

ТОЧЕЧНЫЕ МУТАЦИИ В МИТОХОНДРИАЛЬНОМ ГЕНОМЕ СКЕЛЕТНОЙ МУСКУЛАТУРЫ У БОЛЬНЫХ ОСТЕОАРТРИТАМИ

Гончаров А.Г.¹, Джигкаев А.Х.^{1,2}, Лобанова В.В.¹, Козенков И.И.¹,
Хайбулин Э.В.¹, Попадьян К.Ю.¹, Гунбин К.В.¹

¹ ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта», г. Калининград, Россия

² ФГБУ «Федеральный центр высоких медицинских технологий» Министерства здравоохранения РФ,
г. Калининград, Россия

Резюме. Остеоартриты (ОА) относятся к наиболее распространенным заболеваниям костно-мышечной системы сопровождающимся высоким уровнем инвалидизации. В патогенезе этих возраст-ассоциированных заболеваний среди ведущих факторов выделяют взаимосвязанные между собой процессы «воспалительного старения» и митохондриальной дисфункции, которые приводят к развитию хронического воспаления и дегенерации всех компонентов сустава. В статье приведены результаты оценки уровня точечных мутаций в митохондриальном геноме околосуставной мышечной ткани у пациентов с первичным (экспериментальная группа) и посттравматическими (контрольная группа) ОА. В исследовании приняло участие 67 добровольцев в возрасте старше 53 лет с основным диагнозом «посттравматический или первичный гонартроз / коксартроз 3-й стадии». Диагноз ставился на основании анамнеза, жалоб, клинической картины и данных рентгенологического обследования. Материалом для исследования были образцы мышечной ткани объемом от 80 до 100 кубических миллиметров, полученные при выполнении операции по эндопротезированию коленного или тазобедренного суставов. Для выделения, обогащения и очистки было адаптировано несколько методик, которые позволили получать из биопсийного материала до 500 нг митохондриальной ДНК (мтДНК). Подготовленные библиотеки мтДНК проходили секвенирование на NGS-платформе. Биоинформатический анализ проводился с использованием программ: MitoHPC (для выявления редких однонуклеотидных мутаций мтДНК), MitoSAlt (для выявления редких делеций на уровне мтДНК) и Splice-Break2 (для выявления редких делеций на уровне РНК-транскриптов мтДНК). Обнаружены точечные мутации A189G (аденин в гуанин в позиции 189) и T408A (тимин в аденин в позиции 408). В контрольной группе у 7 пациентов обнаружена мутация A189G и у 8 волонтеров T408A (у 6 из 9 человек выявлены обе мутации). В экспериментальной группе мутация A189G найдена у 43 из 58 пациентов, T408A – у 35 добровольцев. В этой группе у волонтеров обе мутации отмечены у 19 испытуемых. Уровень частоты

Адрес для переписки:

Гончаров Андрей Геннадьевич
ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет
имени Иммануила Канта»
236010, Россия, г. Калининград, пр. Победы, 189, кв. 15.
Тел.: 8 (911) 865-20-66.
E-mail: agoncharov59@mail.ru

Address for correspondence:

Andrey G. Goncharov
Immanuel Kant Baltic Federal University
189 Pobedy Ave, Apt 15
Kaliningrad
236010 Russian Federation
Phone: +7 (911) 865-20-66.
E-mail: agoncharov59@mail.ru

Образец цитирования:

А.Г. Гончаров, А.Х. Джигкаев, В.В. Лобанова,
И.И. Козенков, Э.В. Хайбулин, К.Ю. Попадьян,
К.В. Гунбин «Точечные мутации в митохондриальном
геноме скелетной мускулатуры у больных
остеоартритами» // Российский иммунологический
журнал, 2025. Т. 28, № 2. С. 263-270.
doi: 10.46235/1028-7221-17012-PMI

© Гончаров А.Г. и соавт., 2025
Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

A.G. Goncharov, A.Kh. Dzhigkaev, V.V. Lobanova,
I.I. Kozenkov, E.V. Khaibulin, K.Yu. Popadin, K.V. Gunbin
“Point mutations in the mitochondrial genome of skeletal
muscle in patients with osteoarthritis”, Russian Journal
of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2025,
Vol. 28, no. 2, pp. 263-270.
doi: 10.46235/1028-7221-17012-PMI

© Goncharov A.G. et al., 2025
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.46235/1028-7221-17012-PMI

