

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ
«ГОМЕЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Кафедра патологической физиологии

Т. С. УГОЛЬНИК, И. В. МАНАЕНКОВА

НАСЛЕДСТВЕННЫЕ МИТОХОНДРИАЛЬНЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ

**Учебно-методическое пособие
для студентов 3 курса медико-диагностического факультета
медицинских вузов**

**Гомель
ГомГМУ
2012**

УДК 616-056.7:576.311.347(07)

ББК 53.2 я 7

У 26

Рецензенты:

доктор медицинских наук, профессор,
заведующий кафедрой биологической химии

Гомельского государственного медицинского университета

А. И. Грицук;

доктор медицинских наук, профессор,
заведующая кафедрой неврологии и нейрохирургии с курсом медицинской
реабилитации Гомельского государственного медицинского университета

В. Я. Латышева

Угольник, Т. С.

У 26 Наследственные митохондриальные заболевания: учеб.-метод. пособие для студентов 3 курса медико-диагностического факультета медицинских вузов / Т. С. Угольник, И. В. Манаенкова. — Гомель: учреждение образования «Гомельский государственный медицинский университет», 2012. — 28 с.

ISBN 978-985-506-414-6

В учебно-методическом пособии содержатся сведения об этиологии, патогенезе, классификации, проявлениях и диагностике митохондриальных заболеваний. Изложены также современные представления о методах лечения и стратегиях предотвращения передачи патогенных мутаций митохондриальной ДНК.

Предназначено для студентов 3 курса медико-диагностического факультета медицинских вузов.

Утверждено и рекомендовано к изданию Центральным учебным научно-методическим советом учреждения образования «Гомельский государственный медицинский университет» 5 марта 2012 г., протокол № 2.

УДК 616-056.7:576.311.347(07)

ББК 53.2 я 7

ISBN 978-985-506-414-6

© Учреждение образования
«Гомельский государственный
медицинский университет», 2012

СОДЕРЖАНИЕ

Перечень условных обозначений	4
Структура митохондриальной ДНК.....	5
Функции митохондрий	7
Этиология и патогенез митохондриальных заболеваний	8
Классификация и общая характеристика митохондриальных заболеваний	9
Диагностика митохондриальных заболеваний	11
Лечение митохондриальных заболеваний	15
Приложение	18
Литература.....	25

ПЕРЕЧЕНЬ УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

ANT	— адениннуклеотид-транслоказа
ATP6	— АТФ-фосфатаза, субъединица 6
CAT	— карнитинацилкарнитинтранслоказа
CO I, II, III	— цитохром С-оксидаза, субъединица 1, 2, 3
CPT	— карнитинпальмитоилтрансфераза
Cyt b	— цитохром b
KSS	— синдром Кернса-Сейра
LCAD	— длинноцепочечная ацил-КоА-дегидрогеназа
LCHAD	— длинноцепочечная 3-гидроксиацил-КоА-дегидрогеназа
LHON	— наследственная нейропатия Лебера
MCAD	— среднецепочечная ацил-КоА-дегидрогеназа
MELAS	— митохондриальная миопатия, энцефалопатия, лактатный ацидоз и инсультоподобные эпизоды
MERRF	— миоклоническая эпилепсия с обнаружением феномена красных «рваных» волокон
MTTL1	— митохондриальная транспортная РНК лейцина
NARP	— нейропатия, атаксия и пигментная ретинопатия
ND1	— НАДН-дегидрогеназа, субъединица 1
OXPPOS	— семейство генов окислительного фосфорилирования
PEO	— прогрессирующая наружная офтальмоплегия
POLG	— ДНК-полимераза гамма
RRF	— синдром красных «рваных» волокон
SCAD	— короткоцепочечная ацил-КоА-дегидрогеназа
VLCAD	— очень длинноцепочечная ацил-КоА-дегидрогеназа
WFS1	— трансмембранный белок вольфрамин
КТ	— компьютерная томография
МЗ	— митохондриальные заболевания
МРТ	— магнитно-резонансная томография
мтДНК	— митохондриальная ДНК
тРНК Leu	— транспортная РНК лейцина
ядНК	— ядерная ДНК

1. СТРУКТУРА МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДЕЗОКСИРИБОНУКЛЕИНОВОЙ КИСЛОТЫ

Особенностью функционирования митохондрий является наличие собственного митохондриального генома — кольцевой двухцепочечной молекулы ДНК.

В процессе симбиоза митохондрии частично утратили самостоятельность и передали часть своего генома ядрам клеток. Большая часть митохондриальных белков (более 99 %) кодируется в ядрах клеток и доставляется в митохондрии из цитоплазмы. Помимо этого, ферменты и факторы, необходимые для репликации, транскрипции и трансляции, также поступают в митохондрии из цитоплазмы клетки.

Хотя большинство генов, продукты которых ответственны за нормальное функционирование системы окислительного фосфорилирования, располагаются в хромосомах, в настоящее время известно всего несколько локусов, мутации в которых могут рассматриваться в качестве причины митохондриальной болезни (например, синдром нейрогастроинтестинальной энцефалопатии, MNGIE, обусловлен мутацией гена тимодинфосфорилазы).

Гораздо чаще мутации в ядерных генах модифицируют экспрессию мутаций митохондриального генома. Без вероятного влияния ядерного генома трудно объяснить, почему одна и та же точечная мутация (*MTTL1 MELAS 3243G*) ассоциируется с такими разными клиническими фенотипами, как сахарный диабет и энцефалопатия. Кроме того, в основе возникновения некоторых митохондриальных миопатий, таких, как офтальмоплегия и птоз, может лежать дестабилизация молекулы мтДНК, инициируемая мутациями в ядерных генах.

Структура митохондриальной дезоксирибонуклеиновой кислоты:

1. мтДНК человека включает 16569 пар нуклеотидов и представлена 2-мя цепями:

- L (Light) — легкая, богата цитозином, содержит 9 генов: ND6, 8 генов тРНК;

- H (Heavy) — тяжелая, богата гуанином, содержит 28 генов.

2. Кодирующая часть содержит 37 генов:

— 13 структурных генов, продукты которых участвуют в процессе выработки энергии в дыхательной цепи митохондрий:

- I ферментного комплекса — 7 субъединиц (ND1, 2, 3, 4, 4L, 5, 6);

- III ферментного комплекса — 1 субъединица (Cyt b);

- IV ферментного комплекса — 3 субъединицы (CO I, CO II, CO III);

- V ферментного комплекса — 2 субъединицы (АТФ-аза 6 и 8);

— 2 гена, кодирующих рРНК:

- 12s рРНК;

- 16s рРНК;

— 22 гена, кодирующих тРНК: А, Р, С, Е, Q и т. д.

