



Свободно циркулирующая ДНК у больных артериальной гипертензией с высоким сердечно-сосудистым риском

Трофимова Е. А.¹, Киреева В. В.^{1,2}, Усольцев Ю. К.¹, Кирильчик С. В.³, Лепехова С. А.², Апарцин К. А.²

Цель. Оценка уровня свободно циркулирующей ядерной ДНК (ядДНК) и митохондриальной ДНК (мтДНК) у пациентов с артериальной гипертензией и высоким сердечно-сосудистым риском (ССР).

Материал и методы. В исследование включены 70 пациентов, из которых 51 пациент с артериальной гипертензией (АГ) и 19 практически здоровых. Исследование уровня свободно циркулирующей ядДНК и мтДНК проведено методом количественной полимеразной цепной реакции. Дополнительно анализировали демографические данные, сопутствующие заболевания, факторы риска, наследственность, результаты общего и биохимического анализа крови, электрокардиографии и эхокардиографии.

Результаты. Уровень ядДНК у пациентов с АГ статистически значимо выше, чем у условно здоровых пациентов: Me (LQ; UQ) — 227 (110; 370) копий/мл и 88 (62; 116) копий/мл, соответственно ($p < 0,0001$). У больных АГ с очень высоким ССР уровень ядДНК и мтДНК существенно выше по сравнению с условно здоровыми пациентами: 294 (154; 489) копий/мл vs 88 (62; 116) копий/мл, $p < 0,0001$; 56731 (42531; 129375) копий/мл vs 35156 (18325; 54956) копий/мл, $p = 0,015$.

Заключение. Уровень свободно циркулирующей ДНК у больных АГ с очень высоким ССР достоверно повышается, в связи с чем данный показатель может быть маркером ССР.

Ключевые слова: артериальная гипертензия, свободно циркулирующая ДНК, ядерная ДНК, митохондриальная ДНК, сердечно-сосудистый риск.

Отношения и деятельность: нет.

¹ФГБУЗ Клиническая Больница Иркутского научного центра Сибирского отделения Российской академии наук, Иркутск; ²ФГБУН Иркутский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук, Иркутск; ³ГБУЗ Областной онкологический диспансер, Иркутск, Россия.

Трофимова Е. А.* — к.м.н., зам. главного врача, ORCID: 0000-0001-6629-0168, Киреева В. В. — к.м.н., зам. главного врача, с.н.с. ФГБУН ИНЦ СО РАН, ORCID: 0000-0003-3696-9799, Усольцев Ю. К. — к.м.н., главный врач, ORCID: 0000-0002-2826-5911, Кирильчик С. В. — к.б.н., биолог клинико-диагностической лаборатории, ORCID: 0000-0002-9997-6294, Лепехова С. А. — д.б.н., зав. отделом медико-биологических исследований и технологий, ORCID: 0000-0002-7961-4421, Апарцин К. А. — д.м.н., профессор, директор ФГБУН Иркутского научного центра Сибирского отделения Российской академии наук, ORCID: 0000-0003-0577-9001.

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author): tea.med@mail.ru

АГ — артериальная гипертензия, мтДНК — митохондриальная ДНК, ПЦР — полимеразная цепная реакция, ССР — сердечно-сосудистый риск, ядДНК — ядерная ДНК.

Рукопись получена 01.10.2021

Рецензия получена 16.12.2021

Принята к публикации 04.01.2022



Для цитирования: Трофимова Е. А., Киреева В. В., Усольцев Ю. К., Кирильчик С. В., Лепехова С. А., Апарцин К. А. Свободно циркулирующая ДНК у больных артериальной гипертензией с высоким сердечно-сосудистым риском. *Российский кардиологический журнал*. 2022;27(4):4709. doi:10.15829/1560-4071-2022-4709. EDN CUWNUQ

Circulating free DNA in hypertensive patients with high cardiovascular risk

Trofimova E. A.¹, Kireeva V. V.^{1,2}, Usoltsev Yu. K.¹, Kirilchik S. V.³, Lepekhova S. A.², Apartsin K. A.²

Aim. To evaluate the level of circulating free nuclear DNA (nDNA) and mitochondrial DNA (mtDNA) in hypertensive patients with high cardiovascular risk.

