

РАННИЕ ЭТАПЫ РАЗВИТИЯ АТЕРОСКЛЕРОЗА И УРОВЕНЬ СВОБОДНО ЦИРКУЛИРУЮЩЕЙ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК КРОВИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ДИСЛИПОПРОТЕИДЕМИИ

Н.П. Судаков^{1,2,3}, И.В. Клименков^{3,4}, Т.П. Попкова³, С.Б. Никифоров², О.А. Гольдберг², С.А. Лепехова^{1,2}, К.А. Апарцин^{1,2}, А.И. Катышев⁵, Ю.М. Константинов^{3,5}

¹ФГБНУ «Иркутский научный центр» СО РАН
664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 134

²ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии»
664003, г. Иркутск, ул. Борцов Революции, 1

³ФГБОУ ВПО «Иркутский государственный университет»
664003, г. Иркутск, ул. Карла Маркса, 1

⁴ФГБУН «Лимнологический институт» СО РАН
664033, г. Иркутск, ул. Улан-Баторская, 3

⁵ФГБУН «Сибирский институт физиологии и биохимии растений» СО РАН
664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 132

Цель работы: изучить показатели липидного обмена, концентрации С-реактивного белка, уровень свободно циркулирующей митохондриальной ДНК крови и атеросклеротические изменения аорты на ранних этапах экспериментальной дислипидемии. Материал и методы. Дислипидемию моделировали атерогенной диетой на кроликах породы «Шиншилла». Уровень С-реактивного белка и липидный спектр крови оценивали на анализаторе Beckmancoulter 4 (Beckmancoulter, США). Митохондриальную ДНК плазмы крови анализировали методом ПЦР в реальном времени. Поверхность аорты изучали методом сканирующей электронной микроскопии. Результаты. Установлено, что через 48 ч атерогенной диеты в крови экспериментальных животных формируется выраженный дисбаланс между фракциями холестерина и к восьмым суткам повышается в 6 раз уровень С-реактивного белка. Через 16 суток атерогенной диеты изменяется ультраструктура складок внутренней поверхности аорты. В областях отхождения артерий, на эндотелиальном слое аорты регистрируются участки с адгезией лейкоцитов, которые могут являться локусами атеросклеротических бляшек. Уровень свободно циркулирующей мтДНК имеет тенденцию к трехкратному повышению к 16 суткам наблюдения в сравнении с контролем, что предопределяет необходимость дальнейших его исследований на более поздних сроках течения дислипидемии. Заключение. Установленные ранние

Судаков Николай Петрович – канд. биол. наук, доцент, старший научный сотрудник ФГБНУ «Иркутский Научный центр» СО РАН, старший научный сотрудник ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», доцент ФГБОУ ВПО «Иркутский государственный университет», e-mail: npsudakov@gambler.ru

Клименков Игорь Викторович – канд. биол. наук, доцент, старший научный сотрудник ФГБУН «Лимнологический институт» СО РАН, доцент ФГБОУ ВПО «Иркутский государственный университет», e-mail: iklimen@mail.ru

Попкова Татьяна Павловна – магистр, e-mail: ptanp@mail.ru

Никифоров Сергей Борисович – д-р мед. наук, ведущий научный сотрудник, e-mail: telomer@mail.ru

Гольдберг Олег Аронович – канд. мед. наук, ведущий научный сотрудник

Лепехова Светлана Александровна – д-р биол. наук, зав. научным отделом экспериментальной хирургии с виварием ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», главный научный сотрудник ФГБУН «Иркутский научный центр» СО РАН, e-mail: lepekova_sa@mail.ru

Апарцин Константин Анатольевич – д-р мед. наук, проф., зам. директора по науке ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», зав. ОМБИТ ФГБУН «Иркутский научный центр» СО РАН, e-mail: dr.apartsin@yahoo.com

Катышев Александр Иванович – канд. биол. наук, старший научный сотрудник, e-mail: alex@sifibr.irk.ru

Константинов Юрий Михайлович – д-р биол. наук, проф., зав. лабораторией генетической инженерии растений ФГБУН «Сибирский институт физиологии и биохимии растений» СО РАН, проф. ФГБОУ ВПО «Иркутский государственный университет», e-mail: yukon@sifibr.irk.ru

© Судаков Н.П., Клименков И.В., Попкова Т.П., Никифоров С.Б., Гольдберг О.А., Лепехова С.А., Апарцин К.А., Катышев А.И., Константинов Ю.М., 2015

структурные изменения аорты позволяют использовать модель атерогенной диеты для оценки ранних событий атерогенеза с уровнем свободно циркулирующей мтДНК для доклинического этапа трансляционных исследований в разработке новых технологий диагностики и профилактики атеросклероза.

