

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

DOI: 10.15372/ATER20190302

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ КОЛИЧЕСТВА КОПИЙ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК В ТКАНИ МИОКАРДА ПРИ ВНЕЗАПНОЙ СЕРДЕЧНОЙ И НЕСЕРДЕЧНОЙ СМЕРТИ

В.Н. Максимов^{1,2}, А.А. Гуражева¹, П.С. Орлов¹, С.К. Малютина^{1,2}, А.А. Иванова¹,
С.В. Максимова², И.А. Родина³, О.В. Хамович³, В.П. Новосёлов^{2,3}

¹НИИ терапии и профилактической медицины –
филиал ФГБУ ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН
630089, г. Новосибирск, ул. Бориса Богаткова, 175/1

²ФГБОУ Новосибирский государственный медицинский университет Минздрава России
630091, г. Новосибирск, Красный просп., 52

³ГБУЗ НСО Новосибирское областное клиническое бюро судебно-медицинской экспертизы
630087, г. Новосибирск, ул. Немировича-Данченко, 134

Цель работы – сравнить количество копий мтДНК в ткани миокарда у лиц, умерших внезапной сердечной и несердечной смертью. **Материал и методы.** Группа внезапной сердечной смерти (ВСС, 150 образцов): аутопсийный материал набран у внезапно умерших вне лечебно-профилактических учреждений лиц, подвергшихся судебно-медицинскому исследованию по стандартному протоколу. В качестве группы контроля ($n = 150$) использована выборка образцов лиц (подобранная по полу и возрасту), которые по заключению судебно-медицинской экспертизы погибли внезапно от других причин (ВС). Исследование количества копий мтДНК выполнялось в образцах ДНК, выделенной из ткани миокарда методом фенол-хлороформной экстракции, с помощью количественной ПЦР в реальном времени. **Результаты.** В обеих изучаемых группах как у мужчин, так и у женщин отсутствуют значимые корреляции количества копий мтДНК с возрастом. При общем регрессионном анализе с введением в модель возраста получено различие между группами ВСС и ВС по количеству копий мтДНК ($p = 0,01$). При разделении по полу в группе женщин различия между ВСС и ВС по количеству копий мтДНК отсутствуют ($p = 0,089$), у мужчин – сохраняются ($p = 0,023$). Отмечена высокая вариабельность количества копий мтДНК в миокарде даже в пределах одной группы у лиц одного пола и сопоставимого возраста по сравнению с вариабельностью количества копий мтДНК в лейкоцитах периферической крови (по данным литературы). Вероятно, это связано с гетерогенностью групп по этиологии и патогенезу внезапной смерти. У мужчин

Максимов Владимир Николаевич – д-р мед. наук, проф., зав. лабораторией молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний НИИТПМ – филиал ИЦиГ СО РАН, e-mail: medik11@mail.ru

Гуражева Анна Александровна – м.н.с. лаборатории молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний e-mail: annapalna1@mail.ru

Орлов Павел Сергеевич – н.с. лаборатории молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний, e-mail: orlovpavel86@gmail.com

Малютина Софья Константиновна – д-р мед. наук, проф., зав. лабораторией этиопатогенеза и клиники внутренних заболеваний НИИТПМ – филиал ИЦиГ СО РАН; e-mail: smalyutina@hotmail.com

Иванова Анастасия Андреевна – канд. мед. наук, м.н.с. лаборатории молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний, e-mail: ivanova_a_a@mail.ru

Максимова Софья Владимировна – студентка 3-го курса педиатрического факультета, e-mail: 99naruto@mail.ru

Родина Ирина Александровна – канд. мед. наук, врач-судебно-медицинский эксперт, e-mail: ziza76@bk.ru

Хамович Олеся Викторовна – канд. мед. наук, врач-судебно-медицинский эксперт, e-mail: hamovicholessya@mail.ru

Новосёлов Владимир Павлович – д-р мед. наук, проф., зав. кафедрой судебной медицины ФГБОУ ВО НГМУ Минздрава России, e-mail: nokbsme@nso.ru

© Максимов В.Н., Гуражева А.А., Орлов П.С., Малютина С.К., Иванова А.А., Максимова С.В., Родина И.А., Хамович О.В., Новосёлов В.П., 2019

снижение количества копий мтДНК в группе с ВСС по сравнению с умершими внезапно от других причин больше выражено в возрасте 50 лет и старше. **Заключение.** Количество копий мтДНК в ткани миокарда у мужчин, умерших ВСС, меньше, чем у умерших внезапно от других причин (особенно в возрасте старше 50 лет).