Material and methods. The study included 70 patients, of which 51 were patients with hypertension (HTN) and 19 were healthy. The study of the level of circulating free nDNA and mtDNA was carried out using quantitative polymerase chain reaction (PCR). Additionally, demographic data, comorbidities, risk factors, heredity, results of complete blood count and biochemical blood tests, electrocardiography and echocardiography were analyzed.

Results. The level of nDNA in HN patients was significantly higher than in healthy patients: Me (LQ; UQ) — 227 (110; 370) copies/mL and 88 (62; 116) copies/mL, respectively ($p < 0,0001$). In hypertensive patients with a very high cardiovascular risk, the level of nDNA and mtDNA was significantly higher compared to healthy participants: 294 (154; 489) copies/mL versus 88 (62; 116) copies/mL, $p < 0,0001$; 56731 (42531; 129375) copies/mL versus 35156 (18325; 54956) copies/mL, $p = 0,015$.

Conclusion. The level of circulating free DNA in hypertensive patients with very high cardiovascular risk is significantly increased, and therefore this parameter can be a cardiovascular risk marker.

Keywords: hypertension, circulating free DNA, nuclear DNA, mitochondrial DNA, cardiovascular risk.

Relationships and Activities: none.

¹Clinical Hospital of the Irkutsk Scientific Center, Irkutsk; ²Irkutsk Scientific Center, Irkutsk; ³Regional Oncology Dispensary, Irkutsk, Russia.

Trofimova E. A.* ORCID: 0000-0001-6629-0168, Kireeva V. V. ORCID: 0000-0003-3696-9799, Usoltsev Yu. K. ORCID: 0000-0002-2826-5911, Kirilchik S. V. ORCID: 0000-0002-9997-6294, Lepekhova S. A. ORCID: 0000-0002-7961-4421, Apartsin K. A. ORCID: 0000-0003-0577-9001.

*Corresponding author: tea.med@mail.ru

Received: 01.10.2021 **Revision Received:** 16.12.2021 **Accepted:** 04.01.2022

For citation: Trofimova E. A., Kireeva V. V., Usoltsev Yu. K., Kirilchik S. V., Lepekhova S. A., Apartsin K. A. Circulating free DNA in hypertensive patients with high cardiovascular risk. *Russian Journal of Cardiology*. 2022;27(4):4709. doi:10.15829/1560-4071-2022-4709. EDN CUWNUQ

Артериальная гипертензия (АГ) — распространенное заболевание, и ее осложнения являются основной причиной смертности населения [1]. Одним из направлений улучшения результатов лечения АГ является поиск предикторов течения заболевания, в качестве которого может выступать уровень внеклеточной митохондриальной ДНК (мтДНК) [2]. Активация TLR9-зависимого пути воспаления за счет свободно циркулирующей мтДНК результируется миокардитом или кардиомиопатией при развитии хронических неинфекционных заболеваний, таких как атеросклероз, метаболический синдром и сахарный диабет [2, 3].

Ранее нами были показаны предикторные свойства свободно циркулирующей мтДНК при хронической ишемии миокарда в отношении прогнозирования течения заболевания и эффективности проводимой терапии [4, 5].

В настоящее время патогенетическая роль внеклеточной ДНК при кардиоваскулярной патологии мало изучена, особенно взаимосвязь свободно циркулирующих ядерной ДНК (ядДНК) и мтДНК крови.

Цель исследования: оценить уровень свободно циркулирующей ядДНК и мтДНК у пациентов с АГ в зависимости от сердечно-сосудистого риска (ССР).

Материал и методы

В одноцентровое наблюдательное исследование на базе ФГБУЗ Больницы Иркутского научного центра Сибирского отделения Российской академии наук за период 2020г были включены 70 пациентов, из которых сформированы две группы. Группа 1, n=51, пациенты с АГ в возрасте (Me (LQ; UQ)) 58 (51; 62) лет и группа 2, n=19, условно здоровые добровольцы, у которых отсутствовала АГ и сопутствующие заболевания в возрасте 44 (37; 51) лет.