Ключевые слова: дислиппротеидемия, атеросклероз, С-реактивный белок, свободно циркулирующая митохондриальная ДНК.

ВВЕДЕНИЕ

Атеросклероз сосудов различной локализации в 90 % случаев служит основой сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) – одной из ведущих причин смертности населения индустриально-развитых стран. Для развития трансляционных исследований в области диагностики, профилактики и лечения атеросклероза необходима детализация его ранних этапов формирования на основе поиска новых высокоинформативных биомаркеров. Известны генетические биомаркеры атеросклероза и ССЗ, верифицируемые в ядерном и митохондриальном геноме, ассоциированные с социально-значимыми заболеваниями: сахарный диабет, артериальная гипертония, ишемическая болезнь сердца. Показана взаимосвязь ряда мутаций мтДНК с тяжестью атеросклеротических поражений аорты [1]. Тем не менее биомаркеров, характеризующих состояние митохондрий клеток-мишеней при дислиппротеидемии и атеросклерозе, в настоящее время не выявлено. Установлено, что оксистеролы перекисно-модифицированных липопротеидов низкой плотности (ЛПНП) индуцируют функциональные нарушения в митохондриях клеток сосудов с увеличением продукции активных форм кислорода, высвобождение проапоптотических факторов в цитозоль [2], при этом клетки сосудистой стенки приобретают способность к миграции, пролиферации, продукции компонентов внеклеточного матрикса, возрастает также вероятность их апоптоза. Эти процессы – неотъемлемый компонент механизмов развития атеросклеротической бляшки. Одним из перспективных показателей интенсивности цитолитических процессов и, возможно, стрессового состояния митохондрий является свободно циркулирующая митохондриальная ДНК (мтДНК) крови [3], которую относят к «молекулярным паттернам риска» (danger as sociated molecular patterns, DAMPs) [4]. Показано повышение уровня мтДНК при злокачественных опухолях, септических процессах, острой ишемии миокарда, а также у пациентов отделений реанимации [5–7]. Высокий мтДНК плазмы крови ассоциирован у пациентов с диабетом 2 типа с развитием атеро-

склеротических поражений коронарных сосудов [8]. Предполагается, что повышенный уровень свободно циркулирующей мтДНК при сахарном диабете может служить одним из индукторов эндотелиальной дисфункции за счет активации toll-like рецепторов 9 (TLR9) [9]. В то же время данные о повышении мтДНК при развитии атеросклероза, индуцируемого дислиппротеидемией, отсутствуют. Ранее авторами показано, что через две недели атерогенной диеты в гепатоцитах кроликов статистически значимо возрастает объем липидных капель, что создает условия для развития их структурно-функциональных нарушений под воздействием окислительного стресса. Это, возможно, способствует активной продукции клетками печени факторов, индуцирующих атерогенез в стенке сосудов и формируемый при этом оксидативный стресс клеток-мишеней дислиппротеидемии и атерогенеза, повышение мтДНК плазмы крови. Следовательно, характеристика поведения свободно циркулирующей мтДНК как биомаркера ранних сроков развития атеросклероза представляет интерес для трансляционных исследований в разработке технологий диагностики.

Цель работы – изучить показатели липидного обмена, концентрации С-реактивного белка, уровень свободно циркулирующей митохондриальной ДНК крови и атеросклеротические изменения аорты на ранних этапах экспериментальной дислиппротеидемии.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Дислиппротеидемию вызывали атерогенной диетой на кроликах породы «Шиншилла». Животные были разделены на две группы (для каждой группы $n = 6$): модель дислиппротеидемии (ежедневная атерогенная диета: 350 мг холестерина на 1 кг веса животного) и группа контроля (стандартная диета вивария) [10]. Срок наблюдений составил 16 суток.