3. Некодирующая часть:

• контрольный район (КР) — 1122 пары нуклеотидов, несет регуляторные последовательности:

P_H — промотор тяжелой цепи;

P_L — промотор легкой цепи;

O_H — точка инициации репликации тяжелой цепи;

O_L — точка инициации репликации легкой цепи (лежит в кодирующей части);

• Д-петля (*от англ.* Displacement Loop) — 710 пар нуклеотидов, трехцепочечный участок ДНК, образующийся в результате репликации (рисунок 1).

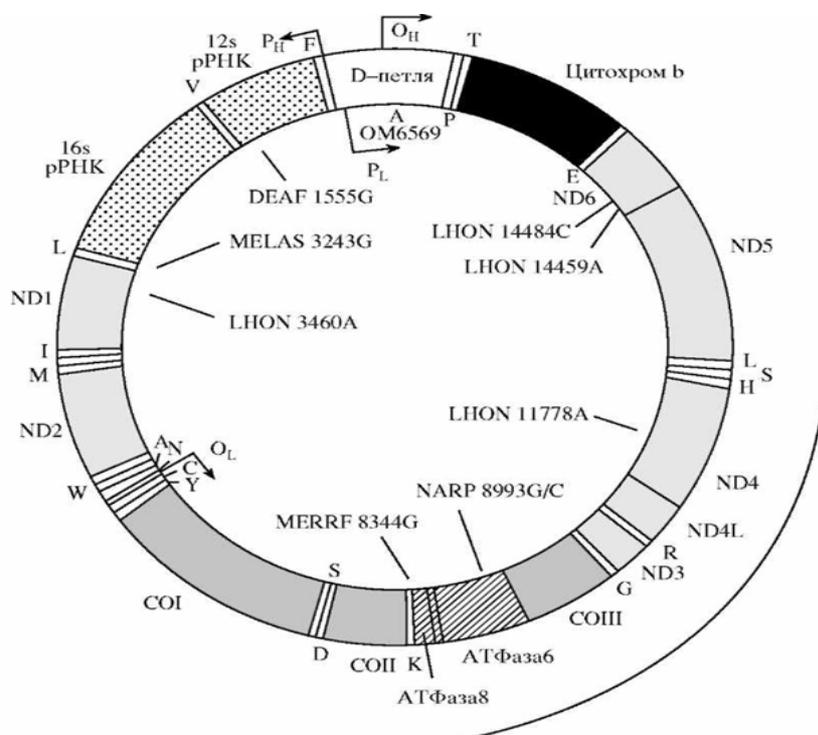


Рисунок 1 — Структура митохондриальной ДНК (по Р. И. Суверник, 2002)

Структура мтДНК млекопитающих имеет сходство с геномом прокариот: гены в митохондриях лишены интронов (некоторые из генов перекрываются). На межцистронные участки приходится, в целом, 87 пар нуклеотидов.

Установлено, что молекулы мтДНК (5–7 молекул) соматических клеток организованы в нуклеоиды. В состав нуклеоидов входят гистоноподобные белки, белки, регулирующие транскрипцию и репликацию мтДНК. Нуклеоиды связаны с внутренней мембраной посредством белков. Предполагают, что мтДНК собраны в нуклеоиды для защиты от повреждений.

Установлено, что отдельные нуклеоиды крайне редко обмениваются мтДНК.

Скорость мутирования мтДНК человека, в среднем, в 10–17 раз выше скорости мутирования ядерных генов. Это можно объяснить несовершен-

ством репарационных механизмов, отсутствием гистонов и присутствием свободных радикалов кислорода — побочных продуктов аэробного дыхания. Подтверждением этого служит обнаружение аналогов мтДНК в ядерном геноме, которые мутируют с гораздо меньшей скоростью, чем сама мтДНК. Снижая выход энергии, патогенная мутация мтДНК, как правило, приводит к избыточному накоплению свободных радикалов кислорода. Следствием окислительного стресса является нарушение проницаемости внутренней мембраны митохондрий и активация факторов, инициирующих апоптоз клетки.

2. ФУНКЦИИ МИТОХОНДРИЙ

Основная функция митохондрий заключается в обеспечении клетки энергией. Для этого необходимы: транспорт субстратов, их окисление, цикл трикарбоновых кислот, функционирование дыхательных цепей митохондрий и сопряжение окисления и фосфорилирования. Митохондрии играют также важную роль во многих других процессах: внутриклеточной сигнализации, апоптозе, промежуточном метаболизме, в метаболизме аминокислот, липидов, холестерина, стероидов и нуклеотидов.

Биохимические процессы начинаются с транспорта субстратов через мембрану митохондрий. Избирательная проницаемость мембраны достигается благодаря существованию транспортных белков — транслоказ, которые служат переносчиками дикарбоновых кислот, АТФ и АДФ, ионов кальция, глутамата и др. Основными субстратами митохондрий являются пируват и жирные кислоты, транспорт которых осуществляется с помощью карнитин-пальмитоил-трансферазы и карнитина.

Следующий этап — окисление субстратов — происходит под действием ферментов пируват-дегидрогеназного комплекса, состоящего из 3-х ферментов: пируват-дегидрогеназы, липоат-ацетилтрансферазы и липоамид-дегидрогеназы. В результате этих реакций образуется ацетил-КоА, который и включается в цикл трикарбоновых кислот.

Утилизация жирных кислот происходит многоступенчато и осуществляется в процессе β -окисления. В ходе этих реакций образуются электроны, которые переносятся в дыхательную цепь митохондрий.

Центральный путь утилизации углеродсодержащих молекул, приводящий к полному разложению пирувата в аэробных условиях, осуществляется через цикл Кребса. В результате этого цикла также образуются молекулы НАД и ФАД, передающие свои электроны в дыхательную цепь митохондрий.

Дыхательная цепь митохондрий состоит из 5 мультиферментных комплексов, 4 из которых осуществляют транспорт электронов, а 5-й катализирует синтез АТФ. Комплексы дыхательных цепей митохондрий находятся под двойным генетическим контролем, как со стороны митохондриального, так и ядерного генома.

3. ЭТИОЛОГИЯ И ПАТОГЕНЕЗ МИТОХОНДРИАЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Основными причинами митохондриальных заболеваний являются мутации митохондриальных генов, мутации генов яДНК необходимых для работы митохондрий, нарушение интергеномного взаимодействия, которое может привести к возникновению феномена деплеции — истощению числа копий мтДНК, т. к. синтез мтДНК находится под контролем яДНК.