мутаций, выраженный в частоте аллелей (VAF), в экспериментальной группе достоверно превышал показатели контрольной группы. В экспериментальной группе, в отличие от контрольной, установлена достоверная коррелятивная связь между наличием повышенного уровня мутаций в митохондриальном геноме и рядом клинико-лабораторных показателей добровольцев. Описанные в работе мутации в митохондриальном геноме околосуставной мышечной ткани, по-видимому, связаны как с процессами старения, так и с непосредственным развитием возраст-ассоциированной патологии — остеоартрита. Выявленные у наших пациентов из экспериментальной группы повышенные уровни мутаций в позициях 189 и 408 регуляторной области митохондриального генома, по-видимому, связаны как с повышенным уровнем мутаций, характерным для патологического старения, так и, возможно, с генотоксическим влиянием повышенных доз нестероидных противовоспалительных средств на митохондриальный геном.

Ключевые слова: остеоартриты, воспаление, старение, митохондрии, мутации, мышцы

POINT MUTATIONS IN THE MITOCHONDRIAL GENOME OF SKELETAL MUSCLE IN PATIENTS WITH OSTEOARTHRITIS

Goncharov A.G.^a, Dzhigkaev A.Kh.^{a,b}, Lobanova V.V.^a, Kozenkov I.I.^a, Khaibulin E.V.^a, Popadin K.Yu.^a, Gunbin K.V.^a

^a Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russian Federation

^b Federal Center for High Medical Technologies, Kaliningrad, Russian Federation

Abstract. Osteoarthritis (OA) is one of the most common diseases of the musculoskeletal system, accomplished by a high level of disability. The leading pathogenetic factors of these age-associated diseases include the interrelated processes of “inflammatory aging” and mitochondrial dysfunction, which lead to the development of chronic inflammation and degradation of different joint tissues. The present article contains results about point mutations in mitochondrial genome of peri-articular muscular tissues in the patients with primary OA (experimental group) and post-traumatic osteoarthritis (control group). The study involved 67 volunteers over 53 years old with basic diagnosis of post-traumatic or primary gonarthrosis / coxarthrosis stage 3. Clinical diagnosis was made on the basis of medical history, complaints, clinical and X-ray examination data. The material for the study included the samples of muscles (80 to 100 mm³) obtained at knee or hip replacement surgery. Several techniques have been adapted for isolation, enrichment and purification of nucleic acids, thus allowing to obtain up to 500 ng of mitochondrial DNA (mtDNA) from the biopsies. The prepared mtDNA libraries were sequenced at NGS platform. Bioinformatic analysis was carried out using the following programs: MitoHPC (to detect rare single-nucleotide mutations of mtDNA), MitoSAlt (to detect rare deletions at the mtDNA level) and Splice-Break2 (to detect rare deletions at the level of mtDNA RNA transcripts). Common point mutations A189G (adenine to guanine at position 189) and T408A (thymine to adenine at position 408) were detected. In the control group, the A189G mutation was revealed in 7 patients and T408A mutation was found in 8 volunteers (both mutations were detected in 6 out of 9 persons). In experimental group, the A189G mutation was found in 43 of 58 patients, T408A — in 35 volunteers. In this group of volunteers, both mutations were registered in 19 subjects. The level of mutation frequency, expressed as allele frequency (VAF) in the experimental group significantly exceeded that of the control group. Moreover, in experimental group, unlike control group, a significant correlative relationship was established between the presence of an increased level of mutations in the mitochondrial genome, and a number of clinical and laboratory parameters in volunteers. The described mutations in the mitochondrial genome of periarticular muscle tissue seem to be associated both with aging process and with the direct development of age-associated pathology, i.e., osteoarthritis. The increased levels of mutations in positions 189 and 408 of the regulatory region of mitochondrial genes detected in our patients are apparently associated with both increased level of mutations typical of pathological aging and, possibly, with genotoxic effects of high-dose therapy with non-steroidal anti-inflammatory drugs on mitochondrial genome.

Keywords: osteoarthritis, inflammation, aging, mitochondria, mutations, muscles

Исследование выполнено за счет средств гранта Российского научного фонда (проект № 21-75-20145).

Работа выполнена на базе образовательно-научного кластера «Институт медицины и наук о жизни» ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта», Минобрнауки России, Калининград, Россия.

