gelatinase-associated lipocalin in relation to coronary atherosclerosis on intravascular ultrasound and cardiovascular outcome: Impact of kidney function (ATHEROREMO-IVUS study). *Atherosclerosis*. 2016;254:20-7. DOI:10.1016/j.atherosclerosis.2016.09.016

25. Medvedeva EA, Berezin II, Surkova EA, Yaranov DM, Shchukin YV. Galectin-3 in patients with chronic heart failure: association with oxidative stress, inflammation, renal dysfunction and prognosis. *Minerva cardioangiologica*. 2016;64(6):595-602

26. Slatova LN, Boytsova EYa. The value of subclinical markers of inflammation, endothelial dysfunction and myocardial fibrosis in the assessment of prognosis in patients with myocardial infarction. In: *Protivorechiya sovremennoy kardiologii: spornyie i nereshennyye voprosy materialy V vserossiyskoy konferentsii*. Samara, 2016:109-10. (In Russian).

27. Bosselmann H, Tonder N, Sölétormos G, Rossing K, Iversen K, Goetze JP, Gustafsson F, Schou M. Influence of renal impairment

on myocardial function in outpatients with systolic heart failure: an echocardiographic and cardiac biomarker study. *International Journal of Cardiology*. 2014;177(3):942-8. DOI:10.1016/j.ijcard.2014.09.202

Сведения об авторах

Шильева Наталья Валериевна, Самарский государственный медицинский университет; адрес: Российская Федерация, 443099, г. Самара, ул. Чапаевская, г. 89; тел.: +7(846)3321634; e-mail: rogdestvenskaja@rambler.ru

Information about the authors

Shilyaeva Nataliya Valerievna, Samara State Medical University; Address: 89, Chapayevskaya Str., Samara, Russian Federation 443099; Phone: +7(846)3321634; e-mail: rogdestvenskaja@rambler.ru

Поступила 13.04.2017 г.

Принята к печати 11.08.2017 г.

© КИРЕЕВА В. В., УСОЛЬЦЕВ Ю. К., ЛИФШИЦ Г. И., ЛЕПЕХОВА С. А., КОЖЕВНИКОВА Е. Е., АПАРЦИН К. А.
УДК 616.127:616.831-005.4
DOI: 10.20333/2500136-2017-4-35-43

ТРАНСЛЯЦИОННОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ: МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ У ПАЦИЕНТОВ С СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ ПАТОЛОГИЕЙ

В. В. Киреева^{1,2}, Ю. К. Усольцев¹, Г. И. Лифшиц², С. А. Лепехова², Е. Е. Кожевникова¹, К. А. Апарцин²

¹Больница Иркутского научного центра Сибирского отделения Российской академии наук,
Иркутск 664033, Российская Федерация

²Иркутский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук,
Иркутск 664033, Российская Федерация

Цель исследования. Оценить прогностические свойства изменения концентрации митохондриальной ДНК (мтДНК) в плазме крови пациентов с сердечно-сосудистой патологией в отношении течения заболевания и эффективности проводимой терапии.

Материал и методы. В исследовании приняли участие пациенты, страдающие ишемической болезнью сердца (ИБС) со стабильными и нестабильными атеросклеротическими бляшками, подписавшие информированное согласие на обработку данных в рамках научного исследования. Пациенты были госпитализированы для обследования и проведения курса лечения ИБС в кардиологическое отделение Больницы ИНЦ СО РАН. Проводили лабораторное и инструментальное обследование и анализ уровня свободно циркулирующей митохондриальной ДНК сыворотки крови методом ПЦР в реальном времени (копий/мл). Результаты госпитализации, оцененные как удовлетворительные, сопоставлены с уровнем мтДНК до и после лечения.

Результаты. Средняя величина уровня мтДНК до и после лечения у кардиологических пациентов значительно отличаются - 1093686 копий/мл против 418046 копий/мл соответственно ($p=0.02$). В отличие от женщин, уровень мтДНК у мужчин статистически значимо ($p=0.03$) снижается после лечения. Выявлены статистически значимые различия показателей уровня мтДНК до и после лечения в зависимости от серии определения ($p=0.0010$) по ранговому критерию Краскела-Уоллиса.

Заключение. Результаты предлагаемой НИР позволят выявить прогностические факторы повреждения клеток и дестабилизации бляшек при эндотелиальной дисфункции, атеросклерозе и его осложнениях, провести клиническую апробацию метода прогнозирования клеточных повреждений при хронической ишемии на фоне атеросклероза.

Ключевые слова: клиническое исследование, атеросклероз, свободно циркулирующая митохондриальная ДНК, ишемическая болезнь сердца.

Для цитирования: Киреева ВВ, Усольцев ЮК, Лифшиц ГИ, Лепехова СА, Кожевникова ЕЕ, Апарцин КА. Трансляционное исследование: методы диагностики митохондриальной дисфункции у пациентов с сердечно-сосудистой патологией. *Сибирское медицинское обозрение*. 2017;(4): 35-43. DOI: 10.20333/2500136-2017-4-35-43

TRANSLATIONAL STUDY: METHODS OF MITOCHONDRIAL DYSFUNCTION DIAGNOSTICS IN PATIENTS WITH CARDIOVASCULAR PATHOLOGY

V. V. Kireeva^{1,2}, Y. K. Usoltsev¹,

G. I. Lifshits², S. A. Lepekhova², E. E. Kozhevnikova¹, K. A. Apartsin²

¹Hospital of the Irkutsk Scientific Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Irkutsk
664033, Russian Federation

²Irkutsk Scientific Center of Russian Academy of Sciences, Irkutsk
664033, Russian Federation

The aim of the research. To estimate the prognostic properties of changes in the concentration of mitochondrial DNA (mtDNA) in the blood plasma of patients with cardiovascular pathology in relation to the course of the disease and the effectiveness of the therapy.