Протокол исследования одобрен Комитетом по биомедицинской этике Иркутского научного центра Сибирского отделения РАН (протокол № 5 от 29 июня 2015г с поправками от 23.01.2017г протокол № 17; протокол № 57-1 от 01 марта 2021г). Исследование выполнено в рамках бюджетной темы по Государственному заданию № 0386-2020-0004. Все пациенты подписали Информированное согласие на обследование и обработку данных в рамках научного исследования. Критерии включения в группу 1: мужчины или женщины в возрасте от 18 до 80 лет; наличие подписанного информированного согласия субъекта на участие в наблюдательном исследовании; диагноз АГ (эссенциальная). Критерии невключения в исследование: сердечная недостаточность ПБ-III стадии по классификации Василенко-Стражеско или III-IV функционального класса по Нью-Йоркской ассоциации сердца (NYHA); хронические заболевания печени и/или повышение уровня аланинаминотрансферазы свыше 2 верхних границ нормы или уровня общего билирубина более чем в 1,5 раза выше верхней грани-

цы нормы, либо вирусный гепатит В или С в анамнезе или другие отклонения со стороны печени, которые, по мнению исследователя, препятствуют участию в исследовании; тяжелые нарушения функции почек; активная форма туберкулеза, вирус иммунодефицита человека, оппортунистические инфекции или инфекции, угрожающие жизни; системные заболевания соединительной ткани; злокачественные новообразования; идиопатические кардиомиопатии (дилатационная и гипертрофическая), миокардиты, эндокардиты, врожденные и приобретенные пороки сердца; злоупотребление алкоголем и психоактивными веществами; тиреотоксикоз, гипотиреоз средней и тяжелой степени; трансплантация любого органа в анамнезе или запланированная трансплантация органа; заболевания крови, в т.ч. анемии средней и тяжелой степени; беременность и ранний послеродовый период; любые медицинские состояния, включая активную клинически значимую инфекцию, которые, по мнению исследователя, способны повлиять на результаты оценок или препятствовать участию в исследовании.

Всем пациентам при включении проведена оценка демографических данных (возраст, пол, расовая и этническая принадлежность), длительности заболевания АГ, наличия сопутствующих заболеваний, факторов риска, наследственности, антропометрических показателей с последующим расчётом индекса массы тела, объективный осмотр (особое внимание уделено показателям сердечно-сосудистой системы, определению частоты пульса, артериального давления), забор крови в утренние часы натощак. Всем субъектам выполнено лабораторное (общий и биохимический анализ крови, общий анализ мочи, скорость клубочковой фильтрации, микроальбуминурия) и инструментальное обследование, включая рентгенографию органов грудной клетки, электрокардиографию, ультразвуковое исследование почек, исследование глазного дна, эхокардиографию.

Для определения уровня свободно циркулирующей ядДНК и мтДНК образцы крови в вакуумных пробирках с ЭДТА центрифугировали при 800 г в течение 10 мин. Плазму отбирали, оставляя ~5 мм до лейкоцитарного слоя, и переносили в другую пробирку. После этого отобранную плазму центрифугировали повторно при 2000 г в течение 30 мин. Надосадочную плазму переносили в чистую пробирку. Выделение мтДНК проводили из 800 мкл плазмы с использованием набора DNeasy Blood & Tissue Kit (QIAGEN). Непосредственно перед началом выделения в плазму добавляли 1 мкг соосадителя Carrier RNA (poly A) (QIAGEN). Выделение проводили в соответствии с протоколом производителя, увеличив объем растворов пропорционально объему плазмы.

Уровень свободно циркулирующей ядДНК и мтДНК определяли с использованием метода количественной полимеразной цепной реакции (ПЦР)

Таблица 1
Общая и клиническая характеристика группы 1

Показатель	Группа 1 n=51
Возраст, лет	58 (51; 62)
Мужчины/женщины	51(17,65)/51(82,35)
ИМТ, кг/м ²	29,5 (25,0; 33,0)
Отягощенная наследственность по АГ, n (%)	38 (74,5)
Наличие сопутствующих заболеваний, n (%)	26 (50,98)
ИБС, n (%)	7 (13,7)
СД, n (%)	7 (13,7)
Ожирение, n (%)	21 (41,2)
БА, n (%)	1 (1,96)

Примечание: данные представлены как Ме (Q25; Q75), n (%).