Введение

Остеоартриты (ОА) являются наиболее распространенной формой артритов в мире. По разным оценкам в мире ими страдают от 3 до 20 процентов населения, и в перспективе заболеваемость будет только возрастать [2]. Особую социальную значимость этой группе заболеваний придает не только частота встречаемости, но и высокий уровень инвалидизации пациентов. Основной удельный вес в структуре ОА занимают первичные остеоартриты. В патогенезе этих возраст-ассоциированных заболеваний среди ведущих факторов выделяют взаимосвязанные между собой процессы «воспалительного старения» и митохондриальной дисфункции, которые приводят к развитию хронического воспаления и дегенерации всех компонентов сустава [1]. Роль митохондриальной гетероплазмии и связанными с ней нарушениями процессов митофагии в развитии хронического воспаления суставов в настоящее время не вызывает сомнения [6]. В воспаление при ОА вовлекаются не только хрящевая ткань, но и все компоненты сустава: связки, субхондральная кость, мениски, синовиальная оболочка, суставная капсула и околоуставные мышцы. Оценить наличие митохондриальных мутаций в основных компонентах сустава достаточно проблематично, например, в суставном хряще хондроциты составляют всего один процент от общей массы хряща. Поэтому изучение вовлеченной в патологический процесс околоуставной мышечной ткани, богатой митохондриями, представляется логичным. Кроме того, поскольку мышцы скелетной мускулатуры являются постмитотическими тканями, для которых характерна низкая скорость обновления митохондрий, ее исследование у лиц пожилого возраста позволит расширить представления о механизмах старения.

Цель — изучить уровень точечных мутаций в митохондриальном геноме околоуставной мышечной ткани у пациентов с первичным и посттравматическими ОА.

Материалы и методы

Материалом для исследования были образцы мышечной ткани объемом от 80 до 100 кубиче-

ских миллиметров, полученные при выполнении операции по эндопротезированию коленного или тазобедренного суставов. Получение биоптатов такого объема безопасно, не наносит вреда здоровью пациента и не сказывается на дальнейшем процессе восстановления прооперированного больного. Забор биопсийного материала проводился в отделении травматологии и ортопедии ФГБУ «Центр высоких медицинских технологий» МЗ РФ (п. Родники, Калининградская обл.). Все добровольцы перед операцией дали Информированное согласие на участие в научной работе, которая проводилась в строгом соответствии с Международными биоэтическими нормами и правилами. На исследование получены положительные заключения независимого этического комитета ФГАОУ ВО БФУ им. И. Канта и этического комитета ФГБУ «ФЦВМТ» МЗ РФ.

Контингент обследованных

В соответствии с рекомендациями поиска митохондриальных мутаций, ассоциированных со старением, из всех обследованных были исключены добровольцы в возрасте моложе 53 лет [8, 15]. Всего в исследовании приняло участие 67 добровольцев. Средний возраст составил $68,09 \pm 6,44$ года. Распределение по полу: женщины — 40, мужчины — 17. У всех добровольцев при поступлении в клинику основной диагноз «гонартроз/коккартроз 3-й стадии». С учетом патогенеза заболевания пациенты были распределены на две группы: посттравматический ОА (9 человек, контрольная группа) и первичный ОА (58 человек, экспериментальная группа). Диагноз ставился на основании анамнеза, жалоб, клинической картины и данных рентгенологического обследования. Средний возраст в контрольной и экспериментальной группах составил $64,78 \pm 5,83$ и $68,74 \pm 6,41$ года соответственно. В анамнезе испытуемые указали стаж заболевания от 5 до 10 лет. Со слов добровольцев, в этот период с целью купирования болевого синдрома, по назначению терапевта они регулярно принимали различные нестероидные противовоспалительные средства (НПВС). Наиболее часто принимались препараты: индометацин, кетопрофен, ибупрофен, диклофенак, нимесулид. В отдельных случаях пациенты самостоятельно превышали рекомендованную максимальную терапевтическую дозу НПВС и длительность курсового приема. Наиболее типичной сопутствующей патологией у наших добровольцев была гипертоническая болезнь 2-й стадии 2-3-й степени риска, хронический гастрит в стадии ремиссии.