Ключевые слова: количество копий митохондриальной ДНК (мтДНК), фактор риска, атеросклероз, ИБС, инфаркт миокарда, внезапная сердечная смерть (ВСС), популяция.

Термин «внезапная сердечная смерть» (ВСС) используется в случаях, когда врожденное или приобретенное потенциально смертельное заболевание сердца было известно при жизни умершего, или на аутопсии обнаружено заболевание сердца/сосудов, которое, возможно, привело к летальному исходу, или в ходе проведения посмертного исследования не выявлено экстракардиальных причин развития внезапного летального исхода, и тогда, предположительно, смерть является аритмической [1]. По приблизительным оценкам частота ВСС в Российской Федерации составляет 200–250 тыс. человек в год [2]. С возрастом смертность по причине ВСС увеличивается как у мужчин, так и у женщин, достигая пика после 40 лет. Женщин в структуре умерших ВСС в два раза меньше, чем мужчин [3, 4]. В России разработаны Национальные Рекомендации по определению риска и профилактике ВСС, однако все они касаются лиц с уже известной сердечно-сосудистой патологией [2]. Несмотря на то что риск развития ВСС наивысший у людей, перенесших остановку сердца, инфаркт миокарда или имеющих сердечную недостаточность в анамнезе, до 80 % случаев ВСС развиваются у пациентов с асимптомным течением какого-либо сердечно-сосудистого заболевания (ССЗ) [4]. Поэтому активно изучаются молекулярно-генетические маркеры ВСС, которые могут быть использованы при разработке стратегии диагностики предрасположенности и проведения профилактики ВСС у лиц с как известной, так и неизвестной сердечно-сосудистой патологией. Один из активно изучаемых молекулярно-генетических маркеров ВСС – количество копий митохондриальной ДНК (мтДНК).

Митохондрии влияют практически на все основные метаболические процессы в организме, с их функционированием связаны старение и продолжительность жизни. При этом, с одной стороны, количество копий мтДНК определяется сугубо биологическими факторами, такими как пол, возраст, с другой стороны, оно зависит от целого ряда факторов внешней среды [5–7]. Мыши, имеющие ядерную ДНК (ядНК) от одной линии, а мтДНК – от другой, живут в среднем на 16 % дольше (при существенном замедлении скорости развития симптомов старе-

ния) [8]. В другом эксперименте удалось увеличить среднюю продолжительность жизни мышей в 2 раза, также с уменьшением скорости развития симптомов старения, однако добиться увеличения максимальной продолжительности жизни мышей не получилось [9].

Многокопийность мтДНК – ее отличительная особенность, которая обеспечивает «буферную» устойчивость к изменениям энергетического статуса организма и повреждающим воздействиям. Окислительные повреждения мтДНК останавливают синтез ее цепи, приводя к снижению числа молекул мтДНК. Количество копий мтДНК в клетке можно рассматривать как динамичный показатель, который отражает функциональное состояние митохондриального генома и может быть потенциальным биомаркером митохондриальной дисфункции. Некоторые исследователи предлагают использовать количественный анализ мтДНК как генетический маркер возраст-зависимых изменений. По их мнению, если отношение мтДНК/ядНК, рассчитанное для индивидуума, меньше референтного значения в его возрастной группе, то необходимо медицинское наблюдение [10]. В США показали, что снижение числа копий мтДНК на одно стандартное отклонение ассоциировано с повышением относительного риска сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) в 1,23 раза (95%-й доверительный интервал 1,19–1,26), т. е. число копий мтДНК независимо связано со случаями ССЗ и потенциально может быть использовано для повышения точности оценки риска их развития [11].