На биохимическом анализаторе Beckman synhron 4 (Beckman coulter, США) оценивали в сыворотке крови уровень С-реактивного белка, анализировали липидный спектр (концентрацию триацилглицеридов, общего холестерина,

Динамика изменений липидного спектра крови на ранних этапах моделирования дислипидемии и атеросклероза

Сутки	ОХС	ХС ЛПНП	ХС ЛПОНП	ТАГ	ХС ЛПВП	КА
0	1,6 (1,4; 1,8)	0,4 (0,28; 0,58)	0,55 (0,48; 0,63)	1,15 (0,95; 1,38)	0,6 (0,5; 0,73)	1,5 (1,3; 1,8)
2	4,75* (4,3; 4,9)	2,75* (2,45; 3,08)	0,75 (0,55; 1,0)	1,6 (1,2; 2,13)	0,9 (0,8; 1,0)	4,0* (3,5; 4,5)
4	8,45* (7,6; 9,2)	6,15* (5,18; 7,08)	1,1 (0,7; 1,65)	2,45 (1,58; 3,65)	1,05* (0,98; 1,13)	7,2* (6,8; 7,4)
6	11,6* (10,8; 13,2)	9,5* (8,4; 10,7)	1,45 (0,75; 2,23)	3,25 (1,7; 4,95)	1,25* (1,18; 1,35)	8,7* (8,3; 9,1)
8	15,9* (15,4; 17,8)	12,5* (12,3; 13,3)	1,1 (0,85; 1,65)	3,7 (2,23; 4,93)	1,2* (1,1; 1,48)	12,1* (11,7; 12,7)
10	19,2* (19,1; 20,4)	17,2* (16,4; 18,4)	0,9 (0,8; 1,6)	1,9 (1,7; 3,45)	1,2* (1,1; 1,25)	15,7* (15,3; 16,9)
12	21,4* (20,3; 22,6)	19,3* (18,3; 20,0)	1,1 (0,7; 1,65)	2,45 (1,58; 3,63)	1,35* (1,18; 1,55)	14,7* (13,7; 15,9)
14	22,5* (20,1; 23,9)	20,2* (19,2; 22,3)	1,05 (0,6; 1,55)	2,31 (1,9; 2,55)	1,25* (1,19; 1,6)	20,4* (17,5; 21,6)
16	23,0* (21,5; 24,8)	21,5* (19,8; 23,1)	1,2 (0,82; 1,9)	2,5 (1,8; 3,81)	1,30* (1,14; 1,52)	21,5* (16,1; 22,8)

Примечание. ТАГ – триацилглицериды; КА – коэффициент атерогенности; * $p \leq 0,05$ в сравнении с контролем (0 суток).

холестерола липопротеидов очень низкой плотности (ЛПОНП), ЛПНП и липопротеидов высокой плотности (ЛПВП) с использованием наборов реагентов «Human Diagnostics GmbH» (Германия). Митохондриальную ДНК выделяли из плазмы крови после удаления из нее тромбоцитов [11]. Количественный анализ мтДНК осуществляли методом ПЦР в реальном времени (амплификатор «DT lite», ДНК-технология, Россия) с использованием реакционной смеси, содержащей SYBR Green (Maxima™ SYBR Green/ROXq PCR Master Mix – Thermo Fisher Scientific Inc., США). Амплифицировали фрагмент гена 16S *pPHK* (прямой праймер: 5'-GTGTAGCCGC TATTAAGGTTTCG-3', обратный праймер: 5'-GGCTCTGCCACSTTAACTAGCT-3') длиной 230 п.н. [5].

Биологические образцы аорты (дуга, грудной отдел) размером 5×5 мм фиксировали 3 ч в 2,5%-м растворе глутарового альдегида на 0,1 М фосфатном буфере (рН 7,4), промывали тем же буфером, дофиксировали 2%-м раствором четырехоксида осмия (12 ч) и обезживляли в ряду возрастающих концентраций этанола. После высушивания при критической точке на аппарате Balzers CPD 030 препараты напыляли золотом и исследовали методом сканирующей электронной микроскопии (Quanta 200, FEI Company).