Методы исследования

Все добровольцы проходили измерение роста, веса, силы мышц, артериального давления. Перед операцией оценивались результаты биохимического и общего анализов крови. У всех

пациентов дополнительно были рассчитаны лейкоцитарные индексы. Выделение и очистка мтДНК проводилась на следующий день после получения биопсийного материала в Центре геномных исследований БФУ им. И. Канта. Для выделения, обогащения и очистки было адаптировано несколько методик [3], которые позволили получать из биопсийного материала до 500 нг мтДНК. Степень чистоты мтДНК от примесей проверялась методом ПЦР-скрининга по участку гена бета-актина и Alu-повторам в человеческом геноме. Для нормировки количества геномного материала была разработана методика количественной оценки копийности мтДНК. Подготовленные библиотеки проходили секвенирование на NGS-платформе в «Курчатовском геномном центре» НИЦ «Курчатовский институт». Биоинформатический анализ проводился с использованием программ: MitoHPC (для выявления редких однонуклеотидных мутаций мтДНК), MitoSalt (для выявления редких делеций на уровне мтДНК) и Splice-Break2 (для выявления редких делеций на уровне РНК-транскриптов мтДНК) [4, 5, 9]. Количественные показатели, имеющие нормальное распределение, описывались с помощью средних арифметических величин (M) и стандартных отклонений (SD). Показатели с распределением, отличным от нормального, описывались с помощью значений медианы, а также 1-го и 3-го квартилей ($Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$). Статистическую обработку клинко-лабораторных данных проводили с помощью собственного программного кода, написанного на языке программирования Python, используя библиотеки Pandas и SciPy. Мы провели рандомизацию, сравнивая клинические данные конкретной группы пациентов, например, пациентов с обнаруженной мутацией в 189 позиции мтДНК, с 10 000 тысячами случайных выборок такого же размера из совокупности всех 67 анализируемых пациентов. Таким образом, мы получили вероятности того, что значения в какой-либо клинической группе выше или ниже значений в общей выборке. Мы считали сравнения статистически значимыми, только если в пяти и меньше процентах случаев значения в группе были меньше или больше относительно общей выборки. Статистическое различие по частоте мутаций между пациентами с первичным диагнозом и пациентами с травматическим ОА мы оценивали с помощью t-критерия Уэлча.

Результаты и обсуждение

Более 90% наших волонтеров имели избыточную массу тела. Индекс массы тела (ИМТ) в группе составил $32,66 \pm 2,54$ ед. У части пациен-

тов в возрасте старше 60 лет (23,95% женщин и 7,4% мужчин) выявлены существенно низкие значения мышечной силы (менее 24 кг для мужчин и 17 кг для женщин). При поступлении в клинику у четверти пациентов зарегистрировано повышенное артериальное давление, превышающее референсные значения на 7-10%. В исследованной группе отклонения отдельных показателей общего анализа от принятых значений половозрастной нормы были не критичны. Поэтому мы предприняли попытку оценить так называемые «новые маркеры» системного воспаления, которые по существу являются индексами, то есть расчетными показателями системного воспаления: индекс системного воспалительного ответа (SIRI), индекс системного воспаления (SII), совокупный системный индекс воспаления (AISI), индекс иммунореактивности (ИР); гематологические маркеры: лейкоцитарный индекс интоксикации (уЛИИ) по В.К. Островскому и индекс алергизации (ИА). В описываемой группе SIRI и AISI у двух третей пациентов существенно превышал нормативные значения. SII у основной массы испытуемых его значение было в пределах нормы или ниже, однако у более чем 30% этот показатель превышал рекомендуемые значения. Рассчитанные значения уЛИИ продемонстрировали, что практически у всех добровольцев имеется легкая или средняя степень интоксикации, а у 9 волонтеров – тяжелая. Уровень креатинина в сыворотке крови у наших добровольцев находился в пределах или незначительно выше половозрастной нормы, однако у части пациентов (9 человек) он был существенно ниже рекомендуемых значений. У 15-18% испытуемых отмечено повышенное содержание в сыворотке общего билирубина и холестерина, аспартатаминотрансферазы (АСТ) и аланинаминотрансферазы (АЛТ). У 10 пациентов отмечен повышенный уровень глюкозы в крови, достигающий значений 10,0-12,5 ммоль/л. В целом лабораторные показатели у пациентов из контрольной группы в большей степени соответствовали рекомендуемым референсным значениям по сравнению с добровольцами из основной группы. При проведении анализа секвенирования мтДНК на NGS-платформе у всех испытуемых выявлено наличие мутаций в некодирующей (регуляторной) части митохондриального генома. Наиболее часто встречаемыми у пациентов были обнаружены точечные мутации A189G (замещение аденина на гуанин в позиции 189) и T408A (замещение тимина на аденин в позиции 408). В контрольной группе у 7 пациентов обнаружена мутация A189G и у 8 волонтеров – T408A (у 6 из 9 человек выявлены обе мутации). В экспериментальной группе мутация