При исследовании на китайской популяции найдена связь количества копий мтДНК с сердечной недостаточностью: пациенты с меньшим числом копий мтДНК имели повышенный в 1,7 раза риск развития сердечной недостаточности. Дальнейшее наблюдение показало, что снижение числа копий мтДНК ассоциировано с повышением смертности от ССЗ в 1,58 раза независимо от других факторов риска [12].

В рамках проекта ARIC при проспективном 20-летнем наблюдении анализ с корректировкой по возрасту, расе и полу показал повышение риска ВСС в 2,2 раза при сравнении 1-й и 5-й квинты числа копий мтДНК. Ассоциация осталась значимой и почти линейной после корректировки стандартных факторов риска ССЗ,

частоты сердечных сокращений (ЧСС), продолжительности интервала QT и комплекса QRS [13]. По данным F.N. Ashar et al., имеется обратная связь числа копий мтДНК с возрастом (у женщин более значимая по сравнению с мужчинами). Число копий мтДНК – независимый прогностический фактор риска смерти от всех причин (относительный риск для самого низкого квантиля числа копий мтДНК в 1,5 раза выше, чем для самого высокого) [14]. Исследований влияния количества копий мтДНК на риск ВСС пока выполнено сравнительно немного.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Группу ВСС сформировали с использованием критериев внезапной сердечной смерти ВОЗ и Европейского общества кардиологов (European Society of Cardiology). Аутопсийный материал (150 образцов) набран у внезапно умерших вне лечебно-профилактических учреждений жителей Октябрьского района г. Новосибирска, подвергшихся судебно-медицинскому исследованию, которое было проведено по стандартному протоколу на базе ГБОУЗ НСО «Новосибирское областное клиническое бюро судебно-медицинской экспертизы». Средний возраст лиц, включенных в группу ВСС, составил $53,2 \pm 8,7$ года, доля мужчин – 80,0 %, женщин – 20,0 %. С учетом ограниченной информации о времени развития летального исхода в группу ВСС включены случаи смерти, развившиеся в течение одного часа или не более 24 часов при отсутствии свидетелей смерти и расцененные по данным судебно-медицинского исследования как смерть сердечного генеза. Основные патолого-анатомические диагнозы протоколов судебно-медицинского исследования лиц, включенных в группу ВСС, – острая коронарная недостаточность и острая недостаточность кровообращения.

Критериями исключения из группы ВСС служило наличие морфологических изменений ткани сердца, характерных для инфаркта миокарда и кардиомиопатий: согласно МКБ-10 смерть вследствие инфаркта миокарда не относится к ВСС, а кардиомиопатии – отдельная этиологическая группа ВСС, для которой изучаются собственные молекулярно-генетические маркеры. Кроме того, из группы исключены лица, находившиеся в состоянии алкогольного, наркотического опьянения. В ходе проведения судебно-медицинского исследования у умерших забирали ткань миокарда массой 5–10 г, которую в дальнейшем хранили при температуре -20 °С до этапа выделения ДНК. В качестве группы контроля ($n = 150$) использована выборка образцов лиц (подобранная по полу и возрасту), которые по заключению судебно-меди-

цинской экспертизы погибли внезапно от других причин (ВС). Средний возраст в группе не-сердечной смерти $48,4 \pm 9,6$ года. Возрастной интервал 25–65 лет.

Выделение ДНК из 200–500 мг ткани миокарда проводили методом фенол-хлороформной экстракции с гуанидином. Образцы тканей тщательно гомогенизировали, после чего добавлялся буфер с гуанидином. Для лизиса образцы помещали на ночь в термостат при температуре 65 °С. Депротеинизацию выполняли последовательно смесью фенола с хлороформом (1:1) и хлороформом. ДНК осаждали добавлением раствора изопропилового спирта. Осадок, полученный центрифугированием на микроцентрифуге Eppendorf в течение 10 минут, промывали 70%-м этанолом, растворяли в воде и доводили концентрацию ДНК до 0,5 мкг/мкл.