Все манипуляции с лабораторными животными проводились с соблюдением положений Хельсинкской декларации Всемирной Медицинской Ассоциации (2000 г.) и Директивы Европейского сообщества 86/609 ЕЕС о гуманном отношении к экспериментальным животным (1986 г.). Статистический анализ полученных данных проводили в программе Statistica 10, используя непараметрические методы. Межгрупповые различия оценивали критерием Манна–Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Установлено, что на 2-е сутки холестериновой диеты в крови экспериментальных животных формируется выраженный дисбаланс между атерогенной и антиатерогенной фракциями холестерина (таблица), отмечено 7-кратное увеличение коэффициента атерогенности. Изменения липидного спектра крови кроликов на атерогенной диете прогрессируют в течение всего периода наблюдения. На 16-е сутки у экспериментальных животных уровень общего холестерина крови достигает 23,0 ммоль/л, что в 14 раз выше, чем в контроле. При этом дисбаланс фракций липопротеидов характеризуется 20-кратным возрастанием коэффициента атерогенности, характеризуя снижение функции печени сдерживать развитие дислипидемии.

Показано, что уровень С-реактивного белка в крови статистически значимо увеличивается в 6 раз на 8-е сутки атерогенной диеты и остается на данном уровне до конца наблюдения (рис. 1). Полученные результаты согласуются с данными В.А. Нагорнева и соавт., свидетельствующими о развитии повреждения активированными полиморфно-ядерными лейкоцитами гепатоцитов, продуцирующих данный белок [10]. Предполагается, что наблюдаемое возрастание уровня С-реактивного белка в крови является следствием повышения продукции в клетках печени активных форм кислорода, активирующих редокс-зависимые сигнальные пути (например, АФК-МАРК-NF-κB [12]), которые повышают уровень его экспрессии в гепатоцитах. Одной из основных причин редокс-активации экспрессии С-реактивного белка, возможно, является увеличение количества липидных капель в клетках печени при моделировании дислипидемии.

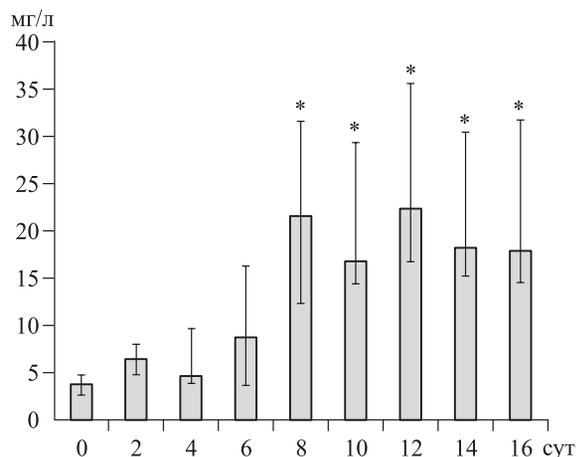


Рис. 1. Концентрация С-реактивного белка при экспериментальной дислиппротеидемии и атеросклерозе. * $p \leq 0,05$ в сравнении с контролем

протеидемии. Ранее с использованием лазерной конфокальной микроскопии нами показано, что уже через 2 недели экспериментальной дислиппротеидемии в клетках печени значительно возрастают количество и объем липидных капель [13]. Накопление липидов в данных органеллах способствует повреждению митохондрий клеток печени [14, 15] с повышением продукции ими активных форм кислорода (АФК) [16]. Известно, что С-реактивный белок способен связывать перекисно-модифицированные ЛПНП, являясь независимым фактором риска развития атеросклероза и его осложненных форм. Взаимодействуя с эндотелиоцитами, С-реактивный белок интенсифицирует трансцитоз ЛПНП, способствуя их накоплению в интиме [17], следствием этого является оксидативная модификация ЛПНП с возрастанием их атерогенных свойств.

