

СЕРДЕЧНАЯ НЕДОСТАТОЧНОСТЬ И МИТОХОНДРИАЛЬНАЯ ДИСФУНКЦИЯ: МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ И КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ

Гарганеева А.А.¹,
Тукиш О.В.¹,
Кужелева Е.А.¹,
Муслимова Э.Ф.¹,
Гуля М.О.¹,
Жаргасова В.А.²,
Попов С.В.¹

¹ Научно-исследовательский институт кардиологии – филиал ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН» (634012, г. Томск, ул. Киевская, 111а, Россия)

² ООО «Медлайт» (693010, г. Южно-Сахалинск, ул. Хабаровская, 15, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Тукиш Ольга Викторовна,
e-mail: olgatukish@yandex.ru

РЕЗЮМЕ

Сердечная недостаточность (СН) является основной причиной смертности, частых госпитализаций и низкого качества жизни. Фундаментальные механизмы, участвующие в возникновении и прогрессировании СН, в настоящее время точно не определены. Митохондрии играют ключевую роль в процессах клеточного метаболизма, выполняя множество биологических функций. Функциональная активность митохондрий имеет неразрывную связь с их структурой. При сердечно-сосудистых заболеваниях (ССЗ) в условиях повторяющейся гипоксии/реоксигенации тканей, а также под влиянием процессов субклинического воспаления происходит патологическая перестройка митохондриома кардиомиоцитов (КМЦ). Исследования, проведенные к настоящему времени, позволяют предположить, что митохондрии могут быть ключом к пониманию начала и прогрессирования хронической сердечной недостаточности (ХСН). Анализ литературы демонстрирует, что изучение митохондрий у больных ХСН является актуальной темой, а число публикаций в системе PubMed/MEDLINE, касающихся исследований в данной области, прогрессивно увеличивается; в системе eLIBRARY найдено 100 публикаций по данной тематике.

В настоящем обзоре мы рассмотрели современные методы оценки структуры и функции митохондрий в экспериментальных и клинических работах и провели анализ возможности применения данных методов исследования у больных ССЗ. Показано, что, несмотря на достаточно широкий спектр возможностей изучения структурно-функционального состояния митохондрий КМЦ при ХСН, оцениваемые косвенные признаки митохондриальной дисфункции являются суррогатными маркерами, степень информативности которых необходимо изучить в сопоставлении с реальным состоянием ультраструктуры митохондрий КМЦ, клинической картиной заболевания и прогнозом пациентов. Актуализирована необходимость проведения клинических исследований, направленных на изучение ассоциации прямых ультраструктурных характеристик митохондрий КМЦ с косвенными признаками митохондриальной дисфункции, с клиническим течением и исходами ХСН. Это позволит получить принципиально новые фундаментальные знания о механизмах развития и прогрессирования данного патофизиологического феномена, оценить степень информативности маркеров нарушения митохондриальной функции при ХСН, что послужит основанием для внедрения изучаемых диагностических методов в реальную клиническую практику.

Ключевые слова: хроническая сердечная недостаточность, митохондрии, митохондриальная дисфункция, митохондриальная ДНК, дыхание митохондрий, окислительное фосфорилирование

Для цитирования: Гарганеева А.А., Тукиш О.В., Кужелева Е.А., Муслимова Э.Ф., Гуля М.О., Жаргасова В.А., Попов С.В. Сердечная недостаточность и митохондриальная дисфункция: методы исследования в эксперименте и клинической практике. *Acta biomedica scientifica*. 2025; 10(1): 103-114. doi: 10.29413/ABS.2025-10.1.11

Статья поступила: 12.04.2024

Статья принята: 10.02.2025

Статья опубликована: 13.03.2025

HEART FAILURE AND MITOCHONDRIAL DYSFUNCTION: RESEARCH METHODS IN EXPERIMENT AND CLINICAL PRACTICE

Garganeeva A.A.¹,
Tukish O.V.¹,
Kuzheleva E.A.¹,
Gulya M.O.¹,
Muslimova E.F.¹,
Zhargasova V.A.²,
Popov S.V.¹

¹ Cardiology Research Institute,
Tomsk National Research Medical Center
of the Russian Academy of Sciences
(Kievskaya str. 111A, Tomsk 634012,
Russian Federation)

² Medlight LLC (Khabarovskaya str. 15,
Yuzhno-Sakhalinsk 693010,
Russian Federation)

Corresponding author:
Olga V. Tukish,
e-mail: olgatukish@yandex.ru

ABSTRACT

Heart failure is the leading cause of death, frequent hospitalizations, and poor quality of life. The fundamental mechanisms involved in the occurrence and progression of heart failure are currently not precisely defined. Mitochondria play a key role in the processes of cellular metabolism, performing many biological functions. The functional activity of mitochondria is inextricably linked to their structure. In cardiovascular diseases, in conditions of repeated hypoxia/reoxygenation of tissues, as well as under the influence of subclinical inflammation processes, pathological restructuring of the cardiomyocyte mitochondriome occurs. Studies conducted to date suggest that mitochondria may be the key to understanding the onset and progression of chronic heart failure (CHF). An analysis of the literature demonstrates that the study of mitochondria in patients with CHF is an urgent topic, and the number of publications in the PubMed/MEDLINE system concerning research in this area is progressively increasing, 100 publications on this topic have been found in the eLibrary system. In this review, we reviewed modern methods for evaluating the structure and function of mitochondria in experimental and clinical studies and analyzed the possibility of using these research methods in patients with cardiovascular diseases. It is shown that, despite a fairly wide range of possibilities for studying the structural and functional state of mitochondria of cardiomyocytes in CHF, the estimated indirect signs of mitochondrial dysfunction are surrogate markers, the degree of informativity of which must be studied in comparison with the actual state of the cardiomyocytes mitochondrial ultrastructure, the clinical picture of the disease and the prognosis of patients. The necessity of conducting clinical studies aimed at studying the association of direct ultrastructural characteristics of cardiomyocytes mitochondria with indirect signs of mitochondrial dysfunction with the clinical course and outcomes of CHF is actualized, which will allow us to obtain fundamentally new fundamental knowledge about the mechanisms of development and progression of the pathophysiological phenomenon of CHF, to assess the degree of informativeness of markers of mitochondrial dysfunction in patients with CHF, which will serve as the basis for the widespread introduction of these diagnostic methods into real clinical practice.

Key words: chronic heart failure, mitochondria, mitochondrial dysfunction, mitochondrial DNA, mitochondrial respiration, oxidative phosphorylation

Received: 12.04.2024
Accepted: 10.02.2025
Published: 13.03.2025

For citation: Garganeeva A.A., Tukish O.V., Kuzheleva E.A., Gulya M.O., Muslimova E.F., Zhargasova V.A., Popov S.V. Heart failure and mitochondrial dysfunction: research methods in experiment and clinical practice. *Acta biomedica scientifica*. 2025; 10(1): 103-114. doi: 10.29413/ABS.2025-10.1.11

ВВЕДЕНИЕ

Сердечная недостаточность (СН) является основной причиной смертности, частых госпитализаций и низкого качества жизни [1]. Несмотря на многочисленные исследования, фундаментальные механизмы, участвующие в возникновении и прогрессировании СН, в настоящее время точно не определены. Однако известно, что патологические изменения, происходящие при СН, проявляются как на тканевом, так и на клеточном уровне. Согласно современным представлениям, внутриклеточные изменения в кардиомиоцитах (КМЦ) при СН характеризуются в том числе нарушением структуры и функции митохондрий, индикатором которых является накопление фрагментированных и повреждённых органелл в клетке [2, 3]. Митохондрии играют ключевую роль в процессах клеточного метаболизма, выполняя множество биологических функций, таких как синтез аденозинтрифосфорной кислоты (АТФ) и обеспечение энергозависимых процессов в клетках, регуляция динамического равновесия внутриклеточного кальция и магния, участие в синтезе ферментов системы цитохромов и поддержание внутриклеточного гомеостаза. Функциональная активность митохондрий имеет неразрывную связь с их структурой, при этом сохранение стабильности митохондриома в целом, проявляющееся в балансе процессов деления, слияния, фрагментации, митофагии повреждённых органелл, обеспечивается системой качества митохондрий. При сердечно-сосудистых заболеваниях (ССЗ) в условиях повторяющейся гипоксии/реоксигенации тканей, а также под влиянием процессов субклинического воспаления происходит патологическая перестройка митохондриома КМЦ, сопровождающаяся нарушением структуры и функции митохондрий и накоплением повреждённых, дисфункциональных органелл, которые являются источником избытка активных форм кислорода (АФК). Согласно современным представлениям, накопление АФК нарушает адекватную биоэнергетику КМЦ и способствует индукции митохондриального пути апоптоза клеток [4].

