

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ СОСТОЯТЕЛЬНОСТЬ И ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОМА МИТОХОНДРИЙ ЛЕЙКОЦИТОВ ПРИ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА, ОСЛОЖНЁННОЙ НАРУШЕНИЯМИ РИТМА

Корепанов В.А.¹, Атабеков Т.А.¹, Голубенко М.В.², Афанасьев С.А.¹

¹ Научно-исследовательский институт кардиологии – филиал ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», Томск, Россия

² Научно-исследовательский институт медицинской генетики – филиал ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», Томск, Россия

ВВЕДЕНИЕ

Ишемическая болезнь сердца (ИБС) является наиболее распространённой патологией в структуре сердечно-сосудистых заболеваний. Ишемия является триггером для возникновения нарушений ритма сердца (НРС), требующих имплантации кардиовертеров-дефибрилляторов. Функционирование кардиомиоцитов тесно сопряжено с дыхательными процессами в митохондриях (Мтх). В норме все Мтх в организме человека несут одинаковый геном – митохондриальную ДНК (мтДНК); соответственно, функциональные возможности всех Мтх в пределах организма схожи. Носительство полиморфных вариантов генов, кодирующих субъединицы комплексов дыхательной цепи и рРНК, может отражаться на функциональных возможностях Мтх.

ЦЕЛЬ

Изучить дыхательную функцию митохондрий и особенность митохондриальной ДНК лейкоцитов больных ишемической болезнью сердца, сопровождающейся жизнеугрожающими нарушениями ритма сердца.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Производили забор периферической венозной крови у пациентов с ИБС ($n = 45$) и ИБС с НРС ($n = 120$). Мтх получали дифференциальным центрифугированием в градиенте сахарозы. Измеряли скорости потребления кислорода (СПК) ($\text{нМ О}_2/\text{мин}/\text{мг белка}$) Мтх в двух энергетических состояниях: V3 – наличие в инкубационном буфере субстрата(ов) окисления и субстрата фосфорилирования (АДФ); V4 – после израсходования АДФ в буфере. В качестве субстратов окисления использовали сукцинат и смесь пирувата и малата.

Для оценки функционального резерва Мтх определяли СПК в присутствии и в отсутствии насыщенной пальмитиновой кислоты (ПК) в буфере. Рассчитывали коэффициент сопряжённости окислительных процессов и фосфорилирования – дыхательный контроль (ДК) ($V3/V4$). Устанавливали гаплогруппу мтДНК, а также носительство полиморфных вариантов генов, кодирующих субъединицы комплексов дыхательной цепи и рибосомальной РНК (рРНК) (12S и 16S субъединицы). Статистическую оценку проводили в программе Statistica 13 (StatSoft Inc., США) с применением критериев Манна – Уитни для независимых выборок и Вилкоксона – для зависимых групп данных. Данные представлены в виде медиан и квартилей (Me (Q1; Q3)). Статистически значимыми считались различия при уровне $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

СПК в V3, V4 и ДК митохондрий при ИБС и ИБС с НРС не имели статистически значимых различий в обоих буферах без ПК. При внесении ПК в буфер наблюдалось значительное увеличение СПК у Мтх пациентов с изолированной ИБС. Так, в состоянии V3 СПК в пируват-малатном буфере возросла со 127,7 (85,3; 196,4) до 198,3 (162,7; 234,9) $\text{нМ О}_2/\text{мин}/\text{мг белка}$ ($p = 0,04$), а в состоянии V4 – с 46,6 (38,5; 56,3) до 64,4 (60,3; 87,7) $\text{нМ О}_2/\text{мин}/\text{мг белка}$ ($p = 0,02$). При использовании сукцинатного буфера и ПК СПК митохондрий пациентов с неосложнённой ИБС увеличилась незначительно ($p = 0,07$) – с 125,5 (64,4; 172,3) до 184,3 (47,3; 406,3) и с 44,2 (27,5; 71,9) до 86,1 (36,9; 159,4) $\text{нМ О}_2/\text{мин}/\text{мг белка}$ в V3 и V4 соответственно. В группе ИБС с НРС добавление ПК в буфер не отразилось на СПК в V3 и V4, а также ДК при использовании обоих буферов. Генотипирование мтДНК установило, что основной гаплогруппой у пациентов с ИБС и НРС является гаплогруппа Н (41 %). В 90 % случаев пациен-