Исследование количества копий мтДНК выполняли с помощью количественной ПЦР в реальном времени на основе методики S. Ajaz et al. с модификациями [15]. В качестве однокопийного референсного гена (ядНК) взят ген бета-2-микроглобулина (В2М). Отдельные количественные реакции для мтДНК и В2М ставили в парных 96-луночных планшетах в идентичных позициях. Каждый планшет включал серию разведений ДНК (1,25, 6,25, 25 и 100 нг), которые были использованы для создания калибровочной кривой и количественной оценки каждого образца. В каждую индивидуальную реакцию были взяты 10 нг ДНК.

Реакционная смесь для анализа количества копий мтДНК содержала следующие реагенты: 270 нМ праймера hMitoF3 (5'-ctaaatagccca-cacgttccc-3'), 900 нМ праймера hMitoR3 (5'-agagctcccgtgagtggta-3'), 0,2X SYBR Green I, 5 мМ дитиотреитола, 1 % диметилсульфоксида, 0,2 мМ каждого dNTP, 1,5 мМ $MgCl_2$, 1,25 ед. ДНК-полимеразы в конечном объеме 15 мкл буфера для ПЦР. Циклы ПЦР: 10 мин на 95 °С, потом 26 циклов 95 °С – 15 с, 55 °С – 30 с, 60 °С – 60 с. Реакционная смесь для анализа В2М содержала следующие реагенты: 300 нМ праймера hB2MF1 (5'-gctggtagctctaaacaatgtattca-3'), 300 нМ праймера hB2MR1 (5'-ccatgtactaacaatgtctataaatgt-3'), 0,2X SYBR Green I, 5 мМ дитиотреитола, 1 % диметилсульфоксида, 0,2 мМ каждого dNTP, 1,5 мМ $MgCl_2$, 1,25 ед. ДНК-полимеразы в конечном объеме 15 мкл буфера. Циклы ПЦР: 94 °С – 15 мин, затем 30 циклов 94 °С – 30 с, 60 °С – 30 с и 72 °С – 90 с, далее 72 °С – 7 мин. Обе реакции ставились с использованием системы StepOnePlus (Thermo Fisher Scientific, США).

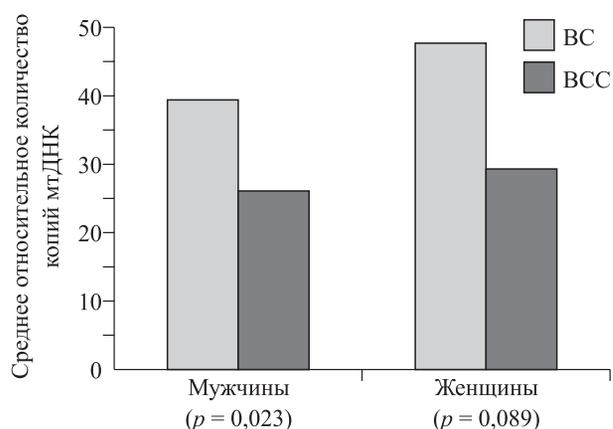
Для расчетов использовали штатное программное обеспечение амплификатора. Выполняли контроль качества и расчет отношения

мтДНК/ядНК. Если кривые амплификации образца в трех репликах имели стандартное отклонение больше 0,5, то такой образец исключался из дальнейшего анализа. Каждый планшет включал контрольный образец ДНК (один и тот же для всех планшетов). Были проверены относительные интенсивности сигнала от контрольного образца, чтобы гарантировать сопоставимость между плашками. Число копий мтДНК оценивали по значениям величины порогового цикла C_t (threshold cycle, точка пересечения графика накопления ДНК и пороговой линии), позволяющей судить об исходном количестве копий ДНК и сравнивать образцы между собой [16].

При статистическом анализе полученных данных использовали стандартные подходы. Выполняли попарный корреляционный анализ по Пирсону, сравнение количества копий мтДНК в исследуемых группах проводили с помощью общей линейной модели со стандартизацией по возрасту. При общем регрессионном анализе в качестве независимой переменной взята принадлежность к группе (ВСС и ВС) с введением в модель возраста и количества копий мтДНК.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При корреляционном анализе возраста и количества копий мтДНК в ткани миокарда значи-



Среднее относительное количество копий мтДНК в ткани миокарда у лиц, умерших ВСС и ВС (со стандартизацией по возрасту, GLM)

мых зависимостей не обнаружено, хотя ранее на большой популяционной выборке (996 человек) нами показана отрицательная корреляция относительного числа копий мтДНК лейкоцитов крови с возрастом у мужчин ($p = 0,005$) и женщин ($p < 0,001$) [6].