В настоящее время структура и функция митохондрий КМЦ при ССЗ активно исследуются отечественными и зарубежными учёными. При этом наибольший интерес представляет оценка митохондриальных структурно-функциональных изменений при хронической сердечной недостаточности (ХСН), при которой имеет место нарушение энергетически затратных процессов сокращения и расслабления кардиомиоцитов, приводящее к систолической и диастолической дисфункции желудочков сердца и клинически проявляющееся симптомами и признаками ХСН.

Анализ современной литературы демонстрирует, что изучение митохондрий у больных с ХСН является актуальной развивающейся темой, о чём свидетельствует прогрессивное увеличение публикаций в международных базах цитирования. В системе данных PubMed/MEDLINE в последние годы число публикаций, касающихся исследований в области структуры и функции митохондрий при сердечной недостаточности (за-

прос по терминам «mitochondria» AND «heart failure»), увеличилось с 22 в 2000 г. до 181 в 2019 г. и 245 г. в 2023 г.

Исследования, проведённые к настоящему времени, позволяют предположить, что митохондрии могут быть ключом к пониманию начала и прогрессирования ХСН. Как результат, более глубокое осмысление роли митохондриальной дисфункции в патогенезе ХСН может улучшить её диагностику, лечение и прогноз, увеличивая тем самым возможность контроля над течением заболевания.

Вместе с тем следует отметить, что большинство исследований структуры и функции митохондрий в КМЦ имеют экспериментальный характер и проводятся преимущественно на лабораторных животных или клеточных линиях с искусственным моделированием патологического процесса. Исследования структуры и функции митохондрий КМЦ человека встречаются в литературе гораздо реже, что связано, безусловно, со сложностью получения биопсийного материала, а изучение функции внутриклеточных органелл *in vivo* является технически, методологически и этически крайне сложной задачей. В настоящем обзоре мы рассмотрели современные методы оценки структуры и функции митохондрий в экспериментальных и клинических работах и провели анализ возможности применения данных методов исследования у больных ССЗ.

СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ УЛЬТРАСТРУКТУРЫ МИТОХОНДРИЙ

Возможность изучения морфологии митохондрий появилась с изобретением электронного микроскопа, когда была преодолена ограниченная разрешающая способность оптического микроскопа. В настоящее время электронная микроскопия является «золотым стандартом» для изучения ультраструктуры митохондрий [5]. Просвечивающая электронная микроскопия (ПЭМ) позволяет исследовать гетерогенность популяций митохондрий в клетках в норме и при патологии, проводить анализ морфологии данных органелл с определением количественных параметров митохондриальной ультраструктуры (соотношение протяжённости внутренней и наружной мембран митохондрий, общая площадь митохондрий на единицу площади анализируемой клетки и др.), а также выявлять повреждённые дисфункциональные органеллы. При этом ограничением метода является оценка ультраструктуры клеток лишь в одной двухмерной плоскости.

Сканирующая электронная микроскопия (СЭМ) сочетает традиционную систему ПЭМ и регулировки сканирования, обеспечивая при исследовании образцов получение микрофотографий с высоким разрешением, информацией на уровне атомов, позволяет изучать трёхмерную структуру митохондрий в сложном микроокружении, содержащем все клеточные компоненты. Такие методы исследования, как эпифлуоресцентная микроскопия, конфокальная лазерная сканирующая микроскопия высокого разрешения, могут использовать

ся для анализа изображений морфологических изменений в митохондриях с высокой точностью, значительно превышающей ПЭМ [6, 7].

С разработкой более высокотехнологичных методов исследования ультраструктуры внутриклеточных оргanelл, таких как атомно-силовая микроскопия (АСМ), появилась возможность визуализации клеточных структур в режиме реального времени и изучения динамических процессов, происходящих с клетками. Однако данный метод имеет узкий спектр применения, что связано, в частности, с особенностями используемых АСМ-зондов [8, 9].

Таким образом, несмотря на высокую информативность различных методов электронной микроскопии высокого разрешения, каждый из них имеет свои ограничения, при этом наиболее доступным для исследования структуры митохондрий всё же остаётся метод ПЭМ.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ МЕМБРАННОГО ПОТЕНЦИАЛА МИТОХОНДРИЙ

Митохондриальный мембранный потенциал (ММП) необходим для выработки АТФ и нормального функционирования дыхательной цепи. Снижение ММП приводит к истощению АТФ наряду с изменениями pH межмембранного пространства и матрикса митохондрий. Увеличение ММП всего на 10 мВ приводит к увеличению продукции АФК на 70–90 % [10]. Данный показатель используется с целью оценки функции митохондрий и обладает достаточной чувствительностью [11]. Он тесно связан с клеточным гомеостазом и чаще всего используется для определения метаболического состояния митохондрий. В настоящее время оценка ММП *in vitro* проводится с помощью проточной цитометрии с использованием молекулярных зондов с красителями [12]. В исследованиях демонстрируется связь динамики ММП с развитием апоптоза и некроза клеток при коронарной и сердечной недостаточности [13].

В литературе описывается методика позитронно-эмиссионной томографии, позволяющей количественно определять мембранный потенциал *in vivo* в абсолютных единицах. Предлагается использование данного метода для изучения патофизиологии ССЗ, оценки стадии заболевания, прогноза и ответа на проводимую терапию. Вместе с тем чувствительность и специфичность данного метода при ССЗ у человека на сегодняшний день изучена недостаточно.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ МИТОХОНДРИАЛЬНОГО КАЛЬЦИЯ

Ионы кальция играют важную роль в передаче сигналов, свёртывании крови, трансмембранном транспорте ионов, клеточном делении [14]. Митохондриальный кальций является ключевым регулятором механизмов синтеза АТФ, контролируя окислительное фосфорилирование [15]. Важность физиологической роли кальция и кальций-аккумулирующая способность мито-

хондрий вызывает большой интерес с 1960-х годов [16]. В настоящее время известно, что избыточное поглощение и накопление митохондриями кальция может привести к их набуханию, нарушению целостности в результате активации переходной поры проницаемости (mPTP, mitochondrial permeability transition pore), инициируя таким образом гибель клетки как путём апоптоза, так и путём некроза в зависимости от конкретных биологических условий [17]. Также есть данные, что нарушение регуляции поступления кальция является характерным для сердечной дисфункции. Кальций и аденозиндифосфат (АДФ) активно регулируют продукцию АФК в митохондриях сердца [18]. Хотя в настоящее время причины данного явления слабо изучены, по данным литературы, существует ряд гипотез. Так, предполагается, что в основе повышения продукции АФК могут лежать существенные изменения комплексов дыхательной цепи, активация дегидрогеназ матрикса митохондрий в результате воздействия кальция, изменение баланса восстановленных форм никотинамидадениндинуклеотида (NADH, nicotinamide adenine dinucleotide + hydrogen) и никотинамидадениндинуклеотидфосфата (NADPH, nicotinamide adenine dinucleotide phosphate + hydrogen) и истощение антиоксидантной системы. Таким образом, резко сниженный окислительно-восстановительный потенциал митохондрий приводит к повышенному высвобождению пероксида водорода [19]. В этом контексте АФК могут препятствовать сопряжению возбуждения и сокращения, вызывая аритмии, гипертрофию, апоптоз или некроз клеток сердца [20]. Вместе с тем определение физиологической и патофизиологической роли митохондриального кальция всё ещё остаётся предметом активных исследований.