Сокращения: АГ — артериальная гипертензия, БА — бронхиальная астма, ИБС — ишемическая болезнь сердца, ИМТ — индекс массы тела, СД — сахарный диабет.

с использованием автоматического анализатора LightCycler® 96 (Roche). Для амплификации маркера мтДНК использовали фрагмент контрольного региона мтДНК с праймерами FmtMinArc 5'-СТАААТАGCCCACACGTTCCC-3' и RmtMinArc 5'-AGAGCTCCCGTGAGTGGTTA-3' [6]. В качестве ядерного маркера (ядДНК) использовали фрагмент гена *Kras* с праймерами Kr(92)F 5'-TTATAAGGCCTGCTGAAAATGACTGAA-3' Kr(92)R 5'-TGAATTAGCTGTATCGTCAAGGCACT-3' [7]. ПЦР проводили в 50 мкл реакционной смеси. В качестве интеркалирующего красителя использовали EvaGreen® (Biotium). Реакционная смесь содержала 1 ед. полимеразы Tersus (Evrogen, Россия), 1 × Tersus Plus буфер, 200 нМ каждого праймера, 200 мкМ dNTP, 0,5 × EvaGreen. Поскольку количество копий мтДНК в клетке может в несколько тысяч раз превышать копии ядДНК, в реакцию с *Kras* праймерами брали в 10 раз больше раствора ДНК, чем с праймерами mtMinArc (40 и 4, соответственно). В качестве стандарта была подготовлена серия десятикратных разведений ДНК, выделенной из крови анонимного донора. В каждую смесь стандарта добавляли 10 мкл ДНК. Расчет концентраций стандарта проводили следующим образом. Максимальное разведение стандарта, позволяющее получить положительный сигнал мтДНК, принимали за 1 копию. Десятикратные разведения стандарта, таким образом, готовили от 0 (нет амплификации) до 10⁵ копий мтДНК. В соответствии с полученными данными по копийности мтДНК стандарта проводились расчеты копийности ядДНК для тех же смесей стандарта. Все реакции ПЦР, включая стандарты, проводили в двух повторах. Специфичность ампликонов подтверждали секвенированием и проверяли в конце каждой серии циклирования анализом кривых плавления. Протокол ПЦР был следующим: предварительная денатурация 95° С 3 мин; 4 цикла 95° С 15 сек, 64–60° С 15 сек в режиме touchdown с ша-

гом -1° С, 72° С 20 сек; 45 циклов 95° С 10 сек, 60° С 15 сек, 72° С 20 сек; плавление 65–95° С. Результат выражали в количестве копий свободно циркулирующей ядДНК и мтДНК на 1 мл крови.

У пациентов первой группы проведена оценка степени и стадии АГ, расчет ССР по шкале SCORE, согласно Клиническим рекомендациям “Артериальная гипертензия у взрослых. Код по МКБ 10: I10/I11/I12/I13/I15. Возрастная группа: взрослые. Год утверждения: 2020”.

Статистический анализ проводили при помощи программы Statistica 10 (StatSoft Inc., США). Для определения соответствия выборочной совокупности данных нормальному закону распределения данных использовали тест Шапиро-Уилка. В качестве описательной статистики для переменных с количественными данными использовали медиану и интерквартильный размах Ме (LQ; UQ). При анализе межгрупповых различий применяли непараметрический критерий Манна-Уитни, Kruskal-Wallis ANOVA by Ranks, Multiple Comparisons (2-tailed). Различия в частотах были проверены с помощью теста χ^2 (или одностороннего точного критерия Фишера и z-критерия). Анализ связи между параметрами проводился с использованием ранговой корреляции Спирмена. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

По стадии гипертонической болезни распределились: I (не осложненная) — 19 (37%), II (бессимптомная) — 26 (51%), III (осложненная) — 6 (12%). Учитывая, что с низким ССР был один пациент, для статистической обработки он объединен с группой умеренного риска. Таким образом, низкий и умеренный риск был установлен у 12 (24%) пациентов, высокий риск — 24 (47%), очень высокий риск — 15 (29%).

В группе 1 имели сопутствующие заболевания 26 человек из 51, что составило 51%. Необходимо отметить, что ожирение наблюдалось у >40%. Кроме того, доля пациентов с сахарным диабетом составила >13%. Распределение по длительности АГ: от 1 до 5 лет — 25 (49%), 6–10 лет — 15 (29%), >10 лет — 11 (22%).