Наследование мутаций мтДНК имеет следующие особенности:

- *Гетероплазмия* — наличие в ооците мутантных и нормальных копий мтДНК. Поэтому сиблинги могут наследовать от матери мутантную мтДНК, но фенотипически отличаться.

- *Материнский тип наследования.*

- *Эффект «бутылочного горлышка»* — уменьшение количества и неравномерное распределение митохондрий при формировании ооцитов.

- *Пороговый эффект* — для проявления мутаций в энергозависимых тканях необходима доля мутантных ДНК выше 60–70 %, в менее энергозависимых — выше 90 %.

- *Вариация доли мутантных молекул в разных тканях.*

Основные типы наследования митохондриальных заболеваний приведены в таблице 1.

Таблица 1 — Типы наследования митохондриальных заболеваний (по С. Н. Иллариошкину, 2007)

<i>Тип наследования</i>	<i>Признаки</i>	<i>Причины</i>	<i>Примеры</i>
Материнское (митохондриальное или цитоплазматическое)	Болеют все дети (братья и сестры), рожденные от больной женщины	Точечная мутация, переданная от матери через яйцеклетку вместе с попадающими в зиготу митохондриями	Синдромы: MELAS, MERRF, NARP, LHON.
Спорадические случаи	Отсутствие повторных случаев заболевания в семье	Делеции, возникающие заново в эмбриогенезе	Синдромы: KSS, PEO, Пирсона.
Менделевское наследование: — аутосомно-доминантное — аутосомно-рецессивное — X-сцепленное	Болеют 50 % детей, рожденных от больного мужчины или больной женщины. Болеют 25 % детей, рожденных от здоровых родителей. Болеют 50 % сыновей, а носителями мутации являются 50 % дочерей, рожденных от здоровой матери	Деплеции мтДНК мутации ядерных генов	Болезни: Фридрейха, Лея, Альперса.

Патогенез митохондриальных болезней связан с нарушением биохимических процессов, происходящих в митохондриях.

Явление гетероплазмии определяет существование в одной клетке нормальных митохондрий и митохондрий с нарушенной функцией. За счет первых клетка может функционировать какое-то время. Если продукция энергии в ней падает ниже определенного порога, то происходит компенсаторная пролиферация всех митохондрий, включая дефектные. В худшем положении оказываются клетки, которые потребляют много энергии: нейроны, мышечные волокна, кардиомиоциты.

Из-за утечки в дыхательной цепи митохондрии постоянно продуцируют свободные радикалы на уровне 1–2 % поглощенного кислорода. Количество продукции радикалов зависит от мембранного потенциала митохондрий, на изменения которого влияет состояние АТФ-зависимых калиевых каналов митохондрий. Открытие этих каналов влечет за собой возрастание образования свободных радикалов, повреждение других белков митохондриальных мембран и мтДНК. ДНК митохондрий не защищена гистонами и хорошо доступна для радикалов, что проявляется в изменении уровня гетероплазмии. Принято считать, что наличие 10 % митохондрий с измененной ДНК не оказывает влияния на фенотип.

4. КЛАССИФИКАЦИЯ И ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МИТОХОНДРИАЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Единой этиологической классификации МЗ в настоящее время не существует из-за неопределенности вклада мутаций ядерного генома в их этиологию и патогенез. Существующие классификации основаны на 2-х принципах: локализации мутантного гена в мтДНК или яДНК и участии мутантного белка в реакциях окислительного фосфорилирования.

Этиологическая классификация (по В. И. Иванову, 2006) включает митохондриальные болезни, связанные с дефектами:

- мтДНК;
- яДНК;
- интергеномных взаимодействий.

Патогенетическая классификация (по Ю. А. Князеву, 2000) подразделяет митохондриальные болезни на обусловленные нарушением:

- карнитинового цикла;
- окисления жирных кислот;
- метаболизма пирувата;
- цикла Кребса;
- работы дыхательной цепи;
- сопряжения окисления и фосфорилирования.

В клинической практике объединяют комбинации часто встречающихся симптомов МЗ в синдромы.

Митохондриальные заболевания — гетерогенная группа заболеваний, характеризующихся генетическими и структурно-биохимическими дефектами митохондрий, нарушением тканевого дыхания. По происхождению МЗ делятся на первичные (наследственные) и вторичные.

Причинами наследственных МЗ являются мутации митохондриального и (или) ядерного генома.

К настоящему времени известно более 200 заболеваний, вызванных мутацией мтДНК.

По мере накопления клинико-диагностических данных в разных странах было установлено, что у детей примерно каждое третье наследственное метаболическое заболевание связано с митохондриями. По данным Н. Г. Даниленко, (2007) в популяциях частота митохондриальных болезней варьирует от 1:5000 до 1:35000. Минимальная частота МЗ в популяции взрослых жителей Великобритании оценивается как (1–3):10000.

Характеристика клинических особенностей МЗ представлена в таблице 2.

Таблица 2 — Клинические особенности митохондриальных заболеваний (по С. Н. Иллариошкину, 2007)

<i>Клинические особенности</i>	<i>Патофизиологическое значение</i>
Полисистемность, полиорганность, «необъяснимость» сочетания симптомов со стороны органов, не связанных по происхождению	Поражение органов, имеющих близкий «порог» чувствительности к нарушению окислительного фосфорилирования
Наличие острых эпизодов в дебюте заболевания или в его развернутой стадии	«Метаболический криз», связанный со срывом баланса между потребностями ткани в энергообеспечении и уровнем анаэробного дыхания
Вариабельный возраст начала симптоматики (от 1 до 7-го десятилетия жизни)	Вариабельный уровень мутантной мтДНК в разных тканях в различный момент времени
Усугубление симптоматики с возрастом	Наращение числа мутаций мтДНК и ослабление интенсивности окислительного фосфорилирования по мере старения

Поражение большинства систем и органов при МЗ можно объяснить тем, что многие процессы, протекающие в организме энергозависимы. Относительная энергозависимость органов и тканей в порядке убывания: ЦНС, скелетные мышцы, миокарда, орган зрения, почки, печень, костный мозг, эндокринная система.

Нейронам необходимо большое количество АТФ для синтеза нейромедиаторов, регенерации, поддержания необходимого градиента Na^+ и K^+ , проведения нервного импульса. Скелетные мышцы в покое потребляют незначительные количества АТФ, но при физической нагрузке эти потребности возрастают в десятки раз. В миокарде постоянно совершается механическая работа, необходимая для циркуляции крови. Почки используют АТФ в процессе реабсорбции веществ при образовании мочи. В печени происходит синтез гликогена, жиров, белков и других соединений.