A189G найдена у 43 из 58 пациентов, T408A — у 35 добровольцев. В этой группе у волонтеров обе мутации отмечены у 19 испытуемых. Полученные данные по наличию мутаций в указанных позициях в мышечной ткани, а также их накоплению по мере увеличения возраста согласуются с данными описанными в литературе [9, 15]. Однако проведенный нами анализ выявил существенные различия в частотах мутаций в экспериментальной и контрольной группах. Этот показатель, выраженный в частоте аллелей (VAF), у больных с посттравматическим ОА (контрольная группа) в среднем составлял для A189G — $0,104 \pm 0,048$, а для T408A — $0,048 \pm 0,016$. В основной группе эти показатели составили $0,225 \pm 0,131$ и $0,088 \pm 0,036$ соответственно. t-критерий Уэлча подтвердил значимость различий между группами (p-value для A189G — $2.98e-04$, для T408A — $1.09e-04$). Таким образом, средняя частота мутаций в экспериментальной группе в 2,16 и 1,83 раза, соответственно, превышала показатели, наблюдаемые в контрольной группе. Митохондриальная мутация A189G наблюдается преимущественно в постмитотических соматических тканях человека (мышечной и нервной тканях [11], а именно в наибольшей степени в скелетной мускулатуре, кроме того, она обнаруживается и в костной ткани [10]). Эта мутация не проявляется как герминальная, т. е. не передается от матери к потомству, что указывает на ее потенциальную вредность для развития яйцеклетки или эмбриона. Однако интересно, что эта мутация часто возникает *de novo* и, клонируясь, подвергается положительному отбору, увеличиваясь в частоте, в вышеописанных тканях каждого человека [11]. В скелетной мускулатуре, мутация может быть связана с измененной, в связи с физиологическими требованиями мышечной ткани, скоростью репликации митохондриального генома [11]. 408-я позиция митохондриального генома, так же как и 189-я, находится в некодирующей регуляторной части митохондриального генома. Этот участок является частью функциональных элементов, необходимых для регуляции репликации мтДНК. Митохондриальная мутация T408A связана с пониженной копийностью мтДНК в клетке [14] и тем самым, возможно, объясняет пониженную скорость репликации митохондриального генома. Выявленные нами повышенные уровни мутаций в 189-й и 408-й позициях регуляторной части митохондриального генома у наших пациентов свидетельствуют о появлении в клетке двух или большего числа вариантов митохондриального генома (митохондриальная гетероплазмия). При этом для фенотипического проявления вариантов имеет значение уровень

гетероплазмии, т. е. количественное содержание мутантных копий мтДНК. Т. е. сами по себе выявленные митохондриальные мутации могут не влиять на общую функциональность митохондрий, и подобные изменения являются физиологическими и естественными проявлениями процессов нормального старения. У одних индивидуумов процесс идет медленнее, у других быстрее. Более высокие темпы накопления мутаций, сопровождаемые дополнительно неблагоприятными факторами внешней среды (хронический эмоциональный стресс, инфекции, интоксикации, травмы, несбалансированное питание), в итоге приводят к так называемому патологическому старению. Когда уровень гетероплазмии превышает пороговый уровень, мутации могут проявляться на уровне функционирования клеток и, соответственно, тканей. Эффект этого проявления выражается прежде всего в нарушении главной функции митохондрий, синтезе аденозинтрифосфата (АТФ). Т. е. количество мутантной мтДНК определяет уровень снижения функции окислительного фосфорилирования (ОХРНOS) и начала проявления патогенного варианта, причем этот порог может быть разным для разных мутаций. Этот процесс сопровождается нарушением баланса между выработкой побочных продуктов окислительного фосфорилирования (ОХРНOS), а именно активных форм кислорода (АФК), и их разрушением, что в свою очередь приводит к активации продукции провоспалительных интерлейкинов-1 β (IL-1 β) и 18 (IL-18) [1]. Накопление повышенного уровня точечных мутаций также приводит и к нарушению процессов митофагии, что только усугубляет митохондриальную дисфункцию [7, 12]. Кроме того, в нашем случае длительный прием нашими волонтерами для купирования воспалительного и болевого синдрома нестероидных противовоспалительных средств (НПВС) может оказывать генотоксическое влияние на геном митохондрий. В литературе описана индукция высокими дозами НПВС митохондриальной токсичности, проявляющаяся ингибированием ОХРНOS, внутримитохондриальным накоплением АФК, нарушающим экспрессию и вызывающим повреждение мтДНК, а также нарушением процессов митофагии [7, 13]. Полученные результаты по наличию большого числа мутаций в регуляторном регионе мтДНК мы сопоставили с клинико-лабораторными показателями у наших пациентов. В ходе исследования в экспериментальной группе, в отличие от контрольной, установлена достоверная корреляционная связь между наличием повышенного уровня мутаций в митохондриальном геноме и рядом клинических показателей добровольцев,

