

ОГЛАВЛЕНИЕ

Авторы	8
Список сокращений и условных обозначений	10
Введение	13

Глава 1. Митохондрии и митохондриальная медицина

(Ю.С. Иткис, Е.Ю. Захарова).....	15
1.1. История изучения митохондриальных заболеваний.....	16
1.2. Структура и функции митохондрий.....	19
1.3. Дыхательная цепь митохондрий.....	21
1.4. Митохондриальная ДНК.....	21
1.5. Феномен гетероплазмии митохондриальной ДНК и эффект «бутылочного горлышка».....	24
1.6. Эпидемиология митохондриальных заболеваний.....	27
1.7. Классификация митохондриальных заболеваний.....	29
1.8. Клинические проявления и особенности течения митохондриальных заболеваний.....	31
1.9. Патогенез митохондриальных заболеваний.....	35
Литература	37

Глава 2. Основные синдромы, связанные с патогенными вариантами в ядерной и митохондриальной ДНК

(Н.Л. Шеремет, Е.А. Николаева, П.Г. Цыганкова, С.М. Михайлова, И.О. Бычков, Д.В. Кистол, Ю.С. Иткис, С.А. Курбатов).....	39
2.1. Основные синдромы, связанные с патогенными вариантами в митохондриальной ДНК.....	39
2.2. Митохондриальная энцефаломиопатия, лактат-ацидоз, инсультоподобные состояния.....	41
Клинический случай синдрома MELAS.....	47
2.3. Миоклонус-эпилепсия, «рваные» красные мышечные волокна... 48	
Клинический случай синдрома MERRF.....	51
2.4. Нейропатия, атаксия, пигментный ретинит.....	53
Клинический случай синдрома NARP/MILS.....	56

2.5. Матерински наследуемый синдром Ли	57
Клинический случай синдрома MILS	59
2.6. Младенческая (неонатальная) энцефаломиопатия/врожденный лактат-ацидоз	60
2.7. Другие синдромы, обусловленные патогенными вариантами в митохондриальной ДНК.	61
Клинический случай митохондриальной энцефаломиопатии	62
Клинический пример митохондриальной энцефаломиопатии в сочетании с кардиомиопатией	65
Клинический пример нейропатии зрительного нерва Лебера с ранней манифестацией.	66
2.8. Заболевания, обусловленные делециями митохондриальной ДНК	67
2.8.1. Синдром Пирсона	68
Клинический случай синдрома Пирсона.	70
2.8.2. Прогрессирующая наружная офтальмоплегия	71
Клинический случай синдрома прогрессирующей наружной офтальмоплегии.	72
Клинический случай митохондриальной миопатии с прогрессирующей наружной офтальмоплегией.	73
2.8.3. Синдром Кернса–Сейра	74
Клинический случай синдрома Кернса–Сейра	77
Литература	78
2.9. Митохондриальные оптические нейропатии.	80
2.9.1. Наследственная оптическая нейропатия Лебера	82
2.9.2. Аутосомно-доминантная оптическая нейропатия	85
2.9.3. Аутосомно-рецессивная оптическая нейропатия	86
2.9.4. Метаболические нарушения у пациентов с наследственными оптическими нейропатиями.	88
2.9.5. Дифференциальная диагностика.	89
2.9.6. Молекулярно-генетическая диагностика наследственных оптических нейропатий.	90
2.9.7. Подходы к лечению	90
Клинический случай	91

Литература	93
2.10. Основные синдромы, связанные с патогенными вариантами в ядерной ДНК	95
2.10.1. Синдром Ли, или подострая некротизирующая энцефаломиелопатия	96
Клинический случай СЛ	112
2.11. Заболевания, связанные с патогенными вариантами в гене <i>POLG</i>	115
Клинический случай синдрома Альперса	122
Клинический случай синдрома SANDO	124
2.12. Синдромы истощения митохондриальной ДНК	125
2.12.1. <i>TK2</i> -обусловленная миопатия	126
Клинический случай <i>TK2</i> -ассоциированного заболевания ...	127
2.12.2. <i>DGUOK</i> -обусловленный синдром истощения митохондриальной ДНК	129
Клинический случай синдрома истощения мтДНК тип 3, гепатоцеребральная форма	131
Данные инструментальных и лабораторных исследований ...	133
2.12.3. Митохондриальная нейрогастроинтестинальная энцефаломииопатия	134
Клинический случай синдрома MNGIE	138
Литература	145