Material and methods. The study involved patients with coronary heart disease (CHD) with stable and unstable atherosclerotic plaques, signed informed consent for the processing of the data. Patients were hospitalized for examination and treatment of IHD in the cardiology department of the Hospital INC SB RAS. Laboratory and instrumental examination and analysis of the level of free circulating mitochondrial DNA of blood serum was carried out by real-time PCR (copies / ml). The results of hospitalization, assessed as satisfactory, are compared with the level of mtDNA before and after treatment.

Results. The mean value of the mtDNA level before and after treatment in cardiac patients is significantly different - 1093686 copies / ml against 418046 copies / ml, respectively ($p = 0.02$). Unlike women, the level of mtDNA in men is statistically significant ($p = 0.03$) decreases after treatment.

Statistically significant differences in mtDNA levels before and after treatment were found depending on the series of determinations ($p = 0.0010$) according to the Kruskal-Wallis rank test.

Conclusion. The results of the proposed research will allow to identify prognostic factors of cell damage and plaque destabilization in endothelial dysfunction, atherosclerosis and its complications, to conduct clinical approbation of the method of predicting cellular injuries in chronic ischemia against the background of atherosclerosis.

Key words: sclinical research, atherosclerosis, free circulating mitochondrial DNA, ischemic heart disease.

Citation: Kireeva VV, Usoltsev YK, Lifshits GI, Lepekhova SA, Kozhevnikova EE, Apartsin KA. Translational study: methods of mitochondrial dysfunction diagnostics in patients with cardiovascular pathology. Siberian Medical Review. 2017;(4):35-43. DOI: 10.20333/2500136-2017-4-35-43

Введение

Используемые в настоящее время технологии анализа нарушений липидного обмена крови, а также спектр маркеров сосудистого риска и повреждения миокарда не всегда бывают достаточными для начала своевременного лечения и выбора его правильной тактики [1]. Известна ключевая роль митохондриальной дисфункции клеток-мишеней в процессе формирования и дестабилизации атеросклеротической бляшки [2-3], а также в развитии повреждений сердечной мышцы после воздействия ишемии и реперфузии [4-7]. Это предопределяет возможность участия структурно-функциональных нарушений митохондрий эндотелиоцитов, гладкомышечных клеток и моноцитов/макрофагов в различных этапах развития атеросклеротической бляшки: ее росте, формировании фиброзной капсулы, эрозии и разрыве. Несмотря на данный факт, биомаркеров, связывающих состояние митохондрий и процессы гибели клетки при атеросклерозе и инфаркте миокарда, на сегодняшний день не выявлено. Одним из перспективных показателей интенсивности цитолитических процессов и, возможно, состояния митохондрий, является свободно циркулирующая мтДНК крови, которую относят к «молекулярным паттернам риска» (danger associated molecular patterns, DAMPs) [8]. На сегодняшний день определение

уровня мтДНК крови используют для прогноза развития осложнений и смертности при злокачественных опухолях, септических процессах, а также для оценки вероятности летального исхода у пациентов отделений реанимации [4, 8-12]. В то же время исследований динамики концентрации свободно циркулирующей мтДНК крови при атеросклерозе и его осложнениях ранее не проводилось.

Таким образом, актуальной для клинической кардиологии является изучение уровня мтДНК в качестве «молекулярного паттерна риска» при дестабилизации атеросклеротических бляшек. Все это будет создавать основу для создания технологий прогностического мониторинга острых ишемических повреждений.

В отделе медико-биологических исследований и технологий Иркутского научного центра Сибирского отделения Российской академии наук (ИНЦ СО РАН) проведен первый этап трансляционных исследований (доклинический) оценки прогностических свойств мтДНК при сердечно-сосудистой патологии. В настоящее время Больница ИНЦ СО РАН реализует второй этап (from bench to bedside) в рамках наблюдательного исследования, что соответствует концепции проведения трансляционных исследований в ИНЦ СО РАН [13] и реализуется в настоящее время в области фармакогенетических исследований [14], антикоагу-

лентной терапии [15] и оценке регенераторного потенциала сосудистой стенки [16].

Цель исследования. Оценка прогностических свойств концентрации мтДНК в плазме крови больного хронической ишемией миокарда в отношении течения заболевания и эффективности проводимой терапии.

Материал и методы

В исследовании приняли участие пациенты, страдающие ишемической болезнью сердца со стабильными и нестабильными атеросклеротическими бляшками, подписавшие информированное согласие на обработку данных в рамках научного исследования.

Пациентам проводились лабораторные и инструментальные методы исследования: электрокардиография (ЭКГ), ультразвуковые исследования (УЗИ) и анализ мтДНК, для чего собиралась бедная тромбоцитами плазма, полученная путем центрифугирования крови пациента. Количественный анализ мтДНК проводился методом ПЦР.