Большая часть современных знаний о митохондриальном обмене кальция при СН получена на животных моделях. Методы определения митохондриального кальция включают осаждение, электрохимический анализ, хелатное титрование этилендиаминтетраацетата, плазменную спектрофотометрию, атомно-абсорбционную спектроскопию, флуоресцентную спектрофотометрию. При этом электрохимический анализ является наиболее удобным и простым в применении, не требует высокой оптической чувствительности приборов [21]. Однако при использовании этого метода необходимо учитывать влияние других внутриклеточных ионов, таких как натрий, калий, фосфат и сульфат.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПЕРЕХОДНЫХ ПОР МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ПРОНИЦАЕМОСТИ

Переходные поры митохондриальной проницаемости представляют собой класс белковых комплексов между внутренней и внешней мембранами митохондрий, которые обеспечивают прохождение веществ с молекулярной массой < 1,5 кДа и служат структурной основой для изменений проницаемости мембраны митохондрий [22]. Кроме того, mPTP очень чувствительны к изменениям внутриклеточных и внеклеточных кон-

центраций ионов и играют важную роль в системах передачи сигналов. В настоящее время предполагается, что аномальное раскрытие mPTP тесно связано с патологическими изменениями концентрации кальция, окислительным стрессом и мутациями в митохондриальной ДНК (мтДНК) [23]. Напротив, величина ММП и концентрация митохондриального кальция являются основными факторами раскрытия mPTP, приводящими к высвобождению в цитозоль цитохрома С и других веществ, связанных с гибелью клеток [24]. Для обнаружения mPTP разработаны различные методы, такие как патч-зажим, спектрофотометрические методы и методы маркировки активных веществ. Метод патч-зажима является самым ранним и может отражать активность ионных каналов путём регистрации токов в ионных каналах для оценки функции митохондрий [25]. По сравнению с методами маркировки активных веществ и патч-зажима спектрофотометрия является более простым и наиболее часто применяемым методом исследования mPTP.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ МИТОХОНДРИАЛЬНОГО АДЕНОЗИНТРИФОСФАТА

Поскольку одной из основных функций митохондрий является выработка АТФ, то его можно считать ключевым показателем состояния энергетического метаболизма клетки и функции митохондрий [26]. Он играет важную роль в транспорте веществ, преобразовании энергии и передаче информации. Известно, что при повреждении митохондрий снижается выработка АТФ и увеличивается продукция АФК, что может являться причиной развития и прогрессирования ряда заболеваний, в том числе сердечно-сосудистых [26].

Для измерения уровней АТФ в митохондриях в настоящее время доступно несколько методов. Они включают в себя хроматографию, электрофорез, высокоэффективную жидкостную хроматографию (ВЭЖХ) и ферментативный анализ [27]. Хроматография и электрофорез относятся к химическим методам, которые были разработаны в XVIII и XIX веках и постепенно совершенствовались. Различия между ВЭЖХ и классической жидкостной хроматографией включают более высокую скорость анализа, более мелкие и однородные частицы в качестве упаковочного материала и высокую эффективность работы колонки с мелкими частицами [28]. Высокоэффективная жидкостная хроматография может использоваться для определения различий в энергетических веществах клеток в разных состояниях, проста в эксплуатации и обладает высокой чувствительностью.

Ферментативный метод основан на спектрофотометрии, при которой выработку АТФ оценивают путём измерения поглощающей способности NAD^+ в фосфоенолпирувате [29]. Методы флуоресцентного анализа были усовершенствованы в последние годы и широко используются для определения активности синтеза АТФ в митохондриях [30]. Использование флуоресцентных зондов в ряде случаев позволяет специфически идентифицировать АТФ в митохондриях с высокой чувствительностью [31, 32].

В последние годы появился многоцветный индикатор АТФ. В отличие от предыдущих индикаторов, которые могут определять только внутриклеточную АТФ, многоцветный индикатор АТФ основан на единственном флуоресцентном белковом индикаторе красного, зелёного и синего цветов [33]. Он может одновременно обнаруживать АТФ в разных органеллах одной клетки и одновременно определять динамику АТФ в митохондриях клеток млекопитающих и будет играть важную роль в продвижении исследований энергетического метаболизма в будущем.

ИССЛЕДОВАНИЕ КОМПЛЕКСОВ ДЫХАТЕЛЬНОЙ ЦЕПИ

Цепь переноса электронов, или дыхательная цепь митохондрий, выполняющая функции по выработке энергии, регуляции клеточного апоптоза и метаболизма кальция [34, 35], состоит из пяти комплексов, каждый из которых имеет важное значение и может играть ключевую роль в развитии заболеваний, связанных с дисфункцией митохондрий. Показано, что уменьшение образования макроэргических молекул неразрывно связано с нарушением транспорта электронов в дыхательной цепи митохондрий и разобщением реакций митохондриальных комплексов, что в свою очередь способствует активации гликолиза и снижению синтеза АТФ и активации каспаза-зависимого пути апоптоза [36]. Также дисфункция на уровне I и II комплексов приводит к повышению скорости образования супероксидного радикала [37]. Интенсификация анаэробных процессов окисления способствует накоплению недоокисленных продуктов обмена, сдвигу pH внутри клетки в кислую сторону, что ведёт к активации проапоптотических сигнальных молекул (белки семейства Bid/Bax) и запуску каспаза-независимого пути апоптоза, что усиливает апоптоз клеток [38]. Обнаружение и изучение активности митохондриальных комплексов дыхательной цепи является актуальной задачей, для решения которой в настоящее время в качестве метода первой линии применяются спектрофотометрические анализы [39].

Однако точность и чувствительность данных методов могут в большой степени изменяться в зависимости от различных внешних биохимических вмешательств, которые могут привести к изменениям кинетики ферментов [40]. В последние годы был достигнут большой прогресс в неинвазивном измерении митохондриальных комплексов с помощью спектроскопии ближнего инфракрасного диапазона. Этот метод аналогичен спектрофотометрии, но на него в меньшей степени влияет внешняя среда [41].

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СКОРОСТИ ПОТРЕБЛЕНИЯ КИСЛОРОДА МИТОХОНДРИЯМИ

Среди клеточных органелл митохондрии потребляют больше всего кислорода в клетках, и это потребление

кислорода отражает функцию митохондрий [42]. Оценка изменения дыхательной функции митохондрий в условиях различных патологий может являться базисом для разработки новых стратегий терапии «митохондриальных болезней», позволяющих устранить энергодифицит и сопряжённые с ним апоптоз и окислительную модификацию клеточных структур [43].

Полярнографический метод определения содержания кислорода является ценным методом оценки потребления кислорода митохондриями, позволяющим проводить исследование окислительной и фосфорилирующей активности митохондрий. Определение скорости дыхания митохондрий может проводиться в нескольких субстратных состояниях. При этом митохондрии могут находиться в пяти состояниях: V1 – дыхание осуществляется только за счёт имеющихся в митохондриях эндогенных субстратов и систем окисления и фосфорилирования; V2 – наступает после дополнительного внесения субстрата; V3 – возникает после совместного внесения АДФ и субстрата окисления, что сопровождается резким активированием процесса (лимитировать дыхание может только проницаемость митохондриальных мембран и скорость окисления); V4 – наступает вследствие истощения всей внесённой АДФ и её превращения в АТФ.

Для оценки функционального состояния митохондрий и сопряжения процессов окисления и фосфорилирования используется коэффициент дыхательного контроля по Чансу и Вильямсу (ДК) – отношение скорости поглощения кислорода в состоянии III к скорости поглощения кислорода в состоянии IV (отношение V3/V4) с нормальным значением, находящимся в диапазоне от 3 до 10 у. е. [44]. Низкое значение ДК указывает на нарушение синтеза митохондриальной АТФ и митохондриальную дисфункцию, а повышенное – на высокую клеточную активность и ускоренный метаболизм [45].

Кроме того, исследуется скорость потребления кислорода клетками (OCR, oxygen consumption rate) и скорость внеклеточного фосфорилирования (ECAR, extracellular acidification rate) в режиме реального времени для характеристики метаболического состояния клеток. Если OCR вызывается переносом электронов в митохондриях, то ECAR образуется в результате молочнокислого брожения (гликолитическое подкисление) и углекислого газа, вырабатываемого митохондриями (митохондриальное подкисление) [46].