Глава 3. Подходы к диагностике митохондриальных заболеваний (П.Г. Цыганкова, Т.Д. Крылова, Ю.С. Иткис, Д.В. Кистол, С.В. Михайлова, Е.Ю. Захарова)

3.1. Современные критерии установления диагноза	148
3.2. Нейровизуальные особенности первичных митохондриальных заболеваний	154
3.2.1. Основные паттерны нейрорадиологических нарушений при митохондриальных заболеваниях	155
3.2.2. Магнитно-резонансная спектроскопия при митохондриальных заболеваниях	156
3.3. Нейрорадиологическая характеристика отдельных заболеваний и групп митохондриальных болезней	157
3.3.1. Синдром Ли, или подострая некротизирующая энцефаломиелопатия	157

3.3.2. Митохондриальная миопатия, энцефалопатия, лактат-ацидоз и инсультоподобные эпизоды	158
3.3.3. Наследственная оптическая нейропатия Лебера.	160
3.3.4. Синдром Кернса–Сейра	161
3.3.5. Заболевания, связанные с мутациями в гене <i>POLG</i>	162
3.3.6. Дефицит коэнзима Q.	164
3.3.7. Поражение белого вещества при митохондриальных болезнях.	165
3.3.8. Дефицит I комплекса дыхательной цепи митохондрий	166
3.3.9. Дефицит II комплекса дыхательной цепи митохондрий	168
3.3.10. Дефицит III и IV комплекса дыхательной цепи митохондрий	169
3.3.11. Лейкоэнцефалопатия с поражением ствола и высоким уровнем лактата при МР-спектроскопии	169
3.3.12. Митохондриальная нейрогастроинтестинальная энцефаломиопатия	171
3.4. Лабораторные подходы к диагностике митохондриальных болезней.	171
3.4.1. Общие сведения о лабораторных подходах к диагностике митохондриальных заболеваний	172
3.4.2. Биохимические исследования при митохондриальных заболеваниях	175
3.4.2.1. Лактат и пируват.	175
3.4.2.2. Ацилкарнитины и аминокислоты в крови	176
3.4.2.3. Органические кислоты мочи.	177
3.4.2.4. Циркулирующие цитокины FGF-21, GDF-15	177
3.4.2.5. Исследование структуры комплексов дыхательной цепи митохондрий	179
3.4.2.6. Определение активности комплексов дыхательной цепи митохондрий	179
3.4.2.7. Иммуногистохимические исследования	180
3.4.2.8. Исследование скорости потребления кислорода (респирометрия)	180
3.4.3. Тесты первой линии в лабораторной диагностике митохондриальных заболеваний	182

3.4.4. Анализ и интерпретация данных секвенирования митохондриальной ДНК	184
3.4.5. Омиксные подходы в диагностике митохондриальных заболеваний	187
Литература	188

Глава 4. Подходы к терапии митохондриальных

заболеваний (С.В. Михайлова, Е.Ю. Захарова)	190
4.1. Метаболическая коррекция	191
4.2. Увеличение клеточной концентрации митохондриального НАД+ и митохондрий	196
4.3. Защита митохондрий	197
4.4. Улучшение функции митохондрий	199
4.5. Восстановление биогенеза мтДНК	200
4.6. Диета при митохондриальных заболеваниях	201
4.7. Биоинженерия	202
4.8. Лечебная физкультура	203
4.9. Другие возможности терапии	204
4.10. Лекарственные препараты, негативно влияющие на дыхательную цепь митохондрий	205
4.11. Заключение	208
Литература	208

Глава 5. Медико-генетическое консультирование

и репродуктивные возможности при митохондриальных заболеваниях (П.Г. Цыганкова)	210
Литература	217
Приложение. Справочные материалы	219

Глава 1

Митохондрии и митохондриальная медицина

Ю.С. Иткис, Е.Ю. Захарова

Митохондрии — это уникальные внутриклеточные органеллы, которые участвуют в различных аспектах клеточной жизни и играют ключевую роль в производстве энергии. Интерес ученых к этим органеллам возник уже давно и усилился с открытием их связи с различными патологиями, включая наследственные, онкологические и нейродегенеративные болезни.