Проанализированы результаты госпитализации на основании истории болезни, анкет исследований, результатов клинических исследований. Всего 14 пациентов из обследованной когорты соответствовали критериям включения и не имели критериев исключения, поэтому данные обрабатывали методами непараметрической статистики.

Выявление наиболее информативных показателей, характеризующих маркеры риска развития сердечно-сосудистой патологии позволит разработать способы оценки выраженности клеточного повреждения при хронической ишемии на фоне эндотелиальной дисфункции, атеросклероза и алгоритм обследования, и создание базы данных для оценки пациентов, прошедших комплексное обследование.

Методы статистической обработки

Обработку данных проводили методами непараметрической статистики. Количественные переменные представляли в виде медианы, верхнего и нижнего квартилей, статистическую значимость различий определяли с помощью критерия Манна-Уитни (U) для двух несвязанных выборок, Краскела-Уоллиса для нескольких несвязанных выборок или критерия Вилкоксона для связанных выборок, корреляционный анализ проводили с помощью непараметрического критерия Спирмена (R). Относительная величина приведена со средней квадратической ошибкой.

Статистически значимыми считали различия при значениях двустороннего $p < 0,05$. Статистический анализ проводили с помощью пакета программ Statistica 10.0 для Windows (StatSoft Inc).

Критерии включения в исследование:

1. диагноз ишемическая болезнь сердца, документированный атеросклероз коронарных и/или брахиоцефальный и/или почечных артерий;
2. наличие подписанного информированного согласия субъекта на участие в наблюдательном исследовании;
3. мужчины или женщины в возрасте от 35 до 70 лет (включительно);

4. забор образца крови для определения уровня свободно циркулирующей мтДНК.

Критерии не включения/исключения из исследования:

1. сердечная недостаточность IIБ-III стадии по классификации Василенко -Стражеско или III- IV функционального класса по Нью-Йоркской кардиологической ассоциации (NYHA) при включении;
2. хронические заболевания печени и/или повышение уровня аланинаминотрансферазы более чем в 2 раза выше верхней границы нормы или уровня общего билирубина более чем в 1,5 раза выше верхней границы нормы в настоящее время, либо вирусный гепатит В или С в анамнезе или другие отклонения со стороны печени, которые, по мнению Исследователя, препятствуют участию в исследовании;
3. тяжелые нарушения функции почек: хроническая болезнь почек IV-V ст;
4. первичная легочная гипертензия, хронические заболевания легких, сопровождающиеся формированием «легочного сердца» (хроническая обструктивная болезнь легких, эмфизема легких и др.);
5. активная форма туберкулеза, вирус иммунодефицита человека, оппортунистические инфекции, или инфекции угрожающие жизни;
6. системные заболевания соединительной ткани;
7. злокачественные новообразования любой локализации, в том числе в анамнезе;
8. идиопатические кардиомиопатии (дилатационная и гипертрофическая), миокардиты, эндокардиты, врожденные и приобретенные пороки сердца;
9. злоупотребление алкоголем или наркотиками (или другими запрещенными препаратами) в течение 2 лет до рандомизации;
10. тиреотоксикоз, гипотиреоз средней и тяжелой степени;
11. трансплантация любого органа в анамнезе или запланированная трансплантация органа;
12. заболевания крови, в том числе анемии средней и тяжелой степени;
13. любое сопутствующее состояние, приводящее к продолжающейся значимой кровопотере;
14. беременность и ранний послеродовый период;
15. любые медицинские состояния, включая активную клинически значимую инфекцию, которые по мнению исследователя способны повлиять на результаты оценок или препятствовать участию в исследовании;
16. отказ пациента от участия в исследовании на любом из его этапов.

Процедуры исследования: Переменные для анализа регистрировались в соответствии с протоколом.

На визите 1 проведена регистрация следующих параметров:

- подписание информированного согласия;
- проведение общеклинических и дополнительных ультразвуковых методов исследования, подтверждающих

наличие или отсутствие стабильных и нестабильных атеросклеротических бляшек;

- взятие 4 мл крови для исследования на уровень мтДНК до лечения;
- проведение лечения пациентов в соответствии со стандартами и порядками оказания медицинской помощи;
- взятие 4 мл крови для исследования на уровень мтДНК после лечения;
- сопоставление результатов уровня мтДНК с данными из истории болезни;
- статистическая обработка материала;
- разработка алгоритма обследования и создание базы данных для оценки пациентов, прошедших комплексное обследование;

Данные переменные были перенесены из первичной документация (карта стационарного больного) в формы, специально разработанные для текущего исследования и являющиеся источником данных и компонентом первичной медицинской документации. Процедуры исследования представлены в таблице 1.