5. ДИАГНОСТИКА МИТОХОНДРИАЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Митохондриальные болезни трудны для диагностики. Определяется это отсутствием строгой связи между сайтом мутации и клиническим фенотипом. Это значит, что одна и та же мутация может вызывать разные симптомы, а один и тот же клинический фенотип могут формировать разные мутации.

Поэтому для постановки диагноза митохондриального заболевания важен комплексный подход, основанный на генеалогическом, клиническом, биохимическом, морфологическом (гистологическом), генетическом анализах.

Генеалогический анализ

Наличие в семейном анамнезе синдрома внезапной младенческой смерти, кардиомиопатий, деменций, раннего инсульта, ретинопатий, диабета, задержки развития может указывать на митохондриальную природу имеющегося заболевания.

Клинические проявления митохондриальных заболеваний

Миопатический синдром: слабость и атрофия мышц, снижение миотонического тонуса, мышечные боли, непереносимость физической нагрузки (усиление мышечной слабости, появление рвоты и головной боли).

Центральная нервная система и органы чувств: летаргия, кома, задержка психомоторного развития, деменция, нарушение сознания, атаксия, дистония, эпилепсия, миоклонические судороги, «метаболический инсульт», слепота центрального происхождения, пигментный ретинит, атрофия зрительных нервов, нистагм, катаракта, офтальмоплегия, птоз, нарушение остроты зрения, гипоакузия, дизартрия, сенсорные нарушения, сухость слизистой рта, гипотония, снижение глубоких сухожильных рефлексов, инсультоподобные эпизоды, гемипарезы.

Периферическая нервная система: аксональная нейропатия, нарушение двигательной функции гастроинтестинального тракта.

Сердечно-сосудистая система: кардиомиопатия (обычно гипертрофическая), аритмия, нарушение проводимости.

Желудочно-кишечный тракт: частые диспептические явления (рвота, диарея), атрофия ворсинок кишечника, экзокринная недостаточность поджелудочной железы.

Печень: прогрессирующая печеночная недостаточность (особенно у младенцев), гепатомегалия.

Почки: тубулопатия (по типу синдрома Де Тони-Дебре-Фанкони: фосфатурия, глюкозурия, аминацидурия), нефрит, почечная недостаточность.

Эндокринная система: задержка роста, нарушение полового развития, гипогликемия, сахарный и несахарный диабет, гипотиреоз, гипопаратиреозидизм, гипоталамо-гипофизарная недостаточность, гиперальдостеронизм.

Система кроветворения: панцитопения, макроцитарная анемия.

Основные биохимические проявления митохондриальных заболеваний

Повышение уровня:

- лактата и пирувата в крови (ликворе);
- 3-гидроксимасляной и ацетоуксусной кислот в крови;
- аммиака в крови;
- аминокислот;
- жирных кислот с разной длиной цепи;
- миоглобина;
- продуктов перекисного окисления липидов;
- мочевого экскреции органических кислот.

Снижение:

- активности некоторых ферментов энергетического обмена в митохондриях;
- содержания общего карнитина в крови.

Лактатный ацидоз является практически постоянным спутником митохондриальных болезней, но проявляется и при других формах патологии. Поэтому более эффективным является измерение уровня лактата в венозной крови после умеренной физической нагрузки на велоэргометре.

Основные изменения структуры скелетной мышцы при митохондриальной недостаточности

Морфологическое исследование позволяет с помощью световой и электронной микроскопии в сочетании с гистохимическими методами выявить нарушения количества и строения митохондрий, признаки их дисфункций и снижения активности митохондриальных ферментов.

Световая микроскопия с применением различных видов специальной окраски, в т. ч. и для определения активности митохондриальных ферментов выявляет:

- феномен «рваных» (*шероховатых*) красных волокон (RRF — «ragged» red fibres) в количестве более 5 % (при окраске по Гомори, Альтману напоминает разрыв волокон по периферии и обусловлен скоплением пролиферирующих генетически измененных митохондрий под сарколеммой);

- гистохимические признаки недостаточности митохондриальных ферментов (цикла Кребса, респираторной цепи), особенно цитратсинтетазы, сукцинатдегидрогеназы и цитохром-С-оксидазы;

- субсарколеммальное накопление гликогена, липидов, кальция (считают, что накопление жировых капель в различных тканях, в т. ч. в мышечных волокнах, происходит в результате нарушения окисления жирных кислот в митохондриях).

При *электронной микроскопии* определяют:

- пролиферацию митохондрий;
- скопления аномальных митохондрий под сарколеммой;

- полиморфизм митохондрий с нарушением формы и размера, дезорганизацией крист;
- наличие в митохондриях паракристаллических включений;
- наличие митохондриально-липидных комплексов.

Генетический анализ для подтверждения диагноза митохондриального заболевания

Обнаружение любого вида митохондриальной мутации с достаточно высоким соотношением аномальной и нормальной мтДНК подтверждает диагноз митохондриального заболевания или синдрома. Отсутствие митохондриальной мутации позволяет предполагать у пациента наличие патологии, связанной с мутацией яДНК.

Известно, что *уровень гетероплазмии во многом определяет фенотипическое проявление мутации*. Поэтому, при проведении молекулярного анализа необходимо оценивать количество мутантных мтДНК. Оценка уровня гетероплазмии включает детекцию мутации, однако методы обнаружения мутации не всегда учитывают уровень ее гетероплазмии.

1. *Метод клонирования* дает достоверные количественные результаты (наиболее трудоемкий и продолжительный).

2. *Флуоресцентная ПЦР* предоставляет более точные результаты при меньшей трудоемкости (не позволяет выявлять мелкие делеции и вставки).

3. *Денатурирующая высокоразрешающая жидкостная хроматография* дает воспроизводимые результаты при любых видах мутаций (делеции, вставки, точковые мутации), находящихся в состоянии гетероплазмии (оценка уровня гетероплазмии более точна по сравнению с 2-мя предыдущими).

4. *ПЦР в реальном времени* используется для обнаружения и количественной оценки мутаций мтДНК. Используют: гидролизуемые зонды (TaqMan), интеркалирующий краситель SYBR.

Наиболее точные оценки дают 3 метода:

- *минисеквенирование (SNaP-shot)* — определение однонуклеотидных замен, делеций и инсерций короткими зондами (15–30 нуклеотидов). Участок ДНК несущий мутацию, например С → Т выделяется и амплифицируется с помощью ПЦР. Этот участок является матрицей. Зонд имеет идентичную структуру, массу 5485 Да, но короче матрицы на один нуклеотид. К смеси зонда и матрицы добавляют нуклеотиды Т и С. Если к зонду присоединится нуклеотид С, то матрица «дикого» типа и ее масса составит 5758 Да. Если нуклеотид Т — матрица была мутантного типа с массой 6102 Да. Затем массу полученных образцов определяют с помощью масс-спектрометра.