С момента выявления в 1988 г. первых нарушений в митохондриальной ДНК (мтДНК), ассоциированных с митохондриальной патологией, были описаны сотни патогенных вариантов в мтДНК и ядерной ДНК (ядДНК), которые являются причиной митохондриальных заболеваний (МЗ), причем около половины из них открыты за последние 15 лет благодаря внедрению мультиомиксных технологий. Однако постановка точного диагноза МЗ до сих пор является нетривиальной задачей, а порой превращается в продолжительную диагностическую одиссею. Одной из проблем, затрудняющих диагностику этих болезней, является выраженный клинический полиморфизм, а также генетическая гетерогенность и наличие большого числа гено- и фенокopies. Путь до постановки диагноза МЗ часто включает в себя многочисленные консультации и анализы, а зачастую и противоречивые диагнозы. Так, в одном исследовании было подсчитано, что пациенты консультировались в среднем у восьми разных врачей, прежде чем у них диагностировали МЗ, и некоторым изначально были поставлены другие диагнозы. Применение технологии секвенирования нового поколения в диагностике оказывается решающим в поиске молекулярного диагноза и играет важную роль в пополнении растущего списка новых генов МЗ. Однако при этом не существует и едино-

го биохимического или молекулярного определения «митохондриального заболевания». Это зависит от применяемых критериев, которые могут быть клиническими, генетическими, биохимическими. Учитывая эту вариацию, появляются многочисленные списки генов, включающие от 270 до более 400 предполагаемых генов МЗ. Пути патогенеза, связанные с МЗ, еще не полностью изучены, и текущие исследования в этой области будут продолжаться, а список митохондриальных генов будет расти.

1.1. ИСТОРИЯ ИЗУЧЕНИЯ МИТОХОНДРИАЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Митохондрии впервые были описаны в 1841 г. как внутриклеточные гранулы, наблюдаемые в клетке при помощи первого оптического микроскопа. В 1897 г. Vanda опубликовал первые описания этих клеточных органелл. Стремительное развитие инструментальных и биохимических методов изучения клетки во второй половине XX в. заметно повлияло и на исследование роли митохондрий.

- **1950–1990 гг.** Ультраструктура митохондрий была описана Palade в 1952 г., а существование собственной ДНК у митохондрий подтвердили Nass and Nass в 1963 г. В 1962 г. Luft описал молодую пациентку с гиперметаболизмом нетиреоидного генеза, на препаратах мышечной биопсии у нее он выявил скопления измененных митохондрий. Этот клинический случай считается первым описанием митохондриального заболевания, однако позже был выявлен всего лишь один подобный случай, и молекулярный дефект болезни Люффа до сих пор не определен. Кроме того, еще в 1951 г. в Лондоне психиатр Denis Leigh описал 7-месячного мальчика с задержкой психомоторного и физического развития, спастикой и атрофией зрительного нерва. В вышедшей публикации подробно описаны патологоанатомические особенности, выявленные у пациента, включая симметричные очаги предположительно некротизирующего характера в области таламусов, ствола мозга и задних столбов спинного мозга. D. Leigh нашел эти патологические признаки схожими с таковыми при энцефалопатии Вернике. Впоследствии в 1970-х гг. синдром Ли также связывали с нарушением глюконеогенеза, недостаточностью цитохром-*c*-оксидазы, пируватдегидрогеназы, однако молекулярный дефект на тот момент был все еще неизвестен. На данный момент описано более 80 генов синдрома Ли, и данное заболевание может служить примером чрезвычайной генетической гетерогенности МЗ. В 1958 г.

Кернс и Сейр в клинике Майо описали два случая пигментной дегенерации сетчатки в сочетании с хронической прогрессирующей офтальмоплегией и блокадой сердечной проводимости, позже опубликованы наблюдения еще девяти пациентов с подробным клиническим описанием и замечанием об отсутствии семейных случаев в данных родословных. В 1963 г. появилась модифицированная окраска гистологических препаратов по Гомори, что позволило выявлять аномальные скопления митохондрий под сарколеммой, феномен, названный «рваные красные волокна» (ragged-red fibers). В следующее десятилетие пополнялись данные о роли митохондриальных нарушений при болезнях человека, и уже в 1977 г. Shapiro ввел термин «митохондриальная энцефаломиопатия».