Таблица 1

Процедуры исследования

Расписание обследований	Исходный период		Период лечения	Заключительный визит
	День 1	День 2		
Физикальное обследование	1	1	3-14 дни	1
Общий анализ крови с лейкоцитарной формулой	1			
Биохимический анализ крови	1			
Липидограмма	1			1
Анализ крови на уровень МВ-КФК	1			1
Коагулограмма	1			
Общий анализ мочи	1			
Электрокардиограмма	1			
Дуплексное сканирование брахиоцефальных артерий	1			
Дуплексное сканирование почечных артерий	1			
ЭХО-КГ	1			
Проба реактивной гиперемии		1		1
Анализ крови на уровень мтДНК		1		1

Краткое описание исследования

Для участия в исследовании выбраны результаты обследования и лечения пациентов, соответствующие всем критериям включения и исключения. Исследование состояло из исходного периода (периода, в ходе которого врач-исследователь оценивал соответствие состояния пациента условиям, необходимым для участия в исследовании), периода лечения и заключительного визита. Лечение в рамках ТППГ состояло из стандартных для заболевания методик, т.е. не отличалось от таковых у пациентов, не участвующих в исследовании.

Пациентам при обследовании выполнялись ультразвуковые исследования сердца и сосудов. При выявлении

атеросклеротических бляшек в сосудах была взята кровь для определения уровня мтДНК и проведена проба реактивной гиперемии в начале и в конце исследования с последующей статистической обработкой результатов полученных данных.

Пациенты, участвующие в исследовании, информировали своего доктора обо всех неожиданных и необычных симптомах, если такие возникали. Без одобрения доктора пациенты не принимали никаких рецептурных или безрецептурных препаратов, приобретенных в аптеке.

Перед тем как пациент принимал решение участвовать в этом исследовании, он получал о нем исчерпывающую информацию как в процессе беседы с врачом-исследователем, так и из соответствующего документа (информация для пациента). Если пациент хотел участвовать в этом исследовании, он должен был, прежде всего, подписать информированное согласие.

Пациенты приходили на исходный визит с подтвержденным атеросклерозом коронарных и/или брахиоцефальных артерий (коронарография, УЗИ).

Исходный визит (1-2 день.)

В первый день первого визита врач-исследователь оценивал соответствие состояния пациента требованиям, необходимым для участия в исследовании. Врач задавал вопросы, касающиеся истории заболевания, демографических данных (возраст и т.п.), состояния здоровья в настоящее время и лекарств, которые принимает пациент. Кроме того, врач-исследователь полностью проводил оценку состояния уровня здоровья. Были проведены следующие исследования: общий анализ крови, общий анализ мочи, биохимическое исследование крови, исследование свертывающих показателей крови, ЭКГ, ультразвуковое исследование сердца и УЗИ брахиоцефальных и почечных артерий.

Результаты первого визита использовались при решении вопроса о возможности участия в данном исследовании.

Если состояние пациента соответствовало критериям, необходимым для участия в исследовании, то проводился забор крови на уровень мтДНК и проба реактивной гиперемии (эндотелиальной дисфункции).

Период лечения

Лечение было строго стационарное с постоянным контролем лечащего врача и врача-исследователя. Лечение было стандартным в соответствии с ТППГ.

Заключительный визит

После выздоровления пациенту повторно бралась кровь на уровень мтДНК, МВ-КФК, липидограмма и была сделана проба реактивной гиперемии. Необходимости в наблюдении лечащего врача и/или врача-исследователя стационара после выписки не было. Однако если у пациента изменялось самочувствие, он мог в любое время обратиться к лечащему врачу и/или врачу-исследователю для соответствующей консультации.

Возможный риск и польза от участия в исследовании

При участии в данном исследовании, состояние пациента тщательно контролировалось. Предполагалось, что благодаря участию в исследовании, состояние пациента улучшится, а данные работы могут помочь в разработке методов диагностики и лечения для людей, страдающих подобными заболеваниями. Вместе с тем, все методы лечения потенциально могут сопровождаться развитием неблагоприятных проявлений. Все процедуры в рамках данного наблюдательного исследования хорошо известны и решены к проведению в обычной медицинской практике. Единственное отличие от обычного обследования состояло в дополнительном заборе крови для оценки уровня мтДНК и проведении углубленного УЗИ с оценкой сосудистого русла, которое проводилось после того, как пациент давал свое согласие на участие в этом исследовании вместе с пробой крови для общепринятого обследования.

Расчётная длительность исследования

Каждый пациент был включен в исследование на трое суток, в первые двое суток (исходный период) выполняли лабораторные и ультразвуковые исследования, затем проводили лечение в рамках ТППГ (10-13 дней) по утвержденным федеральным стандартам, после чего в рамках поискового научного клинического исследования выполняли контрольные лабораторные и ультразвуковые исследования (заключительный визит).

Регуляторные обязательства

Данное поисковое наблюдательное клиническое исследование проведено в соответствии с Хельсинской декларацией Всемирной ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2000 г. и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом Минздравсоцразвития РФ № 266 от 19.06.2003 г., по разработанному протоколу.

Экспертный совет организации (ЭСО) / Независимый комитет по этике (НЭК)

Пакет документов, включающий текст протокола наблюдательного клинического исследования, форму информированного согласия, отказа от исследования и индивидуальная регистрационная карта пациента, одобрены Комитетом по биомедицинской этике ИНИЦ СО РАН (протокол №5 от 29 июня 2015 года с поправками от 23.01. 2017 года (протокол заседания КМБЭ №17)

Результаты и обсуждение

В таблице 2 представлены клинические характеристики участвующих в поисковом исследовании пациентов. Как видно из таблицы 2, медиана возраста пациентов с ИБС приходилась на 58,5 (54,0; 64,0) лет, при этом соотношение мужчин и женщин было 57 % к 43 %. Большая часть из пациентов страдала избыточной массой тела (71 %) и курили во время исследования (64%). Положительная проба реактивной гиперемии до лечения встречалась гораздо чаще (64 %), чем после лечения (36 %).