ты данной группы были носителями миссенс-полиморфизмов генов 16S рРНК, что соотносится с более ранними исследованиями мтДНК больных неосложнённой ИБС. Практически в половине случаев у больных ИБС с НРС выявлены полиморфные варианты тРНК. Реже (менее 40 %) обнаружены миссенс-полиморфизмы генов I комплекса дыхательной цепи. Полиморфизмы генов цитохрома В, цитохром с оксидазы, АТФ-синтазы и 12S рРНК оказались минорными по частоте встречаемости. Частоты встречаемости всех указанных полиморфных вариантов генов оказались схожими с таковыми у пациентов с неосложнённой ИБС. МтДНК пациентов с НРС в 1,5 раза чаще имела множественные миссенс-полиморфизмы в генах белков двух разных комплексов дыхательной цепи. Для генов с миссенс-заменами в трёх комплексах и заменами одновременно

в 12S и 16S рРНК различия между группами составили 1,6 и 1,7 раза.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Пациенты, имеющие ИБС, осложнённую НРС, характеризуются сниженным функциональным резервом митохондрий в отличие от пациентов с неосложнённой ИБС. Это может быть обусловлено носительством полиморфных вариантов генов мтДНК, ответственных за кодирование субъединиц белков электрон-транспортной цепи Мтх и митохондриальных рРНК. Также у пациентов с ИБС и НРС в сравнении с пациентами с неосложнённой ИБС чаще выявлялось сочетанное носительство нескольких полиморфных вариантов генов, кодирующих указанные белки и рРНК.

FUNCTIONAL CONSISTENCY AND POLYMORPHISM OF THE LEUKOCYTE MITOCHONDRIA GENOME IN CORONARY HEART DISEASE COMPLICATED BY RHYTHM DISTURBANCES

Korepanov V.A.¹, Atabekov T.A.¹, Golubenko M.V.², Afanasiev S.A.¹

¹ Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia

² Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia

BACKGROUND

Ischemic heart disease (IHD) is the most common pathology in the structure of cardiovascular diseases. Ischemia is a trigger for the occurrence of cardiac arrhythmias, requiring the implantation of cardioverter-defibrillators. The functioning of cardiomyocytes is closely associated with respiratory processes in mitochondria. Normally, all mitochondria in the human body carry the same genome – mitochondrial DNA (mtDNA), respectively, the functional capabilities of all mitochondria within the body are similar. Carriage of polymorphic variants of genes encoding subunits of respiratory chain complexes and rRNA may affect the functionality of mitochondria.

THE AIM

To study the respiratory function of mitochondria and the features of mtDNA of leukocytes in patients with IHD, accompanied by life-threatening cardiac rhythm disorders.

MATERIAL AND METHODS

Peripheral venous blood was taken from patients with IHD ($n = 45$) and IHD with cardiac rhythm disorders ($n = 120$). Mitochondria were obtained by differential centrifugation in a sucrose gradient. Mitochondrial oxygen consumption rates ($\text{nM O}_2/\text{min/mg protein}$) were measured in two energy states: V3 – the presence of oxidation substrate(s) and phosphorylation substrate (ADP) in the incubation buffer; V4 – after the consumption of ADP in the buffer. Succinate and a mixture of pyruvate and malate were used as oxidation substrates. To assess the functional reserve of mitochondria, oxygen consumption rate was determined in the presence and in the absence of saturated palmitic acid in buffer. The coefficient of conjugation of oxidative processes and phosphorylation was calculated – respiratory control ($V3/V4$). The mtDNA haplogroup was established, as well as the carriage of polymorphic variants of genes encoding subunits of the respiratory chain complexes and ribosomal RNA (rRNA) (12S and 16S subunits). Statistical evaluation was carried out in the Statistica 13 (StatSoft Inc., USA) program using the Mann – Whitney test for independ-

ent samples and the Wilcoxon test for dependent data groups. Data are presented as medians and quartiles (Me (Q1; Q3)). Differences were considered statistically significant at $p < 0.05$.