При общем регрессионном анализе, с введением в модель возраста, получено достоверное различие между группами ВСС и ВС по количеству копий мтДНК ($p = 0,01$). При разделе-

Среднее относительное количество копий мтДНК в группах умерших внезапной смертью разного генеза

Группа	n	M	SD	Процентили		
				25	50	75
Общая группа умерших внезапной смертью						
Мужчины до 50 лет	130	33,231	24,082	15,220	27,277	42,597
Мужчины 50 лет и старше	110	28,98	17,680	14,924	26,650	39,392
Женщины до 50 лет	20	37,313	22,375	22,687	35,403	42,320
Женщины 50 лет и старше	40	35,259	20,425	13,262	38,832	41,356
Группа умерших ВСС						
Мужчины до 50 лет	65	25,573	13,878	14,239	21,932	38,819
Мужчины 50 лет и старше	55	24,782	14,128	14,178	20,046	32,037
Женщины до 50 лет	10	37,152	14,242	31,559	40,396	49,090
Женщины 50 лет и старше	20	34,484	15,691	21,324	35,470	45,320
Группа умерших ВС						
Мужчины до 50 лет	65	39,484	28,644	15,939	32,235	50,822
Мужчины 50 лет и старше	55	38,181	21,212	21,072	33,403	46,192
Женщины до 50 лет	10	43,755	33,918	26,585	35,040	41,130
Женщины 50 лет и старше	20	33,604	25,568	12,278	32,080	40,961

Примечание. M – среднее арифметическое значение, SD – стандартное отклонение.

нии по полу у женщин различия между ВСС и ВС по количеству копий мтДНК отсутствуют ($p = 0,089$) (возможно, из-за небольшой численности женщин, 20 % от всей группы), но имеется достоверная ассоциация количества копий мтДНК с возрастом ($p = 0,034$). У мужчин различия между группами ВСС и ВС по количеству копий мтДНК сохраняются (рисунок), но отсутствует ассоциация с возрастом ($p = 0,604$).

Отмечена высокая вариабельность количества копий мтДНК в миокарде даже в пределах одной группы лиц одного пола и сопоставимого возраста по сравнению с вариабельностью количества копий мтДНК в лейкоцитах периферической крови [6]. Вероятно, это связано с гетерогенностью групп по этиологии и патогенезу внезапной смерти. У мужчин снижение количества копий мтДНК в группе с ВСС по сравнению с ВС больше выражено в возрасте старше 50 лет ($p = 0,001$). Видимо, в младшей возрастной группе в качестве причин ВСС ($p = 0,011$) преобладают наследственно обусловленные нарушения ритма сердца, тогда как в старшей группе на первый план выходит ИБС (таблица). Китайские ученые показали, что у пациентов с ИБС число копий мтДНК снижено [7, 17]. С учетом гетерогенности причин ВСС и относительно небольшого размера исследуемых групп результаты нуждаются в реплицировании на больших по размеру группах.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Количество копий мтДНК в ткани миокарда у мужчин, умерших ВСС, меньше по сравнению с мужчинами, умершими внезапно от других причин (особенно в возрасте старше 50 лет).

Финансовая поддержка: исследование выполняется в рамках Интеграционного проекта РАН № АААА-А17-117112870170-0.