Скорость потребления кислорода используется для изучения функции окислительного фосфорилирования митохондрий [47]. Как правило, сначала измеряют базальное дыхание в нормальном состоянии, а затем добавляют олигомицин для ингибирования АТФ-синтазы. Скорость потребления кислорода обусловлена утечкой протонов. С добавлением разобщающего агента окислительного фосфорилирования, такого как FCCP (карбонилцианид-4-(трифторметокси)-фенилгидразон), действие которого обусловлено пассивным переносом протонов через мембрану, перенос электронов теряет ограничения протонного градиента и протекает с максимальной скоростью [48]. Таким образом, OCR резко возрастает, достигая максимального потребления кис-

лорода (максимального дыхания); разница между этим значением и основным дыханием называется запасной дыхательной ёмкостью. Наконец, добавление ингибитора переноса электронов, такого как антимицин А, полностью подавляет перенос электронов и снижает скорость потребления кислорода до минимума [49]. Скорость внеклеточного фосфорилирования часто используется для изучения метаболических состояний, таких как гликолиз [46].

ИЗМЕРЕНИЕ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА

Считается, что основной причиной развития митохондриальной дисфункции служит образование АФК [50]. Известно, что основными источниками АФК в повреждённых кардиомиоцитах являются I и III комплексы дыхательной цепи митохондрий [51]. Существует прямая связь между мембранным потенциалом митохондрий и уровнем продукции АФК [52].

Митохондрии являются основным местом выработки АФК, образующихся в процессе клеточного окислительного фосфорилирования [53]. Уровни внутриклеточных АФК, включая супероксидные радикалы, перекись водорода и продукты её переработки (пероксиды и гидроксильные радикалы), поддерживаются на низком физиологическом уровне посредством функционирования внутриклеточной системы антиоксидантной защиты. При патологических состояниях нарушается баланс между функциональными возможностями внутриклеточной антиоксидантной системы и количеством кислородных радикалов, что приводит к повреждению митохондриальных и клеточных ферментов, липидов и нуклеиновых кислот с развитием окислительного стресса [54].

Распространённые методы обнаружения АФК включают метод химической реакции, метод селективного электрода, спектрофотометрию и прямое обнаружение с помощью наборов. Метод химических реакций характеризуется высокой чувствительностью, низкой стоимостью и простотой в эксплуатации; однако он обладает низкой специфичностью, и на результаты измерений легко влияют некоторые окислительно-восстановительные реакции или реакции, катализируемые ферментами. Тетранитрометан, нитротетразолиевый синий хлорид (NBT, nitro blue tetrazolium chloride), цитохром C, адреналин и восстановленный кофермент I обычно используются для спектрофотометрических методов; они вступают в реакцию с супероксидными анион-радикалами с образованием цитохромов железа со специфическим поглощением (обнаруживаемым при длине волны 550 нм), которое может быть использовано для прямого измерения уровней АФК [55]. NBT-тест высокочувствителен и обычно используется для гистохимической локализации кислородных радикалов. Цитохром C обладает окислительной активностью и может быть использован для обнаружения образования кислородных радикалов. Однако он легко восстанавливается, и поэтому его применение ограничено для точного определения АФК. За последнее десятилетие был разработан ряд наборов для опреде-

ления уровня АФК (mtROS, mitochondrial reactive oxygen species) непосредственно во внутриклеточной или митохондриальной среде.

До широкого использования наборов уровня АФК измерялись косвенно путём выявления продуктов окислительного повреждения. Так, уровни малонового диальдегида (МДА) отражают степень перекисного окисления липидов в организме и могут быть измерены с помощью химического колориметрического метода определения тиобарбитуровой кислоты (ТБК). Также разработаны методы обнаружения АФК на основе флуоресцентных белков путём их сочетания с прокариотическими редокс-чувствительными белками [56]. Рекомбинантные белки вводятся в клетки с помощью плазмид или аденовирусов и органелл-мишеней для определения внутриклеточного окислительно-восстановительного статуса по изменению спектра флуоресценции [57].

В последние годы появилась технология электронного спинного резонанса или парамагнитного резонанса (ЭПР), принцип которого аналогичен ядерному магнитному резонансу [58]. Этот метод позволяет измерить присутствие свободных радикалов в биологических образцах.

ИССЛЕДОВАНИЕ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК

Как известно, отличительной особенностью митохондрий является наличие собственной дезоксирибонуклеиновой кислоты (мтДНК). Митохондриальный геном представлен кольцевой двухцепочечной молекулой ДНК, кодирующей белки комплексов дыхательной цепи, молекулы информационной рибонуклеиновой кислоты (иРНК) и транспортной рибонуклеиновой кислоты (тРНК). При этом мтДНК по сравнению с ядерной ДНК является наиболее уязвимой в отношении повреждения её свободными радикалами и накопления ошибок в процессе репликации, проявляющихся в виде полиморфизмов и мутаций, вследствие отсутствия защитных гистонов и системы репарации [59]. Дисфункция мтДНК может быть количественной (например, изменение числа копий мтДНК и делеции) и качественной (например, разрывы нитей, точечные мутации и окислительное повреждение) [60].

Первые предположения о связи митохондриальных нарушений с развитием ряда заболеваний выдвигались достаточно давно, однако установить причину развития митохондриальных заболеваний удалось после открытия и расшифровки митохондриального генома, а также обнаружения его мутаций в 80-е гг. XX в. С тех пор число новых выявленных мутаций мтДНК постоянно растёт, как и объём информации об их взаимосвязи с отдельными патологиями органов и систем, в том числе и с ССЗ [61, 62]. В настоящее время известно, что мутации мтДНК вызывают нарушения нормального функционирования органелл и клеток и потенцируют процессы запрограммированной клеточной гибели [63]. В ряде исследований показана взаимосвязь мутаций мтДНК с развитием неблагоприятных сердечно-сосудистых событий, а также нарушением адаптации клеток к гипоксии [64].

Повреждение мтДНК можно обнаружить с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР), флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH, fluorescence *in situ* hybridization), технологии секвенирования ДНК и зондового метода [65]. В настоящее время в экспериментальных исследованиях используются флуоресцентные меченные зонды на основе нуклеиновых кислот для гибридизации с соответствующими молекулами ДНК или РНК-мишеней в клетках. Однако флуоресцентная сигнализация обладает низкой специфичностью по сравнению с ПЦР и не является методом выбора для обнаружения мтДНК [66].

Показано, что мтДНК может высвобождаться из клетки в виде циркулирующей свободной митохондриальной ДНК (CCF-mtDNA, circulating cell-free mitochondrial DNA) через внеклеточные везикулы (EVs, extracellular vesicles) [67]. CCF-мтДНК может служить молекулярным паттерном, связанным с повреждением, приводящим к активации процессов воспаления, способствующих развитию и прогрессированию ССЗ [68].

ИНСТРУМЕНТАЛЬНЫЕ МЕТОДЫ ОЦЕНКИ СТРУКТУРЫ И ФУНКЦИИ МТХ

Одним из современных инструментальных методов оценки митохондриальной функции КМЦ является сцинтиграфия миокарда с радиофармпрепаратами (РФП), меченными ^{99m}Tc . Накопление липофильного катионного агента ^{99m}Tc -метоксиизобутилизонитрила (^{99m}Tc -MIBI) в миокарде пропорционально миокардиальному кровотоку [69]. Физической основой метода являются проникновение РФП в клетку через сарколемму кардиомиоцита и его аккумуляция в отрицательно заряженных митохондриях (порядка 90 %), что было доказано при помощи сканирующей электронной микроскопии и рентгеновского микроанализа на колониях эмбриональных клеток куриных сердец [70]. Дальнейшее удержание индикатора в митохондриях также обусловлено мембранным потенциалом [71]. В эксперименте Р. Crane и соавт. [72] на субклеточной фракции митохондрий изолированных сердец крыс показано, что при увеличении концентрации ионов кальция (модель ишемизированного миокарда) происходило дозозависимое ускоренное вымывание ^{99m}Tc -MIBI из митохондрий, что является признаком их повреждения. Вместе с тем исследований, определяющих степень корреляции скорости вымывания ^{99m}Tc -MIBI с ультраструктурным состоянием митохондрий в КМЦ человека при ХСН, крайне мало. Так, исследовательская группа японских ученых выявила, что у пациентов с дилатационной кардиомиопатией скорость вымывания ^{99m}Tc -MIBI коррелирует с выраженностью повреждений митохондрий (в соответствии с тяжестью дегенерации крист) ($r = 0,88$; $p = 0,048$), количеством гликоген-положительных зон в цитоплазме КМЦ ($r = 0,90$; $p = 0,044$) по данным электронной микроскопии [73].