RESULTS

Oxygen consumption rates in V3, V4 and respiratory control of mitochondria in IHD and IHD with cardiac rhythm disorders did not have significant differences in both buffers without palmitic acid. When palmitic acid was added to the buffer, a significant increase in oxygen consumption rates was observed in mitochondria of patients with isolated IHD. Thus, in the V3 state, oxygen consumption rates in pyruvate-malate buffer increased from 127.7 (85.3; 196.4) to 198.3 (162.7; 234.9) nM O_2 /min/mg of protein ($p = 0.04$), and in the V4 state – from 46.6 (38.5; 56.3) to 64.4 (60.3; 87.7) nM O_2 /min/mg protein ($p = 0.02$). The use of succinate buffer and palmitic acid, the mitochondrial oxygen consumption rates in patients with uncomplicated IHD increased slightly ($p = 0.07$) from 125.5 (64.4; 172.3) to 184.3 (47.3; 406.3) and from 44.2 (27.5; 71.9) to 86.1 (36.9; 159.4) nM O_2 /min/mg protein in V3 and V4, respectively. In the group of IHD with cardiac rhythm disorders, the addition of palmitic acid to the buffer did not affect the oxygen consumption rates in V3 and V4, as well as respiratory control when using both buffers. mtDNA genotyping found that the main haplogroup in patients with IHD with cardiac rhythm disorders is haplogroup H – 41 %. In 90 % of cases, patients in this group were carriers of missense polymorphisms of 16S rRNA

genes, which correlates with earlier studies of mtDNA in patients with uncomplicated IHD. In almost half of the cases, tRNA polymorphisms were detected in patients with IHD with cardiac rhythm disorders. Rarely (less than 40 %), missense polymorphisms of the respiratory chain complex I genes were found. Polymorphisms of the genes for cytochrome B, cytochrome C oxidase, ATP synthase, and 12S rRNA turned out to be minor in frequency of occurrence. The frequencies of occurrence of all these polymorphic variants of the genes were similar to those in patients with uncomplicated IHD. The mtDNA of patients with cardiac rhythm disorders was 1.5 times more likely to have multiple missense polymorphisms in the protein genes of two different respiratory chain complexes. For genes with missense substitutions in three complexes and substitutions simultaneously in 12S and 16S rRNA, the differences between the groups were 1.6 and 1.7 times.

CONCLUSION

Patients with IHD complicated by cardiac rhythm disorders are characterized by a reduced functional reserve of mitochondria, in contrast to patients with uncomplicated IHD. This may be due to the carriage of polymorphic variants of the mtDNA genes responsible for coding subunits of proteins of the mitochondria electron transport chain and mitochondrial rRNA. Also, in patients with IHD and cardiac rhythm disorders, compared with patients with uncomplicated IHD, the combined carriage of several polymorphic variants of the genes encoding these proteins and rRNA was more often detected.

Для цитирования: Корепанов В.А., Атабеков Т.А., Голубенко М.В., Афанасьев С.А. Функциональная состоятельность и полиморфизм генома митохондрий лейкоцитов при ишемической болезни сердца, осложнённой нарушениями ритма. *Байкальский медицинский журнал*. 2023; 2(3): 65-67. doi: 10.57256/2949-0715-2023-2-3-65-67

For citation: Korepanov V.A., Atabekov T.A., Golubenko M.V., Afanasiev S.A. Functional consistency and polymorphism of the leukocyte mitochondria genome in coronary heart disease complicated by rhythm disturbances. *Baikal Medical Journal*. 2023; 2(3): 65-67. doi: 10.57256/2949-0715-2023-2-3-65-67