ЛИТЕРАТУРА

1. Priori S.G., Blomström-Lundqvist C., Mazzanti A., Blom N., Borggrefe M., Camm J., Elliott P.M., Fitzsimons D., Hatala R., Hindricks G., Kirchhof P., Kjeldsen K., Kuck K.H., Hernandez-Madrid A., Nikolaou N., Norekvål T.M., Spaulding C., van Veldhuisen D.J. The Task Force for the Management of Patients with Ventricular Arrhythmias and the Prevention of Sudden Cardiac Death of the European Society of Cardiology // *G. Ital. Cardiol. (Rome)*. 2016. Vol. 17, N 2. P. 108–170.
2. Шляхто Е.В., Арутюнов Г.П., Беленков Ю.Н., Ардашев А.В. Национальные рекомендации по определению риска и профилактике внезапной сердечной смерти // *Арх. внутр. медицины*. 2013. № 4. С. 5–15.
3. Winkel B.G., Jabbari R., Tfelt-Hansen J. How to prevent SCD in the young? // *Int. J. Cardiol.* 2017. Vol. 237. P. 6–9.
4. Faragli A., Underwood K., Priori S.G., Mazzanti A. Is there a role for genetics in the prevention of sudden cardiac death? // *J. Cardiovasc. Electrophysiol.* 2016. Vol. 27, N 9. P. 1124–1132.
5. Максимов В.Н., Гуражева А.А., Максимова Ю.В. Количество копий митохондриальной ДНК лейкоцитов как маркер предрасположенности к ИБС и ВСС // *Атеросклероз*. 2018. Т. 14, № 3. С. 64–69.
6. Максимов В.Н., Малютина С.К., Орлов П.С., Иваношук Д.Е., Михайлова С.В., Шапкина М.Ю., Hubacek J., Holmes M., Bobak M., Воевода М.И. Число копий митохондриальной ДНК лейкоцитов как маркер старения и риска развития возраст-зависимых заболеваний у человека // *Успехи геронтологии*. 2019. Т. 32, № 3. С. 422–430.
7. Chen S., Xie X., Wang Y., Gao Y., Xie X., Yang J., Ye J. Association between leukocyte mitochondrial DNA content and risk of coronary heart disease: a case-control study // *Atherosclerosis*. 2014. Vol. 237, N 1. P. 220–226.
8. Latorre-Pellicer A., Moreno-Loshuertos R., Lechuga-Vieco A.V., Sánchez-Cabo F., Torroja C., Acín-Pérez R., Calvo E., Aix E., González-Guerra A., Logan A., Bernad-Miana M.L., Romanos E., Cruz R., Cogliati S., Sobrino B., Carracedo Á., Pérez-Martos A., Fernández-Silva P., Ruíz-Cabello J., Murphy M.P., Flores I., Vázquez J., Enríquez J.A. Mitochondrial and nuclear DNA matching shapes metabolism and healthy ageing // *Nature*. 2016. Vol. 535. P. 561–565.
9. Зиновкин Р.А., Скулачев М.В., Скулачев В.П. Митохондриальный геном и продолжительность жизни (мини-обзор) // *Биохимия*. 2016. Т. 81, № 12. С. 1669–1674.
10. Воробаев Е.В., Зятков А.А., Осипкина О.В., Баранов О.Ю., Галиновская Н.В., Доценко В.Н. Метод молекулярно-генетической диагностики процессов клеточной сенесценции на основе количественного анализа генов ядерной и митохондриальной ДНК // *Пробл. здоровья и экологии*. 2016. № 1. С. 46–50.
11. Ashar F.N., Zhang Y., Longchamps R.J., Lane J., Moes A., Grove M.L., Mychaleckyj J.C., Taylor K.D., Coresh J., Rotter J.I., Boerwinkle E., Pankratz N., Guallar E., Arking D.E. Association of mitochondrial DNA copy number with cardiovascular disease // *JAMA Cardiol.* 2017. Vol. 2, N 11. P. 1247–1255.
12. Huang J., Tan L., Shen R., Zhang L., Zuo H., Wang D.W. Decreased peripheral mitochondrial DNA copy number is associated with the risk of heart failure and long-term outcomes // *Medicine (Baltimore)*. 2016. Vol. 95, N 15. ID e3323.
13. Zhang Y., Guallar E., Ashar F.N., Longchamps R.J., Castellani C.A., Lane J., Grove M.L., Coresh J., Sotoodehnia N., Ikhanoff L., Boerwinkle E., Pankratz N., Arking D.E. Association between mitochondrial DNA copy number and sudden cardiac death: findings from the Atherosclerosis Risk in Communities study (ARIC) // *Eur. Heart J.* 2017. Vol. 38, N 46. P. 3443–3448.
14. Ashar F.N., Moes A., Moore A.Z., Grove M.L., Chaves P.H.M., Coresh J., Newman A.B., Matteini A.M.,