В таблице 1 приведена общая и клиническая характеристика включенных в исследование пациентов группы 1.

Результаты оценки свободно циркулирующей ДНК представлены в таблице 2. Уровень ядДНК в группе 1 статистически значимо выше, чем в группе 2 — 227 (110; 370) копий/мл vs 88 (62; 116) копий/мл ($p < 0,0001$). Уровень мтДНК в группе 1 также выше, чем в группе 2, с тенденцией к значимости различий: 51113 (29188; 84313) копий/мл vs 35156 (18325; 54956) копий/мл ($p = 0,086$).

Сравнительная оценка уровня ядДНК у пациентов группы 1 с различной стадией АГ и группы 2 выявила статистически значимые межгрупповые различия (табл. 3) по уровню ядДНК: стадия I — 210 (110;

Таблица 2

Уровень свободно циркулирующей ядДНК и мтДНК (копий/мл) в плазме крови у пациентов в группах

	Группа 1 n=51	Группа 2 n=19	p
ядДНК, копий/мл	227 (110; 370)	88 (62; 116)	<0,0001
мтДНК, копий/мл	51113 (29188; 84313)	35156 (18325; 54956)	0,086

Примечание: данные представлены как Me (Q25; Q75).

Сокращения: мтДНК — митохондриальная ДНК, ядДНК — ядерная ДНК.

Таблица 3

Уровень свободно циркулирующей ядДНК и мтДНК (копий/мл) в плазме крови в зависимости от стадии АГ

	Группа 1 n=51			Группа 2 n=19 (4)	p
	Стадия I n=19 (1)	Стадия II n=26 (2)	Стадия III n=6 (3)		
ядДНК, копий/мл	210 (110; 365)	262 (110; 353)	322 (86; 564)	88 (62; 116)	p ₁₋₄ <0,001 p ₂₋₄ <0,001 p ₃₋₄ =0,045 p ₁₋₂₋₃ =0,777
мтДНК, копий/мл	42631 (26306; 71188)	53210 (29188; 87500)	57404 (42519; 84688)	35156 (18325; 54956)	p ₁₋₄ =0,369 p ₂₋₄ =0,074 p ₃₋₄ =0,198 p ₁₋₂₋₃ =0,552

Примечание: данные представлены как Me (Q25; Q75).

Сокращения: мтДНК — митохондриальная ДНК, ядДНК — ядерная ДНК.

Таблица 4

Уровень свободно циркулирующей ядДНК и мтДНК (копий/мл) в плазме крови в зависимости от ССР

	Группа 1 n=51			Группа 2 n=19 (4)	p
	Умеренный риск n=12 (1)	Высокий риск n=24 (2)	Очень высокий риск n=15 (3)		
ядДНК, копий/мл	232 (193; 349)	180 (86; 326)	294 (154; 489)	88 (62; 116)	p ₁₋₄ <0,001 p ₂₋₄ =0,004 p ₃₋₄ <0,001 p ₁₋₂₋₃ =0,127
мтДНК, копий/мл	82219 (30800; 85906)	40644 (24119; 53831)	56731 (42531; 129375)	35156 (18325; 54956)	p ₁₋₄ =0,045 p ₂₋₄ =0,816 p ₃₋₄ =0,015 p ₁₋₂₋₃ =0,029

Примечание: данные представлены как Me (Q25; Q75).

Сокращения: мтДНК — митохондриальная ДНК, ядДНК — ядерная ДНК.

Таблица 5

Характеристика уровня ядДНК (копий/мл) по длительности течения АГ

Артериальная гипертензия, n=51				
Длительность заболевания				
	1-5 лет n=25 (1)	6-10 лет n=14 (2)	Более 10 n=12 (3)	p
ядДНК, копий/мл	210 (110; 427)	274 (154; 337)	275 (83; 421)	0,009
мтДНК, копий/мл	53831 (33925; 84313)	45972 (29219; 56731)	51241 (22984; 87313)	0,481

Примечание: данные представлены как Me (Q25; Q75).

Сокращения: мтДНК — митохондриальная ДНК, ядДНК — ядерная ДНК.