- *Пиросеквенирование* — сочетание секвенирования и синтеза. Матрицу инкубируют в смеси из 4-х ферментов, 4-х дезоксинуклеотидтрифосфатов (dATP, dCTP, dGTP, dTTP) и 4-х терминаторов транскрипции dNTP.

Присоединение комплементарного нуклеотида сопровождается флуоресцентной биохимической реакцией.

- *Biplex Invader* — позволяет обнаруживать сразу 2 мутации.

Однако, при сопоставимой точности *Biplex Invader* оказался наиболее простым в использовании, а *SNaPshot* — наиболее дорогостоящим.

В настоящее время предпочтение отдается **чиповым технологиям**, позволяющим анализировать основные патогенные мутации мтДНК сразу во множестве образцов, устанавливая при этом уровень гетероплазмии каждой отдельной мутации.

Алгоритм диагностики митохондриальных заболеваний (по С. Н. Иллариошкину, 2007)

1. Необходимо доказательное клиническое подозрение на наличие митохондриальной болезни. В типичных случаях это может быть выявление клинической картины, характерной для той или иной формы митохондриальной энцефаломиопатии (MELAS, MERRF и т. д.), однако «классические» варианты этих фенотипов встречаются сравнительно редко.

Выявление общепринятых лабораторных маркеров митохондриальной дисфункции, мультисистемного, полиорганного поражения (для этого необходим соответствующий целенаправленный поиск), а также материнского типа наследования указывают на митохондриальную природу болезни.

2. Исследование мтДНК в лимфоцитах (у пациентов с четкими фенотипами MELAS, MERRF, атрофией зрительных нервов Лебера). При выявлении искомой мутации диагноз конкретной митохондриальной болезни может считаться подтвержденным.

3. При отсутствии выявляемых мутаций в лимфоцитах проводят биопсию скелетной мышцы (обычно четырехглавой или дельтовидной), т. к. скелетная мышца является более надежным источником мтДНК (отсутствие клеточных делений в мышце способствует «удержанию» митохондрий, содержащих мутантную мтДНК). Образцы мышечных биоптатов делят на 3 части: одна — для микроскопического исследования (гистология, гистохимия и электронная микроскопия), вторая — для энзимологического и иммунологического анализа (изучение характеристик компонентов дыхательной цепи), третья — для молекулярно-генетического анализа.

4. При отсутствии известных мутаций мтДНК в мышечной ткани проводят развернутый молекулярно-генетический анализ — секвенирование всей цепи мтДНК (или кандидатных генов ядерной ДНК) с целью выявления нового варианта мутации.

5. Идентификация конкретного биохимического дефекта в том или ином звене дыхательной цепи митохондрий является альтернативой изучения скелетной мускулатуры.

6. ЛЕЧЕНИЕ МИТОХОНДРИАЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

В настоящее время митохондриальные заболевания практически не излечимы. Однако возможно либо отсрочить развитие заболевания, либо избежать наследования патогенной митохондриальной мутации.

Принципы терапии митохондриальных заболеваний

1. Симптоматическое лечение:

— Диета составляется в зависимости от патогенеза.

- При патологии транспорта и окисления жирных кислот рекомендуется частое и дробное питание со снижением калорийности пищи.

- При нарушении обмена пировиноградной кислоты для восполнения дефицита ацетил-Ко-А используется кетогенная диета.

- При дефиците ферментов ЦТК применяется частое кормление.

- При дефиците дыхательной цепи и окислительного фосфорилирования снижают количество углеводов.

— Медикаментозная терапия.

- Препараты, активизирующие перенос электронов в дыхательной цепи (коэнзим Q₁₀, витамины K₁ и K₃, препараты янтарной кислоты, цитохром С).

- Кофакторы энзимных реакций энергетического обмена (никотинамид, рибофлавин, карнитин, липоевая кислота и тиамин).

- Средства, уменьшающие степень лактат-ацидоза (дихлорацетат, димефосфон).

- Антиоксиданты (убихинон, витамин С и Е).

— Исключение препаратов, ингибирующих энергообмен (барбитураты, хлорамфеникол).

— ИВЛ, противосудорожные препараты, ферменты поджелудочной железы, переливание компонентов крови.

2. Хирургическая коррекция. При нейросенсорной потере слуха, сопровождающей синдромы MELAS, KSS, применяют улитковые имплантаты; нарушение проводимости сердца при KSS можно компенсировать вживлением водителя ритма.

3. Генная терапия дефектов дыхательной цепи (экспериментальные методы).

4. Предотвращение передачи патогенных мутаций мтДНК.

Экспериментальные методы генной терапии дефектов дыхательной цепи представлены в таблице 3.

Таблица 3 — Методы генной терапии дефектов дыхательной цепи

Название метода	Описание метода	Результаты
Аллотопической экспрессия	Клетку трансформируют векторной конструкцией, содержащей нормальную копию митохондриального гена. <i>Применима не ко всем митохондриальным генам.</i>	Устранение дефектов генов ND1, ND4, АТР6 в клеточных линиях.

Окончание таблицы 3

<i>Название метода</i>	<i>Описание метода</i>	<i>Результаты</i>
Ксенотопическая экспрессия	Использование генов субъединиц комплексов ОФ других видов организмов (альтернативных комплексов): альтернативной оксидазы (АОХ) из асцидий, дрожжевой NADH-оксидазы (ND1). <i>Большинство комплексов не способны транспортировать протоны из матрикса в межмембранное пространство</i>	Устранение дефектов ОФ в клетках млекопитающих. Теоретически могут компенсировать работу дефектного комплекса независимо от мутации.
Коррекция системы трансляции тРНК	Импорт тРНК в митохондрии. Модификация или гиперэкспрессия аминокил-тРНК-синтетаз. <i>В норме тРНК в митохондрии не транспортируются</i>	Компенсация дефекта трансляции. Восстановление клеточного дыхания.
Эндонуклеазы рестрикция	Узнают сайты, возникшие после появления мутации, и специфически разрезают мутантную мтДНК.	Изменяют уровень гетероплазмы, блокируя транскрипцию и (или) репликацию генов.
ПНК (пептидо-нуклеиновые кислоты)	Специфически связываются с мутантной мтДНК, блокируют репликацию.	
<i>CMCO от англ. (cell membrane crossing oligomers)</i>	Модифицированный вариант ПНК, имеет большую полярность и лучше проникает в митохондрию.	
Белки типа «цинковые пальцы»	Связываются с определенной нуклеотидной последовательностью в мтДНК.	