а именно: уровнем лейкоцитов в периферической крови, скоростью оседания эритроцитов (СОЭ), уровнем креатинина и аланинтрансферазы (АЛТ), значениями универсального лейкоцитарного индекса интоксикации (уЛИИ). Как отмечено выше, основным заболеванием всех наших добровольцев является воспалительное заболевание коленных или тазобедренных суставов — гоноартроз/коксартроз 3-й степени. Для снижения воспалительного процесса и болевого синдрома в течение нескольких лет перед операцией они получали противовоспалительную терапию (в первую очередь нестероидными противовоспалительными препаратами). Это необходимо учитывать при трактовке коррелятивных связей между наличием мутаций с клинико-лабораторными результатами. Все испытуемые из экспериментальной группы были разбиты на когорты в зависимости от выявленного повышенного уровня мутаций в позициях 189 и 408, а также группа с высоким уровнем мутации в обеих позициях. Уровень лейкоцитов в периферической крови и СОЭ являются важнейшими показателями, отражающими интенсивность воспалительных процессов. В нашем исследовании показано, что у лиц с мутацией A189G уровень лейкоцитов повышен, а у волонтеров с мутацией T408A — снижен. Причем у добровольцев, имеющих мутации в обеих позициях, СОЭ существенно повышена. По-видимому, такие эффекты связаны с различным уровнем воспалительных явлений в суставе и, соответственно, различной длительностью и интенсивностью (дозировкой) получения противовоспалительных лекарственных средств. Особо интересные результаты получены по содержанию креатинина, поскольку он является побочным продуктом мышечного метаболизма. Этот продукт распада креатин-фосфата из мышц и белкового обмена выводится почками в неизменном виде. В первую очередь, его уровень характеризует уровень почечной фильтрации, и его повышенные значения указывают на целый ряд патологий, в первую очередь, связанных с почками. С другой стороны, этот метаболит образуется в мышечной ткани, и его снижение в сыворотке крови может свидетельствовать о дистрофических изменениях в мышечной ткани, характерных для лиц старческого возраста. В целом во всей экспериментальной группе этот показатель находился в границах половозрастной нормы, однако у лиц, имеющих мутацию T408A, его значения снижены. Аланинаминотрансфераза (АЛТ) — это фермент, который в основном содержится в клетках печени, а при их разрушении в больших количествах попадает в кровотоки. Так же как в случае с креатинином, у

добровольцев, имеющих мутацию в позиции 408, отмечается снижение его уровня по сравнению с остальной группой. В специальной литературе такое снижение трактуется как признак фиброзных изменений печеночной ткани. Возможно, это связано с длительным приемом нестероидных противовоспалительных препаратов, одним из побочных эффектов которых является гепатотоксическое действие. Нормальные значения лейкоцитарного индекса интоксикации (уЛИИ), рассчитанного в модификации по В.К. Островскому, находятся в промежутке от 1,0 до 1,6 ед. Практически у всех пациентов исследуемой группы, имеющих изменения в позициях 189 и 408 мтДНК (82,2%), отмечена легкая или средняя степень интоксикации, а у 13,6% — тяжелая. В контрольной группе нам не удалось выявить коррелятивной связи между уровнем частоты аллелей (VAF) и клинико-лабораторными показателями. Возможно, это связано с менее длительным стажем заболевания, отличиями в патогенезе посттравматического и первичного остеоартрита и относительно небольшим количеством пациентов в группе.

Заключение

Описанные в работе мутации в митохондриальном геноме околосуставной мышечной ткани, по-видимому, связаны как с процессами старения, так и с непосредственным развитием возраст-ассоциированной патологии — остеоартрита. В настоящий момент не представляется возможным выделить, насколько развитие, течение и тяжесть заболевания связаны с естественными (в течение жизни) изменениями митохондрий. Выявленные у наших пациентов из экспериментальной группы повышенные уровни мутаций в позициях 189 и 408 регуляторной области митохондриального генома, превышающие эти показатели в контрольной группе, связаны как с повышенным уровнем мутаций, характерным для патологического старения, так и, возможно, с генотоксическим влиянием повышенных доз НПВС на митохондрии. Изменения в клинико-лабораторных данных у добровольцев также, возможно, связаны с нарушениями в системе ОХРНOS и побочными эффектами НПВС. В дальнейшем требуется расширение спектра лабораторных, в первую очередь биохимических исследований, для установления более явных корреляционных связей между митохондриальной дисфункцией и метаболическими процессами в клетках и тканях.