Таблица 2

Клиническая характеристика групп

	Пациенты, страдающие ИБС,
Возраст, лет (медиана, Q25;Q75)	58,5(54,0; 64,0)
Пол: мужчины (% ± средняя квадратическая ошибка %)	8(57,0±3,8%)
женщины (% ± средняя квадратическая ошибка %)	6(43,0±3,8%)
ИМТ более 25кг/м ²	10 (71,0±3,5%)
Курение: (% ± средняя квадратическая ошибка %) Курил-бросил курит	1(7±2%) 9(64±3,7%)
СД 2 тип (% ± средняя квадратическая ошибка %)	1(7±2%)
Дислипидемия (% ± средняя квадратическая ошибка %) До лечения	7 (50±3,8%)
После лечения	8(57,0±3,8%)
КФК –МВ (% ± средняя квадратическая ошибка %) До лечения	2 14±2,7%)
После лечения	1(7±2,%)
Проба реактивной гиперемии (% ± средняя квадратическая ошибка %) До лечения	9(64±3,7%)
После лечения	5 36±3,7%)

Проанализирована динамика уровня свободно циркулирующей мтДНК крови в группах пациентов до начала и после завершения лечения. Уровень концентрации уровня мтДНК (Медиана; Q25; Q75) до лечения и после лечения значительно отличаются - 388000,0 копий/мл (159 000; 1 300 000) против 303 000 (134 000; 640 000) копий/мл соответственно (p=0.02). Данные описательной статистики представлены в таблице 3.

Таблица 3

Данные описательной статистики уровня мтДНК

	После лечения концентрация мтДНК, копий/мл	До лечения концентрация мтДНК, копий/мл
Медиана	303000	388000
Миним.	10600	17400
Макс.	1300000	820000
25,000 - %	134000	159000,0
75,000 - %	640000	1300000
Раз мах	1289400	8182600
Квартиль - Размах	506000	1141000
Сумма	20902300	54684300

Рисунок 1. Показатели концентрации мтДНК до и после лечения.

Рисунок 1 иллюстрирует значимое изменение концентрации мтДНК до начала и после завершения лечения субъектов исследования ($p=0,02$). Уровень свободно циркулирующей мтДНК у мужчин был статистически значимо выше ($p=0,03$) чем у женщин до начала лечения. После завершения лечения статистическая значимость различий исчезала (рис.2).

Рисунок 2. Изменение уровня мтДНК до начала и после завершения лечения в зависимости от пола.

Рисунок 3. Уровень мтДНК до и после лечения среди мужчин и женщин.

В отличие от женщин, уровень мтДНК у мужчин статистически значимо ($p=0,03$) снижается после лечения (рис.3). Выявлены статистически значимые различия показателей уровня мтДНК до и после лечения в зависимости от серии определения (рис.4); $p=0,0010$ по ранговому критерию Краскела-Уоллиса.

Закключение

Представленные данные, полученные в результате первого этапа поискового исследования, не позволяют опровергнуть гипотезу о том, что существуют различия в концентрации мтДНК до и после лечения у пациентов кардиологического профиля, а также в группах мужчин и женщин, но полученные доказательства очень слабые в силу методических погрешностей аналитического этапа и организации получения данных. Для исключения этих погрешностей необходимо попарное определение уровня мтДНК в сыворотке крови до и после лечения, причем ослепление должно быть за счет непоследовательной нумерации пробирок в кластерах (например, предоставляем по 12 пробирок в серии, из них 6 до и 6 после, пробирки пронумерованы от 1 до 12, но образцы расставлены в них не последовательно). Для проведения дальнейших иссле-

Таблица 5

Тест 6-минутной ходьбы

Функциональный класс ХСН по NYHA	Дистанция, пройденная в течение 6 мин, м
0	>551
I	426-550
II	301-425
III	151-300
IV	<150

Рисунок 4. Уровень мтДНК до и после лечения в зависимости от серии определения (постановки пробы).

дований разработаны таблицы кластерной рандомизации (по согласованию с вендором, компанией Юнилаб, размер кластера определен в 10 попарных определений) и журналы для записей образцов. Для рациональной работы и возможности корректировки планов поискового научного исследования определение уровня мтДНК необходимо проводить в течение года, а не один раз в год.

Для дальнейшей успешной работы и оценки эффективности лечения внесены поправки в протокол НИР и утверждены на заседании Комитета по биомедицинской этике ИНЦ СО РАН - процедура комплексной оценки проводимого лечения у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями.

В соответствии с этими поправками пациентам с ИБС при поступлении в стационар и после проведенного лечения будут оцениваться:

- частота ангинозных приступов по 5-ти бальной шкале (0-нет симптома, 1 балл-один приступ, 2 балла - от 2 до 3 приступов, 3 балла - от 4 до 5 приступов, 4 балла- более 5 приступов за сутки);
- функциональный класс ХСН по тесту 6-минутной ходьбы (табл.5).