Принципы предотвращения передачи патогенных мутаций мтДНК

1. *Использование донорской яйцеклетки.* Эмбрион, полученный в результате экстракорпорального оплодотворения имплантируют в матку. Таким образом, будущему ребенку удастся избежать МЗ, которым страдает его мать. Не рекомендуется использовать донорскую яйцеклетку родственниц по материнской линии.

2. *Пренатальная диагностика* — взятие плодного материала для последующего лабораторного исследования мутаций мтДНК. Ограничения связаны с неравномерным распределением мутантной мтДНК.

3. *Преимплантационная генетическая диагностика* — диагностика генетических аномалий у эмбрионов до момента их имплантации в матку. Можно использовать полярное тельце, 1 или 2 бластомера (до 8-клеточной стадии). Имеется одинаковый уровень гетероплазмы.

4. *Цитоплазматический транспорт* — перенос нормальных митохондрий из другой яйцеклетки или зиготы в яйцеклетку, содержащую дефектные митохондрии. Ограничением является высокий уровень хромосомных аномалий у новорожденных с донорскими митохондриями.

5. *Ядерный транспорт* теоретически может выполняться на разных стадиях развития. Но в связи с этическими проблемами возможно только

на первых 3-х стадиях, когда еще не произошло дублирование яДНК (59/280 Декларация Организации Объединенных Наций о клонировании человека от 8 марта 2005).

Таким образом, митохондриальные заболевания представляют собой заболевания уникальные по этиологии и патогенезу.

В настоящее время существуют самостоятельные научные направления, такие, как митохондриология и митохондриальная медицина, международные организации по изучению митохондрий, что обусловлено наличием большого числа патологий, связанных с дефектами этих органоидов.

Клинический полиморфизм, сложность диагностики и тяжесть последствий определяет актуальность МЗ для врачей различных специальностей.

К настоящему времени в клинической практике применяется симптоматическое лечение. Этиотропное лечение находится на стадии экспериментальной разработки на мышинных моделях, клеточных линиях и имеет ограничения в использовании для человека. Альтернативой лечению может рассматриваться предотвращение передачи патогенных мутаций мтДНК от больной матери к ребенку.

Таблица — Характеристика основных нозологических форм митохондриальных заболеваний

Этиология. Сроки манифестации	Патогенез	Клинические проявления	Диагностика
Синдром MELAS (mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis and stroke-like episodes)			
Мутация гена tRNK Leu в мтДНК (MTTL1) ассоциирована в 80 % случаев с MELAS синдромом Первые признаки — в 6–10 лет	Снижение эффективности трансляции и синтеза белка внутри митохондрий, нарушение энергопродукции в дыхательной цепи. Мутации локализуются и поражают чаще мозжечок, кору больших полушарий, скелетные и сердечную мышцы, поджелудочную железу, печень, почки	Инсультподобные эпизоды, злокачественные мигрени, задержка психомоторного развития. Непереносимость физических нагрузок, миопатия, сердечная недостаточность. Сахарный диабет, низкий рост, гипопаратиреоидизм. Атрофия зрительных нервов, пигментный ретинит, глухота. Протеинурия, острая и хроническая почечная недостаточность. Поражение печени и ЖКТ	КТ и МРТ головного мозга — очаги инфаркта, кальцификация базальных ганглиев. В биоптате скелетной мышцы — феномен RRF. Лактат-ацидоз. Повышение содержания белка в ликворе
KSS — (Kearns-Sayre Syndrome, retinopathy, proximal muscle weakness, cardiac arrhythmia and ataxia)			
Крупные делеции мтДНК, спорадические случаи, точечные мутации. Проявляются в 4–20 лет	Делеция мтДНК наиболее выражена в клетках синусового, атриоventрикулярного узла и ножек пучка Гисса. Это ведет к поражению проводящей системы сердца и развитию жизнеугрожающих состояний	Дистальная блокада ножек пучка Гисса, полная АВ блокада, синдром слабости синусового узла. Кардиомиопатии. Наружная офтальмоплегия, птоз, пигментный ретинит, пигментная дегенерация сетчатки, тугоухость. Мышечная гипотония и слабость; атаксия. Дефицит гормонов щитовидной и паращитовидной желез. Гипогадизм, сахарный диабет, нарушение адrenaлового обмена.	Повышение лактата, пирувата, 3-гидроксибутирата в крови. Повышение содержания белка в спинномозговой жидкости > 1 г/л. Плоская сахарная кривая, транзиторная гипогликемия. Феномен RRF. Обнаружение крупной делеции мтДНК.

Продолжение таблицы

Этиология. Сроки манифестации	Патогенез	Клинические проявления	Диагностика
Синдром Пирсона — Pearson (Marrow-Pancreas) syndrome			
Крупные делеции в мтДНК, преимущественно, локализованных в митохондриях клеток костного мозга. Клинические признаки проявляются уже у новорожденных	Нарушение окислительного фосфорилирования. Поражение красного костного мозга	Бледность, вялость, сонливость. Анемия с нейтропенией и тромбоцитопенией. Отставание в развитии. Нарушение функций поджелудочной железы. Диарея	Обнаружение крупной делеции мтДНК в лейкоцитах, тромбоцитах. Вакуолизация эритроцитов, гемосидероз, сидеробластоз. Макроцитарная анемия, нейтропения, тромбоцитопения. На поздних стадиях — феномен RRF.
Синдром MERRF (Myoclonic epilepsy associated with «ragged red fibres»)			
Точковые мутации мтДНК в гене, кодирующем тРНК лизина A8344G, на долю которой приходится свыше 80 % случаев. Манифестирует после 3-х лет	Нарушается синтез митохондриальных белков, в частности субъединиц цитохромоксидазы. Для фенотипического проявления необходим уровень гетероплазмии 80–95 %	Миоклонус-эпилепсия, миопатия, атаксия, демелляция, нейросенсорная тугоухость. Церебральные инфаркты. Нарушение сердечного ритма и проводимости. Низкий рост, задержка физического развития.	КТ головного мозга — диффузная атрофия мозга, деструкция белого вещества, снижение плотности мозговой ткани, иногда кальцификация базальных ганглиев. Повышение уровня лактата и пирувата в крови, белка — в спинномозговой жидкости. Недостаточность цитохром С-оксидазы. В биоптатах скелетных мышц — феномен RRF. Митохондрии увеличены, деформированы, содержат липидные включения