Другим методом исследования митохондрий кардиомиоцитов *in vivo* является фосфорная магнитно-резонансная спектроскопия, которая представляет собой неинвазивный метод, позволяющий получать информацию

об энергетическом состоянии клеток сердца посредством измерения соотношения фосфокреатинин/АТФ в миокарде, а также абсолютного уровня высокоэнергетических фосфатов [74]. При этом на большинстве сканеров магнитно-резонансной томографии необходимо наличие специализированного программного обеспечения и дополнительного оборудования, что затрудняет внедрение данного метода в клиническую практику [75]. Согласно данным систематического обзора, соотношение фосфокреатинин/АТФ, измеренное посредством фосфорной магнитно-резонансной спектроскопии, ассоциировано с нарушением систолической и диастолической функции сердца, концентрацией натрийуретического пептида, клиническими признаками застоя у больных с сердечной недостаточностью [75].

ОБСУЖДЕНИЕ

Таким образом, митохондрии являются центрами энергетического метаболизма клетки и имеют решающее значение для клеточного роста и развития, а их структурно-функциональные изменения ассоциированы с возникновением и прогрессированием ряда заболеваний, включая болезни сердечно-сосудистой системы.

С начала прошлого века разработано множество методов исследования структуры и функций митохондрий, начиная от открытия этих внутриклеточных органелл до возможности наблюдения их микроструктур с помощью электромагнитного излучения и использования флуоресцентных зондов для определения физиологических параметров митохондрий. Вместе с тем прямые исследования митохондриальной структуры и функции проводятся преимущественно на лабораторных животных или клеточных линиях, тогда как в реальной клинической практике данные методы на сегодняшний день не получили широкого распространения.

Согласно современным представлениям, митохондриальная дисфункция может быть фундаментальной основой развития и прогрессирования ХСН, в том числе у пациентов, перенёсших реваскуляризацию миокарда [76, 77]. У пациентов с ХСН дисфункциональные митохондрии характеризуются дисперсией размеров, дезорганизацией крист, изменением локализации относительно миофибрилл [78]. Наряду с этим на сегодняшний день остаётся дискуссионной тема о влиянии митохондриальной дисфункции на прогноз и клиническое течение ХСН. Прямое изучение структурно-функциональных особенностей митохондрий в КМЦ человека является крайне сложной задачей, в связи с чем подобные исследования проводятся крайне редко и на очень небольших когортах пациентов [73]. В клинических исследованиях с целью определения структурно-функционального состояния митохондрий КМЦ используются преимущественно косвенные лабораторные (определение концентрации митохондриальных маркеров в плазме крови, таких как цитохром С, оценка скорости поглощения кислорода митохондриями лейкоцитов периферической крови [79], определение числа копий мтДНК в крови) и ин-

струментальные методы (однофотонная эмиссионная компьютерная томография миокарда с оценкой скорости вымывания $^{99m}\text{Tc-MIBI}$ и фосфорная магнитно-резонансная спектроскопия (^{31}P MRS)) [80], диагностическая и прогностическая значимость которых на сегодняшний день изучена недостаточно.

Несмотря на достаточно широкий спектр возможностей изучения структурно-функционального состояния митохондрий КМЦ при ССЗ, включая ХСН, оцениваемые косвенные признаки митохондриальной дисфункции являются суррогатными маркерами, степень информативности которых необходимо изучить в сопоставлении с реальным состоянием ультраструктуры митохондрий КМЦ, клинической картиной заболевания и прогнозом пациентов. Таким образом, на сегодняшний день существует необходимость изучения ассоциации прямых ультраструктурных характеристик митохондрий в КМЦ с косвенными признаками митохондриальной дисфункции, а также с клиническим течением и исходами ХСН, что позволит получить принципиально новые фундаментальные знания о механизмах развития и прогрессирования данного патофизиологического феномена, оценить степень информативности суррогатных маркеров нарушения митохондриальной функции у пациентов с ХСН, что послужит основанием для внедрения изучаемых диагностических методов в реальную клиническую практику.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Благодаря достижениям современной науки структурно-функциональное состояние митохондрий КМЦ у пациентов с ХСН может быть оценено с помощью ряда косвенных диагностических методов, однако их чувствительность и специфичность, клиническое и прогностическое значение на сегодняшний день изучены недостаточно. Необходимо проведение клинических исследований, подтверждающих возможность использования и информативность доступных методов исследования митохондрий у пациентов с ХСН в сопоставлении с результатами непосредственной оценки ультраструктуры данных органелл с помощью электронной микроскопии образцов миокарда.

Финансирование

Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда (проект № 23-75-00009).

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. McDonagh T, Metra M. 2021 рекомендации ESC по диагностике и лечению острой и хронической сердечной недостаточности. *Российский кардиологический журнал*. 2023; 28(1): 5168. [McDonagh T, Metra M. 2021 ESC guidelines for the diagnosis

and treatment of acute and chronic heart failure. *Russian Journal of Cardiology*. 2023; 28(1): 5168. (In Russ.). doi: 10.15829/1560-4071-2023-5168

2. Scheffer DDL, Garcia AA, Lee L, Mochly-Rosen D, Ferreira JCB. Mitochondrial fusion, fission, and mitophagy in cardiac diseases: Challenges and therapeutic opportunities. *Antioxid Redox Signal*. 2022; 36(13-15): 844-863. doi: 10.1089/ars.2021.0145

3. Цыпленкова В.Г. Гистологические и ультраструктурные характеристики миокарда при сердечной недостаточности. *Кардиология*. 2013; 9: 58-62. [Tsyplenkova VG. Histological and ultrastructural characteristics of myocardium in heart failure. *Kardiologiya*. 2013; 9: 58-62. (In Russ.)].

4. Khoynezhad A, Jalali Z, Tortolani AJ. Apoptosis: Pathophysiology and therapeutic implications for the cardiac surgeon. *Ann Thorac Surg*. 2004; 78(3): 1109-1118. doi: 10.1016/j.athoracsurg.2003.06.034

5. Wiessner M, Maroofian R, Ni MY, Pedroni A, Müller JS, Stucka R, et al. Biallelic variants in HPDL cause pure and complicated hereditary spastic paraplegia. *Brain*. 2021; 144(5): 1422-1434. doi: 10.1093/brain/awab041

6. Huang L, Chen H, Luo Y, Rivenson Y, Ozcan A. Recurrent neural network-based volumetric fluorescence microscopy. *Light Sci Appl*. 2021; 10(1): 62. doi: 10.1038/s41377-021-00506-9

7. Судаков Н.П., Клименков И.В., Катышев А.И., Никифоров С.Б., Гольдберг О.А., Пушкарёв Б.Г., и др. Митохондриальная дисфункция при атеросклерозе и инфаркте миокарда: молекулярные и цитохимические маркеры. *Acta biomedica scientifica*. 2016; 1(3-2): 131-134. [Sudakov NP, Klimentov IV, Katyshev AI, Nikiforov SB, Goldberg OA, Pushkaryov BG, et al. Mitochondrial dysfunction at atherosclerosis and myocardial infarction: Molecular and cytochemical cell-markers. *Acta biomedica scientifica*. 2016; 1(3-2): 131-134. (In Russ.)]. doi: 10.12737/article_590823a517c941.46556762

8. Wong HH, Seet SH, Maier M, Gurel A, Traspas RM, Lee C, et al. Loss of C2orf69 defines a fatal autoinflammatory syndrome in humans and zebrafish that evokes a glycogen-storage-associated mitochondriopathy. *Am J Hum Genet*. 2021; 108(7): 1301-1317. doi: 10.1016/j.ajhg.2021.05.003

9. Fernström J, Ohlsson L, Asp M, Lavant E, Holck A, Grudet C, et al. Plasma circulating cell-free mitochondrial DNA in depressive disorders. *PLoS One*. 2021; 16(11): e0259591. doi: 10.1371/journal.pone.0259591

10. Pelletier-Galarneau M, Detmer FJ, Petibon Y, Normandin M, Ma C, Alpert NM, et al. Quantification of myocardial mitochondrial membrane potential using PET. *Curr Cardiol Rep*. 2021; 23(6): 70. doi: 10.1007/s11886-021-01500-8