На заключительном визите будет проводиться оценка результатов по регрессу клинических симптомов после лечения в баллах:

Рассматриваются 3 варианта регресса симптоматики:

1 группа - пациенты с недостаточным клиническим эффектом - при регрессе клинических симптомов на 1 балл;

2 группа - пациенты с умеренным клиническим улучшением - при регрессе клинических симптомов на 2 балла;

3 группа - пациенты с очень хорошим клиническим эффектом - при регрессе клинических симптомов на 3 и более баллов.

Поправки в протокол исследования были утверждены на заседании Комитета по биомедицинской этике ИНЦ СО РАН (протокол №17 от 23.01.2017)

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов. Работа выполняется в рамках государственного задания №007-0129-16ПР1).

Литература

1. Ricci F, De Caterina R. Isolated creatine kinase-MB rise with normal cardiac troponins: a strange occurrence with difficult interpretation. *The Journal of cardiovascular medicine*. 2011; 12:736-40.
2. Судаков НП, Никифоров СБ, Константинов ЮМ, Клименков ИВ, Новикова МА, Лепехова СА. Роль перекисно-модифицированных липопротеидов в механизмах развития митохондриальной дисфункции сосудов при атерогенезе. *Бюллетень ВСНЦ СО РАМН*. 2008; 4:85-9.
3. Судаков НП, Клименков ИВ, Попкова ТП, Никифоров СБ, Гольдберг ОА, Лепехова СА, Апарцин КА, Катышев АИ, Константинов ЮМ. Ранние этапы развития атеросклероза и уровень свободно циркулирующей митохондриальной ДНК крови при экспериментальной дислипидемии. *Атеросклероз*. 2015; 11(3): 15-21.
4. Судаков НП, Попкова ТП, Катышев АИ, Гольдберг ОА, Новикова МА, Ежикеева СД, Тен МН, Никифоров СБ, Пушкарев БГ, Клименков ИВ, Лепехова СА, Константинов ЮМ. Уровень свободно циркулирующей

митохондриальной ДНК крови при дислипотеидемии и адреналиновом миокардите (экспериментальное исследование). *Известия ИГУ. Серия «Биология. Экология»*. 2011;4(4):136-42.

5. Судаков НП, Попкова ТП, Новикова МА, Катышев АИ, Никифоров СБ, Пушкарёв БГ, Гольдберг ОА, Клименков ИВ, Лепехова СА, Апарцин КА, Ежикеева СД, Тен МН, Константинов ЮМ. Взаимосвязь уровня свободно циркулирующей митохондриальной ДНК крови с активностью маркеров цитолиза при экспериментальной острой мелкоочаговой ишемии миокарда. *Сибирский медицинский журнал*. 2013;5:83-6.

6. Судаков НП, Попкова ТП, Катышев АИ, Гольдберг ОА, Никифоров СБ, Пушкарёв БГ, Клименков ИВ, Лепехова СА, Апарцин КА, Невинский ГА, Константинов ЮМ. Уровень свободно циркулирующей митохондриальной ДНК крови как новый биомаркер острой ишемии миокарда. *Биохимия*. 2016;81(1):78-84.

7. Судаков НП, Попкова ТП, Катышев АИ, Гольдберг ОА, Никифоров СБ, Пушкарёв БГ, Клименков ИВ, Лепехова СА, Апарцин КА, Невинский ГА, Константинов ЮМ. Уровень циркулирующей митохондриальной ДНК в качестве нового биомаркера острой ишемии миокарда. *Биохимия*. 2015;80(10):1387-92.

8. Zhang Q, Raoof M, Chen Y, Sumi Y, Sursal T, Junger W, Brohi K, Itagaki K, Hauser CJ. Circulating mitochondrial DAMPs cause inflammatory responses to injury. *Nature*. 2010; 464: 104-7.

9. Ellinger J, Müller SC, Wernert N, von Ruecker A, Bastian PJ. Mitochondrial DNA in serum of patients with prostate cancer: a predictor of bio-chemical recurrence after prostatectomy. *BJU Int*. 2008;102:628-32.

10. Nakahira K, Kyung SY, Rogers AJ, Gazourian L, Youn S, Massaro AF, Quintana C, Osorio JC, Wang Z, Zhao Y, Lawler LA, Christie JD, Meyer NJ, Mc Causland FR, Waikar SS, Waxman AB, Chung RT, Bueno R, Rosas IO, Fredenburgh LE, Baron RM, Christiani DC, Hunninghake GM, Choi AM. Circulating Mitochondrial DNA in Patients in the ICU as a Marker of Mortality: Derivation and Validation. *PLoS Medical*. 2013;10.-e1001577.DOI: 10.1371/journal.pmed.1001577.

11. Simmons JD, Lee YL, Mulekar S, Kuck JL, Brevard SB, Gonzalez RP, Gillespie MN, Richards WO. Elevated levels of plasma mitochondrial DNA DAMPs are linked to clinical outcome in severely injured human subjects. *Annals of Surgery*. 2013;258(4): 591-6. discussion 596-8. DOI: 10.1097/SLA.

12. Gu X, Yao Y, Wu G. The plasma mitochondrial DNA is an independent predictor for post-traumatic systemic inflammatory response syndrome. *PLoS One*. 2013;8(8): P.e72834. DOI: 10.1371/journal.pone.0072834. eCollection

2013; PubMed PMID: 23977360; PubMed Central PMCID: PMC3748121.