- Bandeen-Roche K., Boerwinkle E., Walston J.D., Arking D.E.** Association of mitochondrial DNA levels with frailty and all-cause mortality // *J. Mol. Med. (Berl.)*. 2015. Vol. 93, N 2. P. 177–186.
15. **Ajaz S., Czajka A., Malik A.** Accurate measurement of circulating mitochondrial DNA content from human blood samples using real-time quantitative PCR // *Methods Molec. Biol.* 2015. Vol. 1264. P. 117–131.
16. **Venegas V., Halberg M.C.** Measurement of mitochondrial DNA copy number // *Methods Molec. Biol.* 2012. Vol. 837. P. 327–335.
17. **Liu L.P., Cheng K., Ning M.A., Li H.H., Wang H.C., Li F., Chen S.Y., Qu F.L., Guo W.Y.** Association between peripheral blood cells mitochondrial DNA content and severity of coronary heart disease // *Atherosclerosis*. 2017. Vol. 261. P. 105–110.

COMPARATIVE ANALYSIS OF MITOCHONDRIAL DNA COPY NUMBERS IN MYOCARDIAL TISSUE IN SUDDEN CARDIAC AND NON-CARDIAC DEATH

V.N. Maksimov^{1,2}, A.A. Gurazheva¹, P.S. Orlov¹, S.K. Malyutina^{1,2}, A.A. Ivanova¹, S.V. Maksimova², I.A. Rodina³, O.V. Khamovich³, V.P. Novosyolov^{2,3}

¹*Research Institute of Internal and Preventive Medicine –
Branch of Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics of SB RAS
630089, Novosibirsk, Boris Bogatkov str., 175/1*

²*Novosibirsk State Medical University of Minzdrav of Russia
630091, Novosibirsk, Krasny av., 52*

³*Novosibirsk Regional Clinical Bureau of Forensic Medicine
630087, Novosibirsk, Nemirovich-Danchenko str., 134*

The aim of the work is to compare the number of copies of mtDNA in myocardial tissue in persons who died of sudden cardiac and non-cardiac death. **Material and methods.** Group of sudden cardiac death (SCD, 150 samples): the autopsy material was collected from those who suddenly died outside the medical and preventive treatment facilities of persons who underwent a forensic medical examination according to a standard protocol. As a control group ($n = 150$), a sample of individuals (selected by gender and age) was used, which, according to the conclusion of the forensic medical examination, died suddenly from other causes (SD). The study of the number of copies of mtDNA was performed in DNA samples isolated from myocardial tissue by the method of phenol-chloroform extraction, using real-time quantitative PCR (qPCR). **Results.** In both studied groups, there are no significant correlations of the number of copies of mtDNA with age in both men and women. In the general regression analysis, with the introduction of age into the model, the difference between the SCD and SD groups was obtained in the number of copies of mtDNA ($p = 0.01$). When divided by sex in the group of women, there are no differences between SCD and SD in the number of copies of mtDNA ($p = 0.089$). In men, differences in the number of copies of mtDNA persist between SCD and SD ($p = 0.023$). High variability in the number of copies of mtDNA in the myocardium was noted even within the same group in individuals of the same sex and of comparable age compared to the variability in the number of copies of mtDNA in peripheral blood leukocytes (according to the literature). This is probably due to the heterogeneity of the groups on the etiology and pathogenesis of sudden death. In men, the decrease in the number of copies of mtDNA in the group with SCD, compared with those who died suddenly from other causes, is more pronounced at the age of 50 years and older. **Conclusion.** The number of copies of mtDNA in myocardial tissue in men who have died of SCD is lower, compared with men who died suddenly from other causes (especially over the age of 50 years).

Keywords: mitochondrial DNA (mtDNA) copy number, risk factor, atherosclerosis, IHD, myocardial infarction, sudden cardiac death (SCD), population.

*Статья поступила 1 августа 2019 г.
Принята к печати 23 сентября 2019 г.*