11. Newman NJ, Yu-Wai-Man P, Carelli V, Moster ML, Biousse V, Vignal-Clermont C, et al. Efficacy and safety of intravitreal gene therapy for Leber hereditary optic neuropathy treated within 6 months of disease onset. *Ophthalmology*. 2021; 128(5): 649-660. doi: 10.1016/j.ophtha.2020.12.012

12. Kuwahara Y, Roudkenar MH, Suzuki M, Urushihara Y, Fukumoto M, Saito Y, et al. The Involvement of mitochondrial membrane potential in cross-resistance between radiation and docetaxel. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2016; 96(3): 556-565. doi: 10.1016/j.ijrobp.2016.07.002

13. Kadenbach B, Ramzan R, Moosdorf R, Vogt S. The role of mitochondrial membrane potential in ischemic heart failure. *Mitochondrion*. 2011; 11(5): 700-706. doi: 10.1016/j.mito.2011.06.001

14. Marchi S, Patergnani S, Missiroli S, Morciano G, Rimessi A, Wieckowski MR, et al. Mitochondrial and endoplasmic reticulum calcium homeostasis and cell death. *Cell Calcium*. 2018; 69: 62-72. doi: 10.1016/j.ceca.2017.05.003

15. Glancy B, Willis WT, Chess DJ, Balaban RS. Effect of calcium on the oxidative phosphorylation cascade in skeletal muscle mitochondria. *Biochemistry*. 2013; 52(16): 2793-2809. doi: 10.1021/bi3015983

16. Denton RM, McCormack JG, Edgell NJ. Role of calcium ions in the regulation of intramitochondrial metabolism. Effects of Na⁺, Mg²⁺ and ruthenium red on the Ca²⁺-stimulated oxidation of oxoglutarate and on pyruvate dehydrogenase activity in intact rat heart mitochondria. *Biochem J*. 1980; 190(1): 107-117. doi: 10.1042/bj1900107

17. Bauer TM, Murphy E. Role of mitochondrial calcium and the permeability transition pore in regulating cell death. *Circ Res*. 2020; 126(2): 280-293. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.119.316306

18. Duong QV, Hoffman A, Zhong K, Dessinger MJ, Zhang Y, Bazil JN. Calcium overload decreases net free radical emission in cardiac mitochondria. *Mitochondrion*. 2020; 51: 126-139. doi: 10.1016/j.mito.2020.01.005

19. Kembro JM, Cortassa S, Aon MA. Complex oscillatory redox dynamics with signaling potential at the edge between normal and pathological mitochondrial function. *Front Physiol*. 2014; 5: 257. doi: 10.3389/fphys.2014.00257

20. D'Oria R, Schipani R, Leonardini A, Natalicchio A, Perrini S, Cignarelli A, et al. The role of oxidative stress in cardiac disease: From physiological response to injury factor. *Oxid Med Cell Longev*. 2020; 2020: 5732956. doi: 10.1155/2020/5732956

21. Guo Q, Bi J, Wang H, Zhang X. Mycobacterium tuberculosis ESX-1-secreted substrate protein EspC promotes mycobacterial survival through endoplasmic reticulum stress-mediated apoptosis. *Emerg Microbes Infect*. 2021; 10(1): 19-36. doi: 10.1080/22221751.2020.1861913

22. Chinopoulos C. Mitochondrial permeability transition pore: Back to the drawing board. *Neurochem Int*. 2018; 117: 49-54. doi: 10.1016/j.neuint.2017.06.010

23. Briston T, Selwood DL, Szabadkai G, Duchon MR. Mitochondrial permeability transition: A molecular lesion with multiple drug targets. *Trends Pharmacol Sci*. 2019; 40(1): 50-70. doi: 10.1016/j.tips.2018.11.004

24. Burke PJ. Mitochondria, bioenergetics and apoptosis in cancer. *Trends Cancer*. 2017; 3(12): 857-870. doi: 10.1016/j.tre-can.2017.10.006

25. Shah SS, Lannon H, Dias L, Zhang JY, Alper SL, Pollak MR, et al. APOL1 kidney risk variants induce cell death via mitochondrial translocation and opening of the mitochondrial permeability transition pore. *J Am Soc Nephrol*. 2019; 30(12): 2355-2368. doi: 10.1681/ASN.2019020114

26. Lee P, Chandel NS, Simon MC. Cellular adaptation to hypoxia through hypoxia inducible factors and beyond. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2020; 21(5): 268-283. doi: 10.1038/s41580-020-0227-y

27. Rambold AS, Pearce EL. Mitochondrial dynamics at the interface of immune cell metabolism and function. *Trends Immunol*. 2018; 39(1): 6-18. doi: 10.1016/j.it.2017.08.006

28. Guntur AR, Gerencser AA, Le PT, DeMambro VE, Bornstein SA, Mookerjee SA, et al. Osteoblast-like MC3T3-E1 cells prefer glycolysis for ATP production but adipocyte-like 3T3-L1 cells prefer

oxidative phosphorylation. *J Bone Miner Res.* 2018; 33(6): 1052-1065. doi: 10.1002/jbmr.3390

29. Dorr BM, Fuerst DE. Enzymatic amidation for industrial applications. *Curr Opin Chem Biol.* 2018; 43: 127-133. doi: 10.1016/j.cbpa.2018.01.008

30. Ishida A, Yamada Y, Kamidate T. Colorimetric method for enzymatic screening assay of ATP using Fe(III)-xylenol orange complex formation. *Anal Bioanal Chem.* 2008; 392(5): 987-994. doi: 10.1007/s00216-008-2334-z

31. Ušaj M, Moretto L, Vemula V, Salhotra A, Månsson A. Single molecule turnover of fluorescent ATP by myosin and actomyosin unveil elusive enzymatic mechanisms. *Commun Biol.* 2021; 4(1): 64. doi: 10.1038/s42003-020-01574-0

32. Vasta JD, Corona CR, Wilkinson J, Zimprich CA, Hartnett JR, Ingold MR, et al. Quantitative, wide-spectrum kinase profiling in live cells for assessing the effect of cellular ATP on target engagement. *Cell Chem Biol.* 2018; 25(2): 206-214.e11. doi: 10.1016/j.chembiol.2017.10.010

33. Mita M, Sugawara I, Harada K, Ito M, Takizawa M, Ishida K, et al. Development of red genetically encoded biosensor for visualization of intracellular glucose dynamics. *Cell Chem Biol.* 2022; 29(1): 98-108.e4. doi: 10.1016/j.chembiol.2021.06.002

34. Mollazadeh H, Tavana E, Fanni G, Bo S, Banach M, Pirro M, et al. Effects of statins on mitochondrial pathways. *J Cachexia Sarcopenia Muscle.* 2021; 12(2): 237-251. doi: 10.1002/jcsm.12654

35. Vercellino I, Sazanov LA. The assembly, regulation and function of the mitochondrial respiratory chain. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2022; 23(2): 141-161. doi: 10.1038/s41580-021-00415-0

36. Ferrari D, Stepczynska A, Los M, Wesselborg S, Schulze-Osthoff K. Differential regulation and ATP requirement for caspase-8 and caspase-3 activation during CD95- and anticancer drug-induced apoptosis. *J Exp Med.* 1998; 188(5): 979-984. doi: 10.1084/jem.188.5.979

37. Di Meo S, Reed TT, Venditti P, Victor VM. Role of ROS and RNS sources in physiological and pathological conditions. *Oxid Med Cell Longev.* 2016; 2016: 1245049. doi: 10.1155/2016/1245049

38. Khacho M, Tarabay M, Patten D, Khacho P, MacLaurin JG, Guadagno J, et al. Acidosis overrides oxygen deprivation to maintain mitochondrial function and cell survival. *Nat Commun.* 2014; 5: 3550. doi: 10.1038/ncomms4550

39. Wang M, Ren X, Wang L, Lu X, Han L, Zhang X, et al. A functional analysis of mitochondrial respiratory chain cytochrome bc1 complex in *Gaeumannomyces tritici* by RNA silencing as a possible target of carbonyl. *Mol Plant Pathol.* 2020; 21(12): 1529-1544. doi: 10.1111/mp.12993