365) копий/мл, стадия II — 262 (110; 353) копий/мл, стадия III — 322 (86; 564) копий/мл vs группы 2 — 88 (62; 116) копий/мл (p<0,001; p<0,001; p=0,045, соот-

ветственно). При этом статистически значимых различий уровня мтДНК у пациентов с различной стадией АГ и группы 2 не выявлено.

Анализ уровня свободно циркулирующей ДНК с различной степенью ССР (табл. 4) показал, что уровень ядДНК в группе умеренного, высокого и очень высокого ССР был статистически значимо выше, чем в группе 2, а именно: умеренный риск — 232 (193; 349) копий/мл, высокий риск — 180 (86; 326) копий/мл, очень высокий риск — 294 (154; 489) копий/мл vs группы 2 — 88 (62; 116) копий/мл ($p < 0,001$; $p = 0,004$; $p < 0,001$, соответственно). Также уровень мтДНК в группе очень высокого ССР и умеренного ССР статистически значимо выше по сравнению с группой 2: 56731 (42531; 129375) копий/мл vs 35156 (18325; 54956) копий/мл ($p = 0,015$) и 82219 (30800; 85906) копий/мл vs 35156 (18325; 54956) копий/мл ($p = 0,045$). У пациентов группы высокого ССР по сравнению с группой 2 значимых отличий уровня мтДНК не установлено: 40644 (24119; 53831) копий/мл vs 35156 (18325; 54956) копий/мл; $p = 0,816$.

Установлено, что уровень мтДНК в группах очень высокого, высокого и умеренного ССР статистически значимо различается: 56731 (42531; 129375) копий/мл, 40644 (24119; 53831) копий/мл и 82219 (30800; 85906) копий/мл; $p = 0,029$.

У пациентов группы 1 установлено статистически значимое повышение уровня ядДНК с увеличением длительности АГ (табл. 5).

Обсуждение

Ранее членами нашей исследовательской группы было показано повышение уровня мтДНК в крови на экспериментальной модели острого ишемического

повреждения миокарда как токсического генеза [8], так и окклюзионной [9]. Клинически были выявлены предикторные свойства повышения уровня мтДНК в отношении прогноза острого коронарного синдрома [10]. Также нами была показана патогенетическая роль свободно циркулирующей мтДНК крови в формировании АГ [11, 12].

Эти результаты позволили предположить существование патогенетической взаимосвязи между формированием АГ и повышением уровня не только мтДНК, но и ядДНК, прямо пропорциональным тяжести патологического процесса, т.е. стадии АГ и ССР. Гипотеза подтверждена для больных АГ с очень высоким ССР. Для оценки предикторных свойств обоих пулов свободно циркулирующей ДНК в отношении прогноза и эффективности лечения АГ понадобится дальнейшее продольное наблюдательное исследование.

АГ чаще встречается в старшей возрастной группе. В подгруппах ССР возраст сопоставим. В дальнейших исследованиях фактор отличия по возрасту будет минимизирован.

Заключение

Повышение уровня свободно циркулирующей ядДНК у пациентов с АГ может быть маркером формирования очень высокого ССР. Это может иметь клиническое значение для прогнозирования течения АГ.

Отношения и деятельность: все авторы заявляют об отсутствии потенциального конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Литература/References