Продолжение таблицы

Этиология. Сроки манифестации	Патогенез	Клинические проявления	Диагностика
<p>Болезнь Лебера (LHON — Leber hereditary optic neuropathy) — врожденная нейропатия глазного нерва</p> <p>Наиболее частая причина — мутация в нуклеотиде 11778 мтДНК. Нуклеотид находится в пределах гена, кодирующего ND4 I комплекса респираторной цепи. Манифестирует в 12–30 лет</p>	<p>Нарушение окислительного фосфорилирования вследствие мутации генов, кодирующих субъединицы НАДН-дегидрогеназы. Дефекты дыхательной цепи проявляются поражением органов и тканей с высоким уровнем метаболизма</p>	<p>Острая двухсторонняя прогрессирующая потеря центрального зрения, двухсторонняя атрофия зрительного нерва. Иногда расстройство сердечной проводимости. Тремор, атаксия, дизартрия, спастичность.</p>	<p>Для подтверждения диагноза проводят молекулярно-генетические исследования.</p>
Синдром NARP (neuropathy, ataxia and pigmentary retinopathy)			
<p>Точковые мутации мтДНК гена АТР-азы 6 V комплекса респираторной цепи. Возраст манифестации — вариабельный</p>	<p>Нарушение окислительного фосфорилирования.</p>	<p>Проксимальная мышечная слабость, атаксия, задержка психического развития, деменция. Генерализованные судороги, нарушение чувствительности. Пигментный ретинит.</p>	
Синдром множественных делеций			
<p>Наследуется наиболее часто по аутосомно-доминантному типу. Ген, кодирующий фермент АНТ 1. Манифестирует в 20–30 лет.</p>	<p>Снижение концентрации фермента АНТ 1 приводит к нарушению метаболизма аденина и процессов репликации</p>	<p>Проявления очень полиморфны, характеризуются вовлечением многих органов и систем организма (нервной, эндокринной, мышечной, глаз и др.). Наиболее часто наблюдаются наружная офтальмоплегия, генерализованная миопатия, периферическая полинейропатия, поражение слуховых и зрительных нервов, катаракта, задержка роста, гипопаратиреоз.</p>	<p>Лактат-ацидоз. В биоптатах скелетных мышц — феномен RRF.</p>

Продолжение таблицы

Этиология. Сроки манифестации	Патогенез	Клинические проявления	Диагностика
<p>Аутосомно-рецессивный тип наследования. Мутацией является экспансия GAA тринуклеотидных повторов (200-900) в гене фратаксина (9q13). Клинические симптомы проявляются в 6–9 лет и 12–15 лет</p>	<p>Атаксия Фридрейха (Friedreich's ataxia)</p> <p>Экспансия GAA тринуклеотидных повторов нарушает продукцию или стабильность мРНК фратаксина. Функция фратаксина — транспорт железа из митохондрий. Патология характеризуется накоплением железа внутри митохондрий, что приводит к увеличению свободных радикалов и оксидантному стрессу</p>	<p>Атаксия при ходьбе, дискоординация в руках, изменение почерка, слабость в ногах. В начале заболевания может отмечаться дизартрия. Неврологическая дегенерация поражает спино-целлебулярные и пирамидные тракты, дорсальные столбы, мозжечок и продолговатый мозг. Поражение глаз включает нистагм, парез взора, аномальную фиксацию. Сколиоз, диабет. Кардиомиопатия носит, преимущественно, гипертрофический характер и возникает как следствие оксидантного стресса. Атрофия зрительного нерва — у 25 % пациентов. Потеря зрения наиболее характерна для пациентов с экспансией GAA повторов на одном аллеле и точковой мутацией на втором.</p>	<p>Определение мутантных триплетных повторов фратаксина. Ранним и важным дифференциально-диагностическим признаком является исчезновение сухожильных и надкостничных рефлексов. Угнетение рефлексов (ахилловых и коленных) может быть самым ранним проявлением неврологической дисфункции.</p>
<p>Синдром Вольфрама (Wolfram syndrome, DIDMOAD)</p> <p>Большинство случаев связано с WFS1 геном на хромосоме 4p16.1 яДНК. Некоторые — с мутациями митохондриального генома. Манифестирует с 4–6 лет</p>	<p>Нарушение структуры белка wolframin.</p>	<p>Начинается с ювенильного сахарный диабет в сочетании с атрофией зрительных нервов. В последующем развивается несахарный диабет и тугоухость. Заболевание носит прогрессирующий характер. У половины пациентов присоединяется неврологическая симптоматика: миоклонус, судороги, атаксия, дизартрия, нистагм. Иногда развивается ретинит, сидеробластическая анемия, нейтропения, тромбоцитопения</p>	<p>Синдром Вольфрама (Wolfram syndrome, DIDMOAD — diabetes insipidus, diabetes mellitus, optic atrophy, deafness)</p>

Продолжение таблицы

Этиология. Сроки манифестации	Патогенез	Клинические проявления	Диагностика
Синдром Альперса (Alpers-Huttenlocher syndrom)			
Мутации ядерного гена POLG1, кодирующего митохондриальную полимеразу 2–4 год	Нарушение репликации мтДНК, истощение мтДНК	Прогрессирующая дегенерация нейронов, судороги и миоклонии. Задержкой психо-физического развития, мышечная гипотония, спастические парезы, гиперрефлексия, атаксия. Возможны эпизоды рвоты, снижение зрения и слуха. Часто развиваются гепатомегалия, желтуха, цирроз печени	
Митохондриальные заболевания, обусловленные нарушениями цикла Кребса (фумаровая ацидурия, α-кетоглутаровая ацидурия)			
Дефицит фумаразы, α-кетоглутаратдегидрогеназного комплекса, сукцинатдегидрогеназы и аконитазы. 2 недели — 1-й год жизни	Нарушения ЦТК, несовместимые с жизнью	Тяжелая прогрессирующая энцефалопатия, микроцефалия, судороги, нарушение мышечного тонуса. Нарушения физического и психомоторного развития, рвота, сонливость, повышенная расторможенность. Снижение сухожильных рефлексов, опистотонус. Увеличение печени. Микроцефалия. Судороги	Умеренный метаболический ацидоз, увеличение уровня лактата в крови. Высокая почечная экскреция соответствующих метаболитов цикла Кребса. В фибробластах и миоцитах — резкое снижение активности соответствующего фермента
Синдром Лея (Lu) — Leigh syndrome (infantile subacute necrotizing encephalopathy) — инфантильная подострая некротизирующая энцефалопатия			
Точечные мутации мтДНК T893C или T8893G; либо ядерные мутации или других генов OXPHOS). 1–2 года	Дефект транспорта электронов в дыхательной цепи	Задержка психомоторного развития, снижение аппетита, эпизоды рвоты, дефицит массы тела. Мышечная гипотония или дистония с переходом в тонико-клонические судороги. Нарушается акт глотания. Нередко наблюдается птоз, офтальмоплегия, атрофия зрительных нервов, реже пигментная дегенерация сетчатки. Смерть может наступить от прогрессирующей энцефалопатии	В скелетных мышцах — накопление липидных включений, снижение гистохимической реакции на комп-лекссы 1, 4 дыхательной цепи, субсарколеммальные скопления митохондрий, аномальные митохондрии с дезорганизованной крист