13. Апарцин КА, Григорьев ЕГ. Перспективы трансляционных исследований в Иркутском научном центре/ XIX междунар. Конгресс хирургов-гепатологов стран СНГ «Актуальные проблемы хирургической гепатологии»: Сборник материалов. Иркутск, 19-21 сент. 2012: 250.

14. Киреева ВВ, Апарцин КА. Фармакогенетическое тестирование как метод исследования трансляционной медицины. Материалы междунар. науч.-практ. конф. «Наука в современном информационном обществе», 3-4 апреля 2013; М.: 80-82.

15. Выбиванцева АВ, Апарцин КА. Трансляционные исследования эффективности антикоагулянтной терапии. Материалы междунар. науч.-практ. Конф. «Фундаментальная наука и технологии - перспективные разработки», 22-23 мая 2013; М.: 38-41.

16. Киреева ВВ, Лифшиц ГИ, Апарцин КА. Трансляционные исследования факторов толерантности к повреждению сосудистой стенки и ее регенераторного потенциала. Материалы междунар. науч.-практ. конф. «Наука в современном информационном обществе», 28-29 августа 2014; North Charleston, USA: 42-44].

References

1. Ricci F, De Caterina R. Isolated creatine kinase-MB rise with normal cardiac troponins: a strange occurrence with difficult interpretation. *The Journal of cardiovascular medicine*. 2011; 12:736-40.

2. Sudakov NP, Nikiforov SB, Konstantinov Yu.M. Klimenkov IV, Novikova MA, Lepekhova SA. The role of other peroxide-modified lipoproteins in the mechanisms of mitochondrial dysfunction in vascular atherogenesis. *Bulletin ESSC SB RAMS*. 2008;4:85-9. (In Russian).

3. Sudakov NP, Klimenko IV, Popkova TP, Nikiforov SB, Gol'dberg OA, Lepekhova SA, Apartsin KA, Katyshev AI, Konstantinov YuM. The early stages of the development of atherosclerosis and the level of free circulating blood mitochondrial DNA in experimental dyslipidemia. *Atherosclerosis*. 2015;11(3):15-21. (In Russian).

4. Sudakov NP, Popkova TP, Katishev AI, Gol'dberg OA, Novikova MA, Ezhikeeva SD, Ten MN, Nikiforov SB, Pushkarev BG, Klimenkov IV, Lepekhova SA, Konstantinov YuM. The level of free circulating blood mitochondrial DNA at dyslipidemia and adrenaline myocarditis (experimental research). *Bulletin of Irkutsk State University. A series of «Biology. Ecology»*. 2011;4 (4):136-42. (In Russian).

5. Sudakov NP, Popkova TP, Novikova MA, Katyshev AI, Nikiforov SB, Pushkarev BG, Gol'dberg OA, Klimenkov IV, Lepekhova SA, Apartsin KA, Ezhikeeva SD, Ten MN, Konstantinov YuM. Relationship level freely circulating blood

mitochondrial DNA activity cytolysis markers in experimental acute myocardial ischemia melkoochagovogo. *Siberian journal of Medicine*. 2013; 5: 83-6. (In Russian).

6. Sudakov NP, Popkova TP, Katishev AI, Gol'dberg OA, Nikiforov SB, Pushkarev BG, Klimenkov IV, Lepekhova SA, Apartsin KA, Nevinskii GA, Konstantinov YuM. The level of free circulating blood mitochondrial DNA as a new biomarker in acute myocardial ischemia. *Biochemistry*. 2016; 81 (1): 78-84. (In Russian)

7. Sudakov NP, Popkova TP, Katyshev AI, Gol'dberg OA, Nikiforov SB, Pushkarev BG, Klimenkov IV, Lepekhova SA, Apartsin KA, Nevinskii GA, Konstantinov YuM. Level of blood cell-free circulating mitochondrial DNA as a novel biomarker of acute myocardial ischemia. *Biochemistry* (Moscow). 2015; 80(10): 1387-92. (In Russian).

8. Zhang Q, Raoof M, Chen Y, Sumi Y, Sursal T, Junger W, Brohi K, Itagaki K, Hauser CJ. Circulating mitochondrial DAMPs cause inflammatory responses to injury. *Nature*. 2010; 464: 104-7.

9. Ellinger J, Müller SC, Wernert N, von Ruecker A, Bastian PJ. Mitochondrial DNA in serum of patients with prostate cancer: a predictor of bio-chemical recurrence after prostatectomy. *BJU Int*. 2008; 102: 628-32.

10. Nakahira K, Kyung SY, Rogers AJ, Gazourian L, Youn S, Massaro AF, Quintana C, Osorio JC, Wang Z, Zhao Y, Lawler LA, Christie JD, Meyer NJ, Mc Causland FR, Waikar SS, Waxman AB, Chung RT, Bueno R, Rosas IO, Fredenburgh LE, Baron RM, Christiani DC, Hunninghake GM, Choi AM. Circulating Mitochondrial DNA in Patients in the ICU as a Marker of Mortality: Derivation and Validation. *PLoS Medical*. 2013; 10.-e1001577. DOI: 10.1371/journal.pmed.1001577.