Список литературы / References

1. Зоткин Е.Г., Дыдыкина И.С., Лиля А.М. Воспалительная теория старения, возраст-ассоциированные заболевания и остеоартрит // РМЖ, 2020. № 7. С. 33-38. [Zotkin E.G., Dydykina I.S., Lila A.M. Inflammatory theory of aging, age-related diseases and osteoarthritis. *RMZh = Russian Medical Journal*, 2020, no. 7, pp. 33-38. (In Russ.)]
2. Середа А.П., Кочиш А.А., Черный А.А., Антипов А.П., Алиев А.Г., Вебер Е.В., Воронцова Т.Н., Божкова С.А., Шубняков И.И., Тихилов Р.М. Эпидемиология эндопротезирования тазобедренного и коленного суставов и перипротезной инфекции в Российской Федерации // Травматология и ортопедия России, 2021. Т. 27, № 3. С. 84-93. [Sereda A.P., Kochish A.A., Cherny A.A., Antipov A.P., Aliev A.G., Veber E.V., Vorontsova T.N., Bozhkova S.A., Shubnyakov I.I., Tikhilov R.M. Epidemiology of Hip And Knee Arthroplasty and Periprosthetic Joint Infection in Russian Federation. *Travmatologiya i ortopediya Rossii = Traumatology and Orthopedics of Russia*, 2021, Vol. 27, no. 3, pp. 84-93. (In Russ.)]
3. Arberthuber B., Hester J., Cremona M.A., Stoler N., Zaidi A., Higgins B., Anthony K., Chiaromonte F., Diaz F.J., Makova K.D. Age-related accumulation of *de novo* mitochondrial mutations in mammalian oocytes and somatic tissues. *PLoS Biol.*, 2020, Vol. 18, no. 7, e3000745. doi: 10.1371/journal.pbio.3000745.
4. Basu S., Xie X., Uhler J.P., Hedberg-Oldfors C., Milenkovic D., Baris O.R., Kimoloi S., Matic S., Stewart J.B., Larsson N.G., Wiesner R.J., Oldfors A., Gustafsson C.M., Falkenberg M., Larsson E. Accurate mapping of mitochondrial DNA deletions and duplications using deep sequencing. *PLoS Genet.*, 2020, Vol. 16, no. 12, e1009242. doi: 10.1371/journal.pgen.1009242.
5. Battle S.L., Puiud D.; TOPMed mtDNA Working Group; Verlouw J., Broer L., Boerwinkle E., Taylor K.D., Rotter J.I., Rich S.S., Grove M.L., Pankratz N., Fetterman J.L., Liu C., Arking D.E. A bioinformatics pipeline for estimating mitochondrial DNA copy number and heteroplasmy levels from whole genome sequencing data. *NAR Genom. Bioinform.*, 2022, Vol. 4, no. 2, lqac034. doi: 10.1093/nargab/lqac034.
6. Cao H., Zhou X., Xu B., Hu H., Guo J., Wang M., Li N., Jun Z. Advances in the study of mitophagy in osteoarthritis. *J. Zhejiang Univ. Sci. B*, 2024, Vol. 25, no. 3, pp. 197-211.
7. Debsharma S., Pramanik S., Bindu S., Mazumder S., Das T., Pal U., Saha D., De R., Nag S., Banerjee C., Chandra Maiti N., Ghosh Z., Bandyopadhyay U. NSAID targets SIRT3 to trigger mitochondrial dysfunction and gastric cancer cell death. *iScience*, 2024, Vol. 27, no. 4, 109384. doi: 10.1016/j.isci.2024.109384.
8. Del Bo R., Bordoni A., Martinelli Boneschi F., Crimi M., Sciacco M., Bresolin N., Scarlato G., Comi G.P. Evidence and age-related distribution of mtDNA D-loop point mutations in skeletal muscle from healthy subjects and mitochondrial patients. *J. Neurol. Sci.*, 2002, Vol. 202, no. 1-2, pp. 85-91.
9. Hjelm B.E., Rollins B., Morgan L., Sequeira A., Mamdani F., Pereira F., Damas J., Webb M.G., Weber M.D., Schatzberg A.F., Barchas J.D., Lee F.S., Akil H., Watson S.J., Myers R.M., Chao E.C., Kimonis V., Thompson P.M., Bunney W.E., Vawter M.P. Splice-Break: exploiting an RNA-seq splice junction algorithm to discover mitochondrial DNA deletion breakpoints and analyses of psychiatric disorders. *Nucleic Acids Res.*, 2019, Vol. 47, no. 10, e59. doi: 10.1093/nar/gkz164.
10. Lacan M., Thèves C., Amory S., Keyser C., Crubézy E., Salles J.P., Ludes B., Telmon N. Detection of the A189G mtDNA heteroplasmic mutation in relation to age in modern and ancient bones. *Int. J. Legal Med.*, 2009, Vol. 123, no. 2, pp. 161-167.
11. Li M., Schröder R., Ni S., Madea B., Stoneking M. Extensive tissue-related and allele-related mtDNA heteroplasmy suggests positive selection for somatic mutations. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 2015, Vol. 112, no. 8, pp. 2491-2496.
12. Mazumder S., Bindu S., De R., Debsharma S., Pramanik S., Bandyopadhyay U. Emerging role of mitochondrial DAMPs, aberrant mitochondrial dynamics and anomalous mitophagy in gut mucosal pathogenesis. *Life Sci.*, 2022, Vol. 305, 120753. doi: 10.1016/j.lfs.2022.120753.
13. Mazumder S., De R., Sarkar S., Siddiqui A.A., Saha S.J., Banerjee C., Iqbal M.S., Nag S., Debsharma S., Bandyopadhyay U. Selective scavenging of intra-mitochondrial superoxide corrects diclofenac-induced mitochondrial dysfunction and gastric injury: A novel gastroprotective mechanism independent of gastric acid suppression. *Biochem. Pharmacol.*, 2016, Vol. 121, pp. 33-51.
14. Wachsmuth M., Hübner A., Li M., Madea B., Stoneking M. Age-related and heteroplasmy-related variation in human mtDNA copy number. *PLoS Genet.*, 2016, Vol. 12, no. 3, e1005939. doi: 10.1371/journal.pgen.1005939.
15. Wang Y., Michikawa Y., Mallidis C., Bai Y., Woodhouse L., Yarasheski K.E., Miller C.A., Askanas V., Engel W.K., Bhasin S., Attardi G. Muscle-specific mutations accumulate with aging in critical human mtDNA control sites for replication. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 2001, Vol. 98, no. 7, pp. 4022-4027.