Анализ внутренней поверхности аорты животных на атерогенной диете показал, что на фоне возрастания дисбаланса атерогенной и антиатерогенной фракций холестерина и повышения концентрации С-реактивного белка изменяется рельеф поверхности аорты (рис. 2). Установлено, что на 16-е сутки изменяется структура складок внутренней поверхности аорты: регистрируется их неравномерная ширина, участки уплощения апикальных отделов эндотелиоцитов. Цитоархитектоника аорты характеризуется нерегулярным

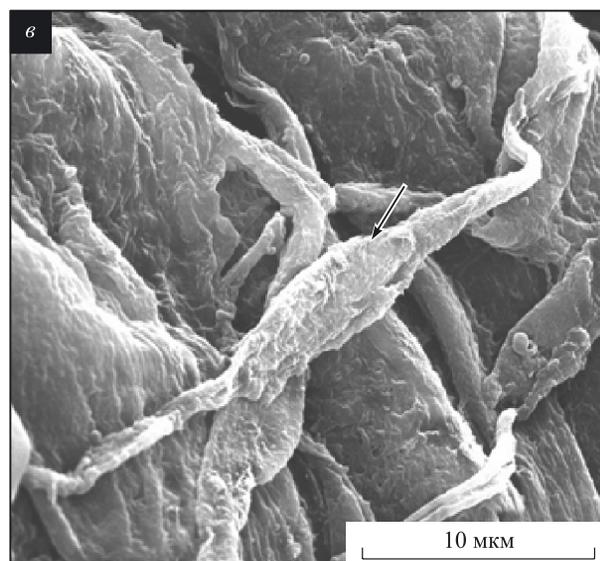
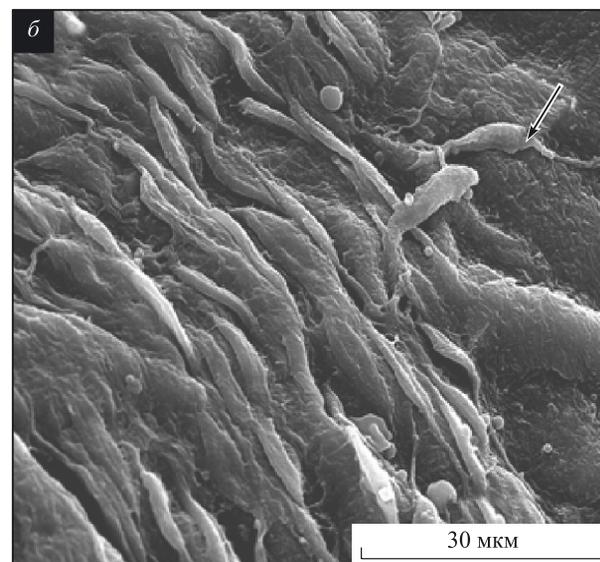
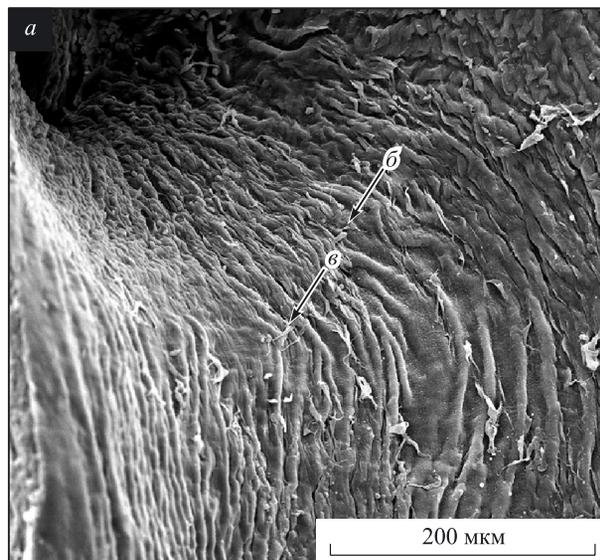


Рис. 2. Ранние атеросклеротические изменения поверхности аорты в эксперименте (б, в – участки основного фрагмента грудного отдела аорты (а) с различным увеличением). На поверхности аорты, в области отхождения артерии, наблюдается адгезия распластанных лейкоцитов (указаны стрелками)