11. Simmons JD, Lee YL, Mulekar S, Kuck JL, Brevard SB, Gonzalez RP, Gillespie MN, Richards WO. Elevated levels of plasma mitochondrial DNA DAMPs are linked to clinical outcome in severely injured human subjects. *Annals of Surgery*. 2013; 258(4): 591-6. discussion 596-8. DOI: 10.1097/SLA.

12. Gu X, Yao Y, Wu G. The plasma mitochondrial DNA is an independent predictor for post-traumatic systemic inflammatory response syndrome. *PLoS One*. 2013; 8(8): P.e72834. DOI: 10.1371/journal.pone.0072834. eCollection 2013; PubMed PMID: 23977360; PubMed Central PMCID: PMC3748121.

13. Apartsin KA, Grigoriev EG. Prospects for translational research at the Irkutsk Scientific Center of the XIX. Intern. Congress of surgeons-hepatologists of CIS "Actual problems of surgical hepatology": Collection of materials. Irkutsk, 19-21 September. 2012; S250. (In Russian).

14. Kireeva VV, Apartsin KA. Pharmacogenetic testing as a method of investigation of translational medicine. *Materials Intern. scientific-practical. Conf. "Science in the modern information society"*, April 3-4, 2013; M.: 80-82. (In Russian).

15. Vybiyantseva AV, Apartsin KA. Translational research on the effectiveness of anticoagulant therapy. *Materials Intern. scientific-practical. Conf. "Basic science and technology - promising development"*, 22-23 May 2013; M: 38-41. (In Russian).

16. Kireeva VV, Lifshitz GI, Apartsin KA. Translational research tolerance factors in damage to the vessel wall and its regenerative potential. *Materials Intern. scientific-practical. Conf. "Science in the modern information society"*, 28-29 August 2014; North Charleston, USA: 42-44. (In Russian).

Сведения об авторах

Киреева Виктория Владимировна, Больница Иркутского научного центра Сибирского отделения Российской академии наук; адрес: Российская Федерация, 664033, Иркутск, ул. Лермонтова, г. 283В; Иркутский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук; адрес: Российская Федерация, 664033, Иркутск, ул. Лермонтова, 134; тел.: +7(902)5167132; e-mail: ms.kireevav@mail.ru

Усольцев Юрий Константинович, Больница Иркутского научного центра Сибирского отделения Российской академии наук; адрес: Российская Федерация, 664033, Иркутск, ул. Лермонтова, г. 283В; тел.: +7(3952)424582; e-mail: uku-inc2011@mail.ru

Лифшиц Галина Израилевна, Иркутский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук; адрес: Российская Федерация, 664033, Иркутск, ул. Лермонтова, 134; тел.: +7 (913) 907-16-19; e-mail: gl62@mail.ru

Лепехова Светлана Александровна, Иркутский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук; адрес: Российская Федерация, 664033, Иркутск, ул. Лермонтова, 134; тел.: +7(964)3560185; e-mail: lepekhova_sa@mail.ru

Кожевникова Елена Евгеньевна, Больница Иркутского научного центра Сибирского отделения Российской академии наук; адрес: Российская Федерация, 664033, Иркутск, ул. Лермонтова, г. 283В; тел.: +7(914)8945589; e-mail: kozhevnikova_ee@mail.ru

Апартсин Константин Анатольевич, Иркутский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук; адрес: Российская Федерация, 664033, Иркутск, ул. Лермонтова, 134; тел.: +7(902)5767839; e-mail: dr.apartsin@yahoo.com

Information about the authors

Kireeva Viktoria Vladimirovna, Hospital of the Irkutsk Scientific Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences; Address: 283 «V», Lermontov Str., Irkutsk, Russian Federation 664033; Scientific Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences; Address: 134, Lermontov Str., Irkutsk, Russian Federation 664033; Phone +7(902)5167132; e-mail: ms.kireevav@mail.ru

Usoltzev Yuri Konstantinovich, Hospital of the Irkutsk Scientific Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences; Address: 283 «V», Lermontov Str., Irkutsk, Russian Federation 664033; Phone: +7(3952)424582; e-mail: uku-inc2011@mail.ru

Lifshits Galina Israilevna, Irkutsk Department of Scientific Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences; Address: 134, Lermontov Str., Irkutsk, Russian Federation 664033; Phone: +7 (913) 907-16-19; e-mail: gl62@mail.ru

Lepekhova Svetlana Alexandrovna, Irkutsk Department of Scientific Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences; Address: 134, Lermontov Str., Irkutsk, Russian Federation 664033; Phone: +7(964)3560185; e-mail: lepekhova_sa@mail.ru

Kozhevnikova Elena Evgenyevna, Hospital of the Irkutsk Scientific Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences; Address: 283 «V», Lermontov Str., Irkutsk, Russian Federation 664033; Phone: +7(914)8945589; e-mail: kozhevnikova_ee@mail.ru

Apratsin Konstantin Anatolievich, Irkutsk Department of Scientific Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences; Address: 134, Lermontov Str., Irkutsk, Russian Federation 664033; Phone: +7(902)5767839; e-mail: dr.apartsin@yahoo.com

Поступила 03.03.2017 г.

Принята к печати 11.08.2017 г.