- **1989–2012 гг.** Недостаточность коэнзима Q_{10} была впервые описана в 1989 г., в последующие несколько лет было охарактеризовано множество случаев, но первые причинные гены для данной патологии были открыты в 2006, 2007 гг. (*PDSS1*, *PDSS2*, *COQ2*). Акроним MELAS (от Mitochondrial Encephalomyopathy, Lactic Acidosis and Stroke-like Episodes) впервые употреблен в 1984 г. Синдром митохондриальной энцефаломиопатии с лактат-ацидозом и инсультоподобными состояниями (MELAS) впоследствии известен как самое типичное и хорошо изученное МЗ. Наконец, наглядная демонстрация того, что патогенные варианты в мтДНК являются причиной болезней человека, произошла в 1988 г.: I.J. Holt описал крупные единичные делеции мтДНК у пациентов с прогрессирующей офтальмоплегией, и в том же году D.C. Wallace выявил первую точковую замену в мтДНК (m.11778G>A) как причину наследственной оптической нейропатии Лебера (НОНЛ) сразу в нескольких неродственных семьях. После такого прорыва в митохондриальной генетике описания новых патогенных вариантов и фенотипов стали появляться один за другим. Уже в 1990-е гг. были предложены быстрые лабораторные тесты на частые варианты при синдромах MELAS, миоклонус-эпилепсии с рваными красными волокнами в биоптате мышц (MERRF), нейропатии, атаксии и пигментной дегенерации сетчатки (NARP), Кернса–Сейра (KSS), НОНЛ.
- **1996–2010 гг.** После бума, связанного с открытием патогенных вариантов в мтДНК, внимание ученых было направлено и на ядерные гены. Так, в 2001 г. был картирован ген поздней формы прогрессирующей наружной офтальмоплегии с аутосомно-доминантным типом наследования (*SLC25A4*). В начале 2002 г. Copeland W. в США и van Goethem в Бельгии публикуют первые случаи доминантной

и рецессивной формы прогрессирующей наружной офтальмоплегии (РЕО) с вариантами в гене митохондриальной полимеразы гамма *POLG*, приводящими к множественным делециям мтДНК в мышцах. В 2005 г. спектр *POLG*-ассоциированных патологий расширился — выяснилось, что патогенные варианты в данном гене также приводят к болезни Альперса, тяжелому младенческому заболеванию с эпилепсией и поражением печени. Патогенные варианты в *POLG* также описали у пациентов с атаксией и полиневропатией, а также паркинсонизмом и преждевременной менопаузой. В эти же годы было выяснено, что заболевания, связанные с резким сокращением копий мтДНК в клетках и тканях, составляют одну большую группу — синдромы истощения мтДНК. Практически одновременно были описаны миопатическая (ген *TK2*), гепатocereбральная (ген *DGUOK*) формы, а также синдром митохондриальной нейрогастроинтестинальной энцефалопатии (MNGIE) (ген *TUMP*). В 2010-е гг. с появлением большого числа пациентов с МЗ с подтвержденным диагнозом назрела необходимость мониторинга, длительного наблюдения и оценки тяжести состояния и течения болезни. Появились различные шкалы оценки состояния больных с МЗ; самой успешной, которой пользуются врачи и сегодня, является The Newcastle Mitochondrial Disease Scale, разработанная отдельно для детей и взрослых. Также в это же время начали появляться первые данные о расчетной распространенности МЗ в популяции. Минимальная распространенность составила 1:5000 новорожденных. Чуть позднее Chinnery и соавт. провели в Англии скрининг 3000 новорожденных на несколько частых вариантов в мтДНК и показали, что 1 из 200 новорожденных является носителем одного из вариантов мтДНК и имеет риск заболеть в какой-то момент времени своей жизни.

- **2011–2022 гг.** Революция в медицинской генетике, связанная с появлением массового параллельного секвенирования, внесла значительный вклад в понимание генетической гетерогенности для МЗ — с помощью этой новой технологии были выявлены сотни новых генов, приводящих к развитию МЗ. На данный момент их описано более 350, и их картирование с 2016 г. происходит исключительно методами секвенирования экзома и генома (**рис. 1.1, см. цв. вклейку**). Открытие новых генов было ожидаемо, ведь уже давно известно, насколько митохондрии «многофункциональны» и сложны — база данных Mitocarta 2.0 включает более 1500 генов, в структуре которых есть так называемая митохондриальная последовательность (mitochondrial-targeted sequence, MTS) — небольшая метка,

показывающая, что синтезируемый пептид будет направлен в митохондрии. Кроме того, часть полипептидов проникает в митохондрии и без MTS. Эффективность секвенирования экзона при МЗ составляет от 17 до 55%, в зависимости от строгости критериев включения пациентов в выборку. Самой большой проблемой стала интерпретация и подтверждение патогенности новых вариантов — решением ее во многих случаях является большое международное сотрудничество. Для характеристики новых вариантов и новых генов используются различные биохимические методы, вестерн-блоттинг, клеточные и животные модели, мультиомиксные подходы. Биопсия кожи и мышцы стала обязательной частью исследования в случае обнаружения новых вероятно патогенных вариантов. Кроме того, биопсия мышцы по-прежнему применяется, в особенности у взрослых, для дифференциальной диагностики с другими нервно-мышечными болезнями, имеющими специфический паттерн при гистохимическом окрашивании и микроскопии мышечной ткани.