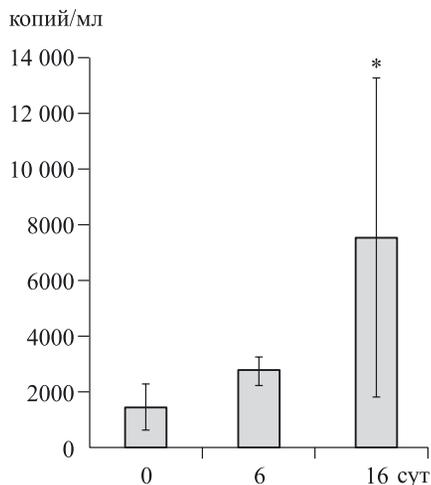


Рис. 3. Уровень свободно циркулирующей митохондриальной ДНК при моделировании ранних этапов развития дислипидемии и атеросклероза. * $p = 0,6$ в сравнении с контролем

распределением возвышений и разнообразной формой формируемых ими карманов. На поверхности аорты, преимущественно в областях отхождения артерий, наблюдается адгезия отдельных эритроцитов, тромбоцитов и расплывчатых лейкоцитов с многочисленными отростками – ламеллоподиями, которые проникают в глубокие складки между эндотелиальными клетками, способствуя прочному закреплению клеток в условиях повышенной турбулентности крови. Отмечено, что в этих участках данные клетки вместе с эритроцитами и тромбоцитами, объединенные бесструктурным не клеточным матриксом, формируют более крупные агрегаты. Вероятно, эти зоны аорты являются первичным локусом роста и формирования атеросклеротических бляшек. Фиксация лейкоцитов к поверхности сосуда может быть следствием продукции эндотелиоцитами провоспалительных цитокинов и экспрессии на их поверхности специфических молекул адгезии (VCAM-1 и ICAM-1) [18]. Предполагается, что зарегистрированная нами локальная адгезия лейкоцитов, возможно, является результатом связывания с тканью сосудов продуцируемого печенью С-реактивного белка, способного активировать эндотелиоциты [19].

Отмечено, что на фоне выявленных нарушений метаболизма липидов крови, повышения концентрации С-реактивного белка и ультраструктурных изменений поверхности аорты на 16-е сутки моделирования дислипидемии наблюдается тенденция к трехкратному возрастанию концентрации свободно циркулирующей мтДНК в крови в сравнении с контролем ($p = 0,6$) (рис. 3). Следовательно, формирующи-

еся в течение первых двух недель эксперимента атерогенные факторы крови не оказывают значимого влияния на выброс мтДНК в кровь. Принимая во внимание повышение данного показателя при атеросклеротических повреждениях сосудов у пациентов с сахарным диабетом [9, 10] и факторах развития оксидативных изменений мтДНК клеток эндотелия под действием перекисно-модифицированных ЛПНП [20], можно предположить, что возрастание уровня мтДНК плазмы крови может происходить на более отдаленных этапах дислипидемии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ И ВЫВОДЫ

1. Установлено, что на 2-е сутки экспериментальной дислипидемии в крови экспериментальных животных формируется выраженный дисбаланс между атерогенной и анти-атерогенной фракциями холестерина и на 8-е сутки увеличивается в 6 раз уровень С-реактивного белка.

2. На 16-е сутки атерогенной диеты на фоне возрастания коэффициента атерогенности и повышения концентрации С-реактивного белка изменяется микроструктура складок внутренней поверхности аорты, в областях отхождения артерий формируются участки с адгезией отдельных эритроцитов, лейкоцитов и тромбоцитов, скопления которых могут служить локусами формирования атеросклеротических бляшек.

3. Комплекс изменений концентраций фракций холестерина, С-реактивного белка крови и ультраструктурных изменений аорты может служить моделью раннего развития проявлений экспериментальной дислипидемии для доклинического этапа трансляционных исследований с целью разработки новых технологий ранней диагностики дислипидемий и атеросклероза.