Авторы:

Гончаров А.Г. — к.м.н., старший научный сотрудник
Центра иммунологии и клеточных биотехнологий
ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет
имени Иммануила Канта», г. Калининград, Россия

Authors:

Goncharov A.G., PhD (Medicine), Senior Research Associate,
Center for Immunology and Cellular Biotechnologies,
Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad,
Russian Federation

Джигкаев А.Х. — к.м.н., заведующий отделением травматологии и ортопедии ФГБУ «Федеральный центр высоких медицинских технологий» Министерства здравоохранения РФ; доцент кафедры хирургических дисциплин Высшей школы медицины ОНК «Институт медицины и наук о жизни» ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта», г. Калининград, Россия

Лобанова В.В. — младший научный сотрудник Центра геномных исследований ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта», г. Калининград, Россия

Козенков И.И. — младший научный сотрудник Центра геномных исследований ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта», г. Калининград, Россия

Хайбулин Э.В. — младший научный сотрудник Центра геномных исследований ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта», г. Калининград, Россия

Попадьин К.Ю. — к.б.н., старший научный сотрудник Центра геномных исследований ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта», г. Калининград, Россия

Гунбин К.В. — к.б.н., старший научный сотрудник Центра геномных исследований ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта», г. Калининград, Россия

Dzhigkaev A.Kh., PhD (Medicine), Head, Department of Traumatology and Orthopedics, Federal Center for High Medical Technologies; Associate Professor, Department of Surgical Disciplines of the Higher School of Medicine, Institute of Medicine and Life Sciences, Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russian Federation

Lobanova V.V., Junior Research Associate, Center for Genomic Research, Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russian Federation

Kozenkov I.I., Junior Research Associate, Center for Genomic Research, Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russian Federation

Khaibulin E.V., Junior Research Associate, Center for Genomic Research, Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russian Federation

Popadin K.Yu., PhD (Biology), Senior Research Associate, Center for Genomic Research, Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russian Federation

Gunbin K.V., PhD (Biology), Senior Research Associate, Center for Genomic Research, Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russian Federation

Поступила 08.07.2024
Принята к печати 06.08.2024

Received 08.07.2024
Accepted 06.08.2024