40. Cogliati S, Lorenzi I, Rigoni G, Caicci F, Soriano ME. Regulation of mitochondrial electron transport chain assembly. *J Mol Biol.* 2018; 430(24): 4849-4873. doi: 10.1016/j.jmb.2018.09.016

41. Weinberg SE, Singer BD, Steinert EM, Martinez CA, Mehta MM, Martínez-Reyes I, et al. Mitochondrial complex III is essential for suppressive function of regulatory T cells. *Nature.* 2019; 565(7740): 495-499. doi: 10.1038/s41586-018-0846-z

42. Nesci S, Pagliarini A, Algieri C, Trombetti F. Mitochondrial F-type ATP synthase: Multiple enzyme functions revealed by the membrane-embedded FO structure. *Crit Rev Biochem Mol Biol.* 2020; 55(4): 309-321. doi: 10.1080/10409238.2020.1784084

43. Banh RS, Iorio C, Marcotte R, Xu Y, Cojocari D, Rahman AA, et al. PTP1B controls non-mitochondrial oxygen consumption

by regulating RNF213 to promote tumour survival during hypoxia. *Nat Cell Biol.* 2016; 18(7): 803-813. doi: 10.1038/ncb3376

44. Baumann K. mtDNA robs nuclear dNTPs. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2019; 20(11): 663. doi: 10.1038/s41580-019-0182-7

45. Zhu SC, Chen C, Wu YN, Ahmed M, Kitmitto A, Greenstein AS, et al. Cardiac complex II activity is enhanced by fat and mediates greater mitochondrial oxygen consumption following hypoxic re-oxygenation. *Pflugers Arch.* 2020; 472(3): 367-374. doi: 10.1007/s00424-020-02355-8

46. Gu X, Ma Y, Liu Y, Wan Q. Measurement of mitochondrial respiration in adherent cells by Seahorse XF96 cell mito stress test. *STAR Protoc.* 2020; 2(1): 100245. doi: 10.1016/j.xpro.2020.100245

47. Eagleson KL, Villaneuva M, Southern RM, Levitt P. Proteomic and mitochondrial adaptations to early-life stress are distinct in juveniles and adults. *Neurobiol Stress.* 2020; 13: 100251. doi: 10.1016/j.ynstr.2020.100251

48. Nishida M, Yamashita N, Ogawa T, Koseki K, Warabi E, Ohue T, et al. Mitochondrial reactive oxygen species trigger metformin-dependent antitumor immunity via activation of Nrf2/mTORC1/p62 axis in tumor-infiltrating CD8T lymphocytes. *J Immunother Cancer.* 2021; 9(9): e002954. doi: 10.1136/jitc-2021-002954

49. Nishida Y, Nawaz A, Kado T, Takikawa A, Igarashi Y, Onogi Y, et al. Astaxanthin stimulates mitochondrial biogenesis in insulin resistant muscle via activation of AMPK pathway. *J Cachexia Sarcopenia Muscle.* 2020; 11(1): 241-258. doi: 10.1002/jcsm.12530

50. Панов А.В., Дикалов С.И., Даренская М.А., Рычкова Л.В., Колесникова Л.И., Колесников С.И. Митохондрии: старение, метаболический синдром и сердечно-сосудистая патология. Становление новой парадигмы. *Acta biomedica scientifica.* 2020; 5(4): 33-44. [Panov AV, Dikalov SI, Darenskaya MA, Rychkova LV, Kolesnikova LI, Kolesnikov SI. Mitochondria: Aging, metabolic syndrome and cardiovascular diseases. formation of a new paradigm. *Acta biomedica scientifica.* 2020; 5(4): 33-44. (In Russ.)]. doi: 10.29413/ABS.2020-5.4.5

51. Boengler K, Kosiol M, Mayr M, Schulz R, Rohrbach S. Mitochondria and ageing: Role in heart, skeletal muscle and adipose tissue. *J Cachexia Sarcopenia Muscle.* 2017; 8(3): 349-369. doi: 10.1002/jcsm.12178

52. Sanderson TH, Reynolds CA, Kumar R, Przyklenk K, Hüttemann M. Molecular mechanisms of ischemia-reperfusion injury in brain: Pivotal role of the mitochondrial membrane potential in reactive oxygen species generation. *Mol Neurobiol.* 2013; 47(1): 9-23. doi: 10.1007/s12035-012-8344-z

53. Koch RE, Josefson CC, Hill GE. Mitochondrial function, ornamentation, and immunocompetence. *Biol Rev Camb Philos Soc.* 2017; 92(3): 1459-1474. doi: 10.1111/brv.12291

54. Zhu X, Liu G, Bu Y, Zhang J, Wang L, Tian Y, et al. *In situ* monitoring of mitochondria regulating cell viability by the RNA-specific fluorescent photosensitizer. *Anal Chem.* 2020; 92(15): 10815-10821. doi: 10.1021/acs.analchem.0c02298

55. Yang J, Chen Z, Liu N, Chen Y. Ribosomal protein L10 in mitochondria serves as a regulator for ROS level in pancreatic cancer cells. *Redox Biol.* 2018; 19: 158-165. doi: 10.1016/j.redox.2018.08.016

56. Jiang X, Wang L, Carroll SL, Chen J, Wang MC, Wang J. Challenges and opportunities for small-molecule fluorescent probes in redox biology applications. *Antioxid Redox Signal.* 2018; 29(6): 518-540. doi: 10.1089/ars.2017.7491

57. Ortega-Villasante C, Burén S, Blázquez-Castro A, Barón-Sola Á, Hernández LE. Fluorescent *in vivo* imaging of reactive

oxygen species and redox potential in plants. *Free Radic Biol Med.* 2018; 122: 202-220. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2018.04.005

58. Gotham JP, Li R, Tipple TE, Lancaster JR Jr, Liu T, Li Q. Quantitation of spin probe-detectable oxidants in cells using electron paramagnetic resonance spectroscopy: To probe or to trap? *Free Radic Biol Med.* 2020; 154: 84-94. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2020.04.020

59. Wanrooij PH, Tran P, Thompson LJ, Carvalho G, Sharma S, Kreisel K, et al. Elimination of rNMPs from mitochondrial DNA has no effect on its stability. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2020; 117(25): 14306-14313. doi: 10.1073/pnas.1916851117

60. Chiang JL, Shukla P, Pagidas K, Ahmed NS, Karri S, Gunn DD, et al. Mitochondria in ovarian aging and reproductive longevity. *Ageing Res Rev.* 2020; 63: 101168. doi: 10.1016/j.arr.2020.101168

61. Корепанов В.А., Реброва Т.Ю., Атабеков Т.А., Афанасьев С.А. Возможная роль митохондриальной дисфункции в аритмогенезе при ишемической болезни сердца. *Сибирский журнал клинической и экспериментальной медицины.* 2023; 38(4): 236-242. [Korepanov VA, Rebrova TY, Atabekov TA, Afanasiev SA. Potential role of mitochondrial dysfunction in arrhythmogenesis in coronary artery disease. *Siberian Journal of Clinical and Experimental Medicine.* 2023; 38(4): 236-242. (In Russ.)]. doi: 10.29001/2073-8552-2023-38-4-236-242

62. Kuzheleva EA, Garganeeva AA, Tukish OV, Nesova AK, Golubenkov MV, Andreev SL, et al. The role of rs2238296 of the mitochondrial DNA polymerase gamma gene in combination with polymorphic variants of antioxidant defense genes in the development of postinfarction left ventricular aneurysm. *Russian Journal of Genetics.* 2023; 59: 97-103. doi: 10.1134/s1022795423010076

63. Kujoth GC, Hiona A, Pugh TD, Someya S, Panzer K, Wohlge-muth SE, et al. Mitochondrial DNA mutations, oxidative stress, and apoptosis in mammalian aging. *Science.* 2005; 309(5733): 481-484. doi: 10.1126/science.1112125

64. Понасенко А.В., Цепочкина А.В., Тхоренко Б.А., Голубенко М.В., Губиева Е.К., Трефилова Л.П. Изменчивость митохондриальной ДНК в развитии атеросклероза и инфаркта миокарда (обзор литературы). *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний.* 2018; 7(4S): 75-85. [Ponassenko AV, Tsepokina AV, Tkhorenko BA, Golubenkov MV, Gubieva EK, TrephiloVA LP. Variability of mitochondrial DNA in the development of atherosclerosis and myocardial infarction (a review). *Complex Issues of Cardiovascular Diseases.* 2018; 7(4S): 75-85. (In Russ.)]. doi: 10.17802/2306-1278-2018-7-4S-75-85