- Cardiovascular prevention 2017. National Guidelines. Russian Journal of Cardiology. 2018;(6):7-122. (In Russ.) Кардиоваскулярная профилактика 2017. Российские национальные рекомендации. Российский кардиологический журнал. 2018;23(6):7-122. doi:10.15829/1560-4071-2018-6-7-122.
- Oka T, Hikoso S, Yamaguchi O, et al. Mitochondrial DNA that escapes from autophagy causes inflammation and heart failure. *Nature*. 2012;485(7397):251-5. doi:10.1038/nature10992.
- Nakayama H, Otsu K. Translation of hemodynamic stress to sterile inflammation in the heart. *Trends Endocrinol. Metab*. 2013;24(11):546-53. doi:10.1016/j.tem.2013.06.004.
- Kireeva VV, Usoltsev YuK, Lifshits GI, et al. Translational study: methods of mitochondrial dysfunction diagnostics in patients with cardiovascular pathology. *Siberian Medical Review* 2017;(4):35-43. (In Russ.) Киреева В.В., Усольцев Ю.К., Лифшиц Г.И. и др. Трансляционное исследование: методы диагностики митохондриальной дисфункции у пациентов с сердечно-сосудистой патологией. *Сибирское медицинское обозрение*. 2017;(4):35-43. doi:10.20333/2500-0136.
- Usoltsev YuK, Kireeva VV, Apartsin KA, et al. Study of mitochondrial dysfunction in patients with chronic myocardial ischemia, and/or brain: research design and procedures. *Translational Medicine*. 2016;3(4):82-9. (In Russ.) Усольцев Ю.К., Киреева В.В., Апарсин К.А. и др. Исследование митохондриальной дисфункции у пациентов с хронической ишемией миокарда и/или головного мозга: дизайн и процедура исследования. *Трансляционная медицина*. 2016;3(4):82-9. doi:10.18705/2311-4495-2016-3-4-82-89.
- Phillips NR, Sprouse ML, Roby RK. Simultaneous quantification of mitochondrial DNA copy number and deletion ratio: a multiplex real-time PCR assay. *Sci Rep* 4. 2014; 3887. doi:10.1038/srep03887.
- Krupny M, Newnham GM, Thomas DM, et al. High resolution melting analysis for the rapid and sensitive detection of mutations in clinical samples: KRAS codon 12 and 13 mutations in non-small cell lung cancer. *BMC Cancer*. 2006;6:295. doi:10.1186/1471-2407-6-295.
- Sudakov NP, Klimenkov IV, Katyshchev AI, et al. Mitochondrial dysfunction at atherosclerosis and myocardial infarction: molecular and cytochemical cell-markers. *Bulletin of the East Siberian Scientific Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2016;1(3-2(109)):131-4. (In Russ.) Судаков Н.П., Клименков И.В., Катыхев А.И. и др. Митохондриальная дисфункция при атеросклерозе и инфаркте миокарда: молекулярные и цитохимические маркеры. *Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра Сибирского отделения Российской академии медицинских наук*. 2016;1(3-2(109)):131-4.
- Sudakov NP, Popkova TP, Katyshchev AI, et al. The level of freely circulating mitochondrial DNA in the blood as a new biomarker of acute myocardial ischemia. *Biochemistry*. 2016;81(1):78-84. (In Russ.) Судаков Н.П., Попкова Т.П., Катыхев А.И. и др. Уровень свободно циркулирующей митохондриальной ДНК крови как новый биомаркер острой ишемии миокарда. *Биохимия*. 2016;81(1):78-84.
- Sudakov NP, Apartsin KA, Lepekhova SA, et al. The level of free circulating mitochondrial DNA in blood as predictor of death in case of acute coronary syndrome. *European journal of medical research*. 2017;22(1):1. doi:10.1186/s40001-016-0241-x.
- Trofimova EA, Kireeva VV, Usoltsev YuK, et al. Objective examination data, functional, ultrasound and laboratory examination, mitochondrial and nuclear DNA of patients with arterial hypertension. Certificate of state registration of the database No. 2021620151 Russian Federation. 2021; applicant Federal State Budgetary Institution of Healthcare Hospital of the Irkutsk Scientific Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences. (In Russ.) Трофимова Е.А., Киреева В.В., Усольцев Ю.К. и др. Данные объективного осмотра, функционального, ультразвукового и лабораторного обследования, митохондриальной и ядерной ДНК пациентов с артериальной гипертензией. Свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2021620151 Российская Федерация. 2021; заявитель Федеральное государственное бюджетное учреждение здравоохранения Больница Иркутского научного центра Сибирского отделения Российской академии наук. EDN: YOARTQ.
- Lepekhova SA, Trofimova EA, Kirilchik SV, et al. Pathogenetic role of cellfree circulating mitochondrial DNA in blood in the development of arterial hypertension. *Pathogenesis*. 2021;19(2):50-7. (In Russ.) Лепехова С.А., Трофимова Е.А., Кирилчик С.В. и др. Патогенетическая роль свободно циркулирующей митохондриальной ДНК крови в формировании артериальной гипертензии. *Патогенез*. 2021;19(2):50-7. doi:10.25557/2310-0435.2021.02.50-7.