4. Уровень свободно циркулирующей мтДНК статистически значимо не изменяется на протяжении всего срока наблюдения и только на 16-е сутки атерогенной диеты проявляет тенденцию к трехкратному увеличению концентрации свободно циркулирующей мтДНК в крови в сравнении с контролем ($p = 0,6$). Это предопределяет необходимость проведения дальнейших исследований динамики мтДНК на более поздних сроках моделирования дислипидемии.

Работа выполнена при финансовой поддержке программы фундаментальных исследований Президиума РАН «Фундаментальные науки – медицине» (проект № 2.1.12, ФНМ-15) и гранта Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 15-04-05046).

ЛИТЕРАТУРА

1. **Сазонова М.А., Иванова М.М., Желанкин А.В. и др.** Ассоциация мутации митохондриального генома 652insG с атеросклеротическими поражениями человека // *Фундаментальные науки и практика*. 2010. № 4. С. 168–171.
2. **Vejuh A., Kahn E., Ménétrier F. et al.** Cytotoxic oxysterols induce caspase-independent myelin figure formation and caspase-dependent polar lipid accumulation // *Histochem. Cell Biol.* 2007. Vol. 127. P. 609–624.
3. **Gahan P.B.** Biology of circulating nucleic acids and possible roles in diagnosis and treatment in diabetes and cancer // *Infect. Disord. Drug Targets*. 2012. Vol. 12. P. 360–370.
4. **Zhang Q., Raoof M., Chen Y. et al.** Circulating mitochondrial DAMPs cause inflammatory responses to injury // *Nature*. 2010. Vol. 464. P. 104–107.
5. **Ellinger J., Müller S.C., Wernert N. et al.** Mitochondrial DNA in serum of patients with prostate cancer: a predictor of biochemical recurrence after prostatectomy // *BJU Int.* 2008. Vol. 102. P. 628–632.
6. **Sudakov N.P., Popkova T.P., Novikova M.A. et al.** The level of blood plasma mitochondrial DNA upon acute myocardium damage in experiment // *Biopolymers and Cell*. 2012. Vol. 28, N 4. P. 321–324.
7. **Nakahira K., Kyung S.Y., Rogers A.J. et al.** Circulating mitochondrial DNA in patients in the ICU as a marker of mortality: derivation and validation // *PLoS Med.* 2013. Vol. 10. e1001577.
8. **Liu J., Cai X., Xie L. et al.** Circulating Cell Free Mitochondrial DNA is a Biomarker in the Development of Coronary Heart Disease in the Patients with Type 2 Diabetes // *Clin. Lab.* 2015. Vol. 61. P. 661–667.
9. **Alvarado-Vásquez N.** Circulating cell-free mitochondrial DNA as the probable inducer of early endothelial dysfunction in the prediabetic patient // *Exp. Gerontol.* 2015. Vol. 69. P. 70–78.
10. **Нагорнев В.А., Назаров П.Г., Полевщиков В.А. и др.** Атерогенез и реакция «острой фазы» печени // *Архив патологии*. 1998. № 6. С. 62–68.
11. **Chiu R.W., Chan L.Y., Lam N.Y. et al.** Quantitative analysis of circulating mitochondrial DNA in plasma // *Clin. Chem.* 2003. Vol. 49. P. 719–726.
12. **Han C.J., Liu J.T., Li M. et al.** Rosiglitazone inhibits angiotensin II-induced C-reactive protein production in human aortic endothelial cells through regulating AT(1)-ROS-MAPK signal pathway // *Inflamm. Res.* 2012. Vol. 61. P. 1031–1037.
13. **Судаков Н.П., Гольдберг О.А., Никифоров С.Б. и др.** Динамика объема липидных капель клеток печени при экспериментальной дислипидемии // *Изв. ИГУ. Сер. Биология. Экология*, 2014. Т. 7. С. 104–109.
14. **Herms A., Bosch M., Ariotti N. et al.** Cell-to-Cell Heterogeneity in Lipid Droplets Suggests a Mechanism to Reduce Lipotoxicity // *Curr. Biol.* 2013. Vol. 23. P. 1489–1496.
15. **Судаков Н.П., Новикова М.А., Липко С.В. и др.** Ультра- и наноструктурные нарушения митохондрий клеток печени при экспериментальной дислипидемии // *Бюл. ВСНЦ СО РАМН*. 2010. № 5. С. 197–201.
16. **Fearon I.M.** OxLDL enhances L-type Ca²⁺ currents via lysophosphatidylcholine-induced mitochondrial reactive oxygen species (ROS) production // *Cardiovasc. Res.* 2006. Vol. 69. P. 855–864.
17. **Bian F., Yang X., Zhou F. et al.** CRP promotes atherosclerosis by increasing LDL transcytosis across endothelial cells // *Br. J. Pharmacol.* 2014. Vol. 171. P. 2671–2684.
18. **Yuan Y., Verna L.K., Wang N.P. et al.** Cholesterol enrichment upregulates intercellular adhesion molecule-1 in human vascular endothelial cells // *Biochim. Biophys. Acta.* 2001. Vol. 1534. P. 139–148.
19. **Liu S.J., Liu W.H., Zhong Y., Liu S.M.** Glycogen synthase kinase-3 β is involved in C-reactive protein-induced endothelial cell activation // *Biochem. (Mosc)*. 2013. N 8. P. 915–919.
20. **Ding Z., Liu S., Wang X., Khaidakov M., Dai Y., Mehta J.L.** Oxidant stress in mitochondrial DNA damage, autophagy and inflammation in atherosclerosis // *Sci. Rep.* 2013. Vol. 3. P. 1077.