65. Wang J, Balciuniene J, Diaz-Miranda MA, McCormick EM, Aref-Eshghi E, Muir AM, et al. Advanced approach for comprehensive mtDNA genome testing in mitochondrial disease. *Mol Genet Metab.* 2022; 135(1): 93-101. doi: 10.1016/j.ymgme.2021.12.006

66. Klionsky DJ, Abdel-Aziz AK, Abdelfatah S, Abdellatif M, Abdoli A, Abel S, et al. Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring autophagy (4th edition). *Autophagy.* 2021; 17(1): 1-382. doi: 10.1080/15548627.2020.1797280

67. Li H, Slone J, Fei L, Huang T. Mitochondrial DNA variants and common diseases: A mathematical model for the diversity of age-related mtDNA mutations. *Cells.* 2019; 8(6): 608. doi: 10.3390/cells8060608

68. West AP, Shadel GS. Mitochondrial DNA in innate immune responses and inflammatory pathology. *Nat Rev Immunol.* 2017; 17(6): 363-375. doi: 10.1038/nri.2017.21

69. Carvalho PA, Chiu ML, Kronauge JF, Kawamura M, Jones AG, Holman BL, et al. Subcellular distribution and analysis of technetium-99m-MIBI in isolated perfused rat hearts. *J Nucl Med.* 1992; 33(8): 1516-1522.

70. Backus M, Piwnicka-Worms D, Hockett D, Kronauge J, Lieberman M, Ingram P, et al. Microprobe analysis of Tc-MIBI in heart cells: Calculation of mitochondrial membrane potential. *Am J Physiol.* 1993; 265(1 Pt 1): C178-C187. doi: 10.1152/ajpcell.1993.265

71. Kawamoto A, Kato T, Shioi T, Okuda J, Kawashima T, Tamaki Y, et al. Measurement of technetium-99m sestamibi signals in rats administered a mitochondrial uncoupler and in a rat model of heart failure. *PLoS One.* 2015; 10(1): e0117091. doi: 10.1371/journal.pone.0117091

72. Crane P, Laliberté R, Heminway S, Thoolen M, Orlandi C. Effect of mitochondrial viability and metabolism on technetium-99m-sestamibi myocardial retention. *Eur J Nucl Med.* 1993; 20(1): 20-25. doi: 10.1007/BF02261241

73. Hayashi D, Ohshima S, Isobe S, Cheng XW, Unno K, Funahashi H, et al. Increased (99m)Tc-sestamibi washout reflects impaired myocardial contractile and relaxation reserve during dobutamine stress due to mitochondrial dysfunction in dilated cardiomyopathy patients. *J Am Coll Cardiol.* 2013; 61(19): 2007-2017. doi: 10.1016/j.jacc.2013.01.074

74. Tsampasian V, Swift AJ, Assadi H, Chowdhary A, Swoboda P, Sammut E, et al. Myocardial inflammation and energetics by cardiac MRI: A review of emerging techniques. *BMC Med Imaging.* 2021; 21(1): 164. doi: 10.1186/s12880-021-00695-0

75. Meyerspeer M, Boesch C, Cameron D, Dezortová M, Forbes SC, Heerschap A, et al. 31P magnetic resonance spectroscopy in skeletal muscle: Experts' consensus recommendations. *NMR Biomed.* 2020; 34(5): e4246. doi: 10.1002/nbm.4246

76. Holley CT, Long EK, Lindsey ME, McFalls EO, Kelly RF. Recovery of hibernating myocardium: What is the role of surgical revascularization? *J Card Surg.* 2015; 30(2): 224-231. doi: 10.1111/jocs.12477

77. Botker HE, Cabrera-Fuentes HA, Ruiz-Meana M, Heusch G, Ovize M. Translational issues for mitoprotective agents as adjunct to reperfusion therapy in patients with ST-segment elevation myocardial infarction. *J Cell Mol Med.* 2020; 24(5): 2717-2729. doi: 10.1111/jcmm.14953

78. Unno K, Isobe S, Izawa H, Cheng XW, Kobayashi M, Hira-shiki A, et al. Relation of functional and morphological changes in mitochondria to myocardial contractile and relaxation reserves in asymptomatic to mildly symptomatic patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Eur Heart J.* 2009; 30(15): 1853-1862. doi: 10.1093/eurheartj/ehp184

79. Афанасьев С.А., Муслимова Э.Ф., Реброва Т.Ю., Цапко Л.П., Керчева М.А., Голубенко М.В. Особенности функционального состояния митохондрий лейкоцитов периферической крови у пациентов с острым инфарктом миокарда. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* 2020; 169(4): 435-437. [Afanas'ev SA, Muslimova EF, Rebrova TY, Tsapko LP, Kercheva MA, Golubenkov MV. Peculiarities of the functional state of mitochondria of peripheral blood leukocytes in patients with acute myocardial infarction. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine.* 2020; 169(4): 435-437. (In Russ.)]. doi: 10.1007/s10517-020-04903-9

80. Tsampasian V, Cameron D, Sobhan R, Bazoukis G, Vassiliou VS. Phosphorus magnetic resonance spectroscopy (31P MRS) and cardiovascular disease: The importance of energy. *Medicina (Kaunas).* 2023; 59(1): 174. doi: 10.3390/medicina59010174

Сведения об авторах

Гарганеева Алла Анатольевна – доктор медицинских наук, профессор, заведующая отделением патологии миокарда, Научно-исследовательский институт кардиологии – филиал ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН», e-mail: aag@cardio-tomsk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9488-6900>

Тукиш Ольга Викторовна – кандидат медицинских наук, научный сотрудник отделения патологии миокарда, Научно-исследовательский институт кардиологии – филиал ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН», e-mail: olgatukish@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7661-5808>

Кужелева Елена Андреевна – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отделения патологии миокарда, Научно-исследовательский институт кардиологии – филиал ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН», e-mail: snigireva1209@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8070-2234>

Муслимова Эльвира Фаритовна – кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории молекулярно-клеточной патологии и генодиагностики, Научно-исследовательский институт кардиологии – филиал ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН», e-mail: muslimovef@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7361-2161>

Гуля Марина Олеговна – кандидат медицинских наук, младший научный сотрудник отделения рентгеновских и томографических методов диагностики, врач-рентгенолог лаборатории радионуклидных методов исследования, Научно-исследовательский институт кардиологии – филиал ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН», e-mail: mgulyatomsk@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5689-9754>

Федюнина Вера Александровна – врач-кардиолог, ООО «Медлайт», e-mail: vera-aleksandrovna-1993@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1437-8250>

Попов Сергей Валентинович – доктор медицинских наук, академик РАН, директор, Научно-исследовательский институт кардиологии – филиал ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН», e-mail: psv@cardio-tomsk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9050-4493>

Information about the authors

Alla A. Garganeeva – Dr. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department of Myocardial Pathology, Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, e-mail: aag@cardio-tomsk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9488-6900>

Olga V. Tukish – Cand. Sc. (Med.), Research Officer at the Department of Myocardial Pathology, Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, e-mail: olgatukish@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7661-5808>

Elena A. Kuzheleva – Cand. Sc. (Med.), Research Officer at the Department of Myocardial Pathology, Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, e-mail: snigireva1209@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8070-2234>

Elvira F. Muslimova – Cand. Sc. (Med.), Research Officer at the Laboratory of Molecular Cell Pathology and Genodiagnostics, Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, e-mail: muslimovef@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7361-2161>

Marina O. Gulya – Cand. Sc. (Med.), Radiologist at the Laboratory of Radionuclide Research Methods, Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, e-mail: mgulyatomsk@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5689-9754>

Vera A. Fedunina – Cardiologist, Medlight LLC, e-mail: vera-aleksandrovna-1993@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1437-8250>

Sergey V. Popov – Dr. Sc. (Med.), Member of the RAS, Director, Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, e-mail: psv@cardio-tomsk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9050-4493>