1.2. СТРУКТУРА И ФУНКЦИИ МИТОХОНДРИЙ

Согласно современным теориям, митохондрии произошли от свободноживущих бактерий и участвовали в происхождении эукариотических клеток посредством процесса, известного как эндосимбиоз. Эндосимбиотическая гипотеза предполагает, что исходные анаэробные эукариотические (современные взгляды указывают на эндосимбиоз с неэукариотическим архейным организмом) клетки поглотили примитивные митохондрии и установили благоприятное взаимодействие (хотя это произошло после массивного негативного отбора из-за перетасовки генов) для обоих организмов. Действительно, митохондрии смогли резко увеличить производство энергии клетками, генерируя аденозинтрифосфат (АТФ) через дыхательную цепь, в то время как клетка-хозяин создала безопасную среду для их размножения.

Митохондрии — сложные клеточные органеллы (**рис. 1.2, см. цв. вклейку**), ограниченные двумя мембранами (внутренней и внешней) и вовлеченные во множество ключевых метаболических процессов, таких как окисление жирных кислот, обмен аминокислот, цикл трикарбоновых кислот, окислительное фосфорилирование, кальциевый обмен и многие другие.

Показано, что в функционировании митохондрий задействовано как минимум 1500 различных белков. Из них только 15% непосредственно вовлечены в образование АТФ, включая пути метаболизма энергии и систему

окислительного фосфорилирования, 20–25% поддерживают и регулируют работу митохондриального генома (который кодирует около 1% митохондриальных белков). Кроме того, многие митохондриальные белки связаны с различными клеточными сигнальными путями и вовлечены в процессы деления и слияния мембран (**рис. 1.3, см. цв. вклейку**).

В зависимости от энергозатрат, в разных тканях каждая клетка может содержать от нескольких сотен до нескольких десятков тысяч митохондрий. Митохондрии в разных тканях имеют различную форму, они могут быть сферическими, нитевидными, бобовидными и др.

На внешней мембране митохондрий расположены поры, через которые специальные белки — транслоказы осуществляют перенос ионов и крупных молекул внутрь митохондрий. Внутренняя мембрана образует кристы (складки) (**рис. 1.4, см. цв. вклейку**), которые могут видоизменяться под воздействием метаболических условий и стресса; в нее встроены белки дыхательной цепи митохондрий, обеспечивающие выработку АТФ посредством формирования электрохимического протонного градиента. Пространство между внешней и внутренней мембранами называется межмембранным пространством.

Митохондрия находится под двойным генетическим контролем: часть ее компонентов кодируется ядерным геномом, но также есть и собственная мтДНК. В матриксе митохондрий расположены кольцевая двухцепочечная мтДНК размером 16 569 п.н. (много копий), специфические митохондриальные рибосомы, митохондриальные транспортные РНК (тРНК), ферменты и компоненты цикла Кребса и β -окисления жирных кислот; мтДНК содержит последовательности 37 генов, из которых 22 кодируют тРНК, 12S и 16S субъединицы рРНК. Остальные гены кодируют субъединицы дыхательной цепи митохондрий (ДЦМ) и АТФ-синтазы: ND1-6 (включая ND4 и ND4L) комплекс дыхательной цепи митохондрий I (КДЦМ I), каталитические субъединицы цитохром-с-оксидазы I-III (CO1-3) КДЦМ IV, субъединицы АТФ6 и АТФ8 АТФ-синтазы, цитохром *b* КДЦМ III.

В 2015 г. сделано открытие, связанное со структурной организацией митохондрий. Ученые из трех институтов в Германии получили Нобелевскую премию за метод микроскопии, позволивший впервые получить высокоразрешающие изображения митохондрий, на которых видна упаковка одной молекулы мтДНК, связанной со специальным белком TFAM (аналогом ядерных белков-гистонов) в слегка удлиненные структуры размером 100 нм. С помощью этого метода ученым удалось уточнить количество упакованных молекул мтДНК (нуклеоидов) в митохондриях — их может быть до 10 штук (**рис. 1.5, см. цв. вклейку**).