THE EARLY EVENTS OF ATHEROSCLEROSIS DEVELOPMENT AND THE LEVEL OF FREE CIRCULATING MITOCHONDRIAL DNA IN BLOOD IN THE EXPERIMENTAL DYSLIPIDEMIA

**N.P. Sudakov^{1,2,3}, I.V. Klimenkov^{3,4}, T.P. Popkova³, S.B. Nikiforov², O.A. Goldberg²,
S.A. Lepekhova^{1,2}, K.A. Apartsin^{1,2}, A.I. Katyshev⁵, Yu.M. Konstantinov^{3,5}**

¹*Irkutsk Scientific Center SB RAS
664033, Irkutsk, Lermontov str., 134*

²*Irkutsk Scientific Center of Surgery and Traumatology
664003, Irkutsk, Bortsov Revolyutsii str., 1*

³*Irkutsk State University
664003, Irkutsk, Karl Marks str., 1*

⁴*Limnological Institute SB RAS
664033, Irkutsk, Ulan-Batorskaya str., 3*

⁵*Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry
664033, Irkutsk, Lermontov str., 132*

The aim of research: the studying of blood lipid spectrum, C-reactive protein concentration, and free circulating mitochondrial DNA changes in the course of aorta atherosclerosis development in early steps of high-cholesterol diet in experiment. Material and methods. Dyslipidemia was induced by high-cholesterol diet in rabbits "Chinchilla". The C-reactive protein level and lipid spectrum was analyzed with Beckman synchro 4 multianalyzer (Beckman coulter, USA). The mitochondrial DNA level was registered by real-time PCR. The ultra structure of aorta surface was studied by scanning electron microscopy. Results. It was shown that in the blood of experimental animals is formed the Beckman imbalance of atherogenic and antiatherogenic cholesterol fractions (on 2 days of dyslipidemia) and elevated the C-reactive protein level (on the 8 days). Concurrently, on the 16 days of study, we registered the leucocyte adhesion on the aorta surface in the areas of connections with arteria, which could be focuses of atherosclerotic plaque development. The level of free circulating mitochondrial DNA showed the tendency to 3-fold elevation in comparing with control. However, this data predetermined the prospects of blood plasma mitochondrial DNA level studying on the more late stages of dyslipidemia. Conclusion. In the whole, the detected complex of biochemical disturbances of blood and ultrastructural changes of aorta surface in the course of early steps of high-cholesterol diet maybe prospective model of early events of atherosclerosis for pre-clinical translational research in the development of new technologies for diagnostics, prophylaxis, and treatment of lipid metabolism disturbances and atherosclerosis.

Keywords: dyslipidemia, atherosclerosis, C-reactive protein, free circulating mitochondrial DNA.

Статья поступила 23 августа 2015 г.