosclerosis: new solutions in research and possible clinical applications. *Curr Pharm Des.* 2013; 19: 5942-53.
4. Yu E., Mercer J., Bennett M. Mitochondria in vascular disease. *Cardiovasc Res.* 2012; 95: 173-82.
5. Turner R.C., Cull C.A., Frighi V., Holman R.R. Glycemic control with diet, sulfonylurea, metformin, or insulin in patients with type 2 diabetes mellitus: progressive requirement for multiple therapies (UKPDS 49). UK Prospective Diabetes Study (UKPDS). 1999; 281: 2005-2012.

6. 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.

7. Kaufmann P., Koga Y., Shanske S., et al. Mitochondrial DNA and RNA processing in MELAS. *Ann. Neurol.* 1996; 40: 172-80.

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

9. 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: 271-26.

10. Sukernik R.I., Derbeneva O.A. Starikovskaya E.B. Mitochondrial genome and mitochondrial disease in humans. *Genetics.* 2002; 38: 1-10.

11. Mitrofanov K.Iu., Sazonova M.A. Association of point mutations in human nuclear and mitochondrial genome with coronary artery disease. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya* 2012; 2:51-5. (in Russian)

12. Ivanova M.M., Borodachev E.N., Sazonova M.A. Human pathologies associated with mutations of mitochondrial genome. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya* 2012; 3:115-22. (in Russian)

13. Sobenin I.A., Zhelankin A.V., Mitrofanov K.Y., Sinyov V.V., Sazonova M.A., Postnov A.Y., Orekhov A.N. Mutations of Mitochondrial DNA in Atherosclerosis and Atherosclerosis-Related Diseases. *Curr. Pharm. Des.* 2015; 21(9):1158-63.

14. Singh V.N. Coronary Heart Disease. *Medicine Health*, 2002.

15. Hodis H., Mack W., LaBree L. et al. Reduction in carotid arterial wall thickness using lovastatin and dietary therapy: A randomized, controlled clinical trial. *Ann. Intern. Med.* 1996; 124: 548-56.

16. Benjamin E.J., Wolf P.A., D'Agostino R.B., Silbershatz H., Kannel W.B., Levy D. Impact of atrial fibrillation on the risk of death: the Framingham Heart Study. *Circulation* 1998; 98: 946-52.

17. Lang T.A., Secic M. *How to report statistics in medicine: annotated guidelines for authors, editors, and reviewers.* Second edition. American College of Physicians, Philadelphia, 2006.

18. <http://frodo.wi.mit.edu/> accessed date 25.02.2017

19. Mehrazin M., Shanske S., Kaufmann P., et al. Longitudinal changes of mtDNA A3243G mutation load and level of functioning in MELAS. *Am. J. Med. Genet. A.* 2009; 149: 584-7.

20. <http://www.basic.northwestern.edu/biotools/OligoCalc.html> / accessed date 27.01.2017

21. <http://mfold.rna.albany.edu/?q=dinamelt> / accessed date 15.03.2017

22. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/> / accessed date 17.01.2017

23. Sazonova M.A., Ryzhkova A.I., Sinyov V.V., Galitsyna E.V., Orekhova V.A., Melnichenko A.A., Orekhov A.N., Ravani A.L., Sobenin I.A. New markers of atherosclerosis: a threshold level of heteroplasmy in mtDNA mutations. *Vessel Plus* 2017; 1: 182-91.

24. http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PROGRAM=blastn&BLAST_PROGRAMS=megaBlast&PAGE_TYPE=BlastSearch/ accessed date 09.02.2017

25. Assmann G., Cullen P., Schulte H. Simple scoring scheme for calculating the risk of acute coronary events based on the 10-year follow-up of the prospective cardiovascular Muenster (PROCAM) study. *Circulation* 2002; 105: 310-5.

Сведения об авторах:

Орехова Нина Александровна, науч. сотр. Научно-исследовательского института атеросклероза, Инновационный центр Сколково;

Собенин Игорь Александрович, доктор мед. наук, вед. науч. сотр. лаб. ангиопатологии ФГБНУ НИИОПП и лаб. мед. генетики ФГБУ «Национальный Российский исследовательский центр кардиологии»;

Митрофанов Константин Юрьевич, науч. сотр. лаб. ангиопатологии ФГБНУ НИИОПП;

Сазонова Маргарита Александровна, канд. биол. наук, вед. науч. сотр. лаб. ангиопатологии ФГБНУ НИИОПП лаб. ангиопатологии ФГБУ «Национальный Российский исследовательский центр кардиологии»;

Постнов Антон Ювенальевич, доктор мед. наук, зав. лаб. сердечно-сосудистой патологии ФГБУ «Национальный Российский исследовательский центр кардиологии»;

Орехов Александр Николаевич, доктор биол. наук, проф. биохимии, зав. лаб. ангиопатологии ФГБНУ НИИОПП;

Карагодин Василий Петрович, доктор биол. наук, проф. каф. товароведения и товарной экспертизы РЭУ им. Г.В. Плеханова.