Продолжение таблицы

<p>Этиология. Сроки манифестации</p>	<p>Патогенез</p>	<p>Клинические проявления</p>	<p>Диагностика</p>
<p>Недостаточность SCAD, MCAD, LCAD, VLCAD, LCHAD. Манифестирует в раннем возрасте</p>	<p>Нарушение трансмембранного переноса жирных кислот, митохондриального β-окисления. Истощение углеводных запасов при метаболическом стрессе (инфекционные болезни, физическая, эмоциональная перегрузка, голодание) является фактором риска. Липиды становятся источником восполнения энергетических потребностей. Активируются дефертные процессы окисления, накопление в биологических жидкостях дикарбоновых кислот, их токсичных производных, конъюгатов карнитина — развивается вторичная карнитиновая недостаточность</p>	<p>Заблевание характеризуются приступообразным течением. Существуют тяжелая (ранняя, генерализованная) и легкая (поздняя, мышечная) формы, отличающиеся разной степенью ферментного дефицита или его тканевой локализацией. Тяжелая форма манифестирует в раннем возрасте, в т. ч. в периоде новорожденности. Проявляется рвотой, генерализованными тонико-клоническими судорогами, прогрессирующей вялостью, сонливостью, общей мышечной гипотонией, нарушением сознания вплоть до комы, расстройством сердечной деятельности (нарушение ритма или кардиомиопатия), увеличение печени (синдром Рея). Легкая форма впервые проявляется в школьном возрасте и у подростков. Развиваются боли в мышцах, слабость, утомляемость, моторная неловкость, темная окраска мочи (миоглобинурия)</p>	<p>Гипокетотическая гипогликемия, метаболический ацидоз, увеличение в крови молочной кислоты, аммиака, повышение активности трансаминаз и креатинфосфокиназы. Низкий уровень общего карнитина при увеличенном содержании его эстерифицированных форм. В моче высокая экскреция дикарбоновых кислот с соответствующей длиной углеродной цепи, их гидроксиглицированных производных и ацилкарнитин.</p> <p>Дифференциальную диагностику проводят с митохондриальными энцефаломиопатиями, органическими ацидемиями, кардиомиопатиями другого происхождения, эпилепсией, ацетонемической рвотой</p>

Окончание таблицы

Этиология. Сроки манифестации	Патогенез	Клинические проявления	Диагностика
Синдром Люффа (Luft disease) — гиперметаболизм негликоидного происхождения			
Мутации в генах, кодирующих белки ЭТЦ. Тип наследования не выяснен. 6–30 лет	Разобщение окисления и фосфорилирования, энергия расщевляется в форме тепла	Общая слабость, мышечное истощение, чрезмерное потоотделение, высокая калорийность питания без увеличения веса тела, полидипсия без полиурии, полифагия, повышение общего обмена веществ, при нормальной концентрации гормонов щитовидной железы (Т3 и Т4). Отдышка, тахикардия, лихорадка (до 38,4 °С), непереносимость высокой температуры окружающей среды, феномен RRF	

ЛИТЕРАТУРА

1. Наследственные атаксии и параплегии / С. Н. Иллариошкин [и др.]. — М.: МЕДпресс-информ, 2006. — 416 с.
2. *Иллариошкин, С. Н.* Алгоритм диагностики митохондриальных энцефаломиопатий / С. Н. Иллариошкин // *Атмосфера. Нервные болезни.* — 2007. — № 3. — С. 23–27.
3. *Поздняков, О. М.* Митохондриальные цитопатии / О. М. Поздняков, Л. Л. Бабакова, Б. М. Гехт // *Журн. неврол. и психиат.* — 2007. — № 2, Т. 107. — С. 64–69.
4. *Гехт, Б. М.* Нервно-мышечные болезни / Б. М. Гехт, Н. А. Ильина. — М.: Медицина, 1982. — 352 с.
5. Митохондриальный геном и митохондриальные болезни человека / И. Р. Сукерник [и др.] // *Генетика.* — 2002. — № 4, Т. 38. — С. 1–10.
6. Митохондриальный геном и митохондриальные заболевания человека / О. Мазунин [и др.] // *Молекулярная биология.* — 2010. — № 5, Т. 44. — С. 755–772.
7. *Грицук, А. И.* Митохондрии в патологии: итоги Всероссийского рабочего совещания / А. И. Грицук, А. И. Вернер, Т. Г. Матюхина // *Здравоохранение.* — 2002. — № 5. — С. 56–59.
8. *Зайчик, А. Ш.* Общая патофизиология с основами иммунологии / А. Ш. Зайчик. — 4-е изд. — СПб.: ЭЛБИ-СПб, 2008. — 656 с.
9. *Генетика: учеб. для вузов / под. ред. В. И. Иванова.* — М.: Академкнига, 2006. — 368 с.
10. Основные методы лечения детей, страдающих митохондриальными заболеваниями: метод. указ. / И. В. Леонтьева [и др.]. — М.: МНИИ педиатрии и детской хирургии МЗ РФ, 2001. — 35 с.
11. Диагностика и лечение митохондриальных дисфункций при кардиомиопатиях у детей: пособие для врачей / Л. З. Казанцева [и др.]. — М.: МНИИ педиатрии и детской хирургии, 2001. — 24 с.
12. *Патофизиология: учеб. / под ред. В. В. Новицкого, Е. Д. Гольдберг, О. И. Уразова.* — 4-е изд. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. — Т. 2. — 629 с.
13. Инсультоподобное течение митохондриальной энцефаломиопатии (синдром MELAS) / И. Н. Смирнова [и др.] // *Атмосфера. Нервные болезни.* — 2006. — № 1. — С. 43–48.
14. Molecular diagnosis of Alpers syndrome / V. Khue [et al.] // *Journal of Hepatology.* — 2006. — Vol. 2. — P. 108–116.
15. Infantile hepatocerebral syndromes associated with mutations in the mitochondrial DNA polymerase-gA / G. Ferrari [et al.] // *Brain.* — 2005. — Vol. 128. — P. 723–731.
16. The mitochondrial genom in Wolfram syndrome / C. Hardy [et al.] // *Med Genet.* — 2000. — Vol. 37. — P. 463–466.

17. Митохондриальные болезни / Ю. А. Князев [и др.] // Вести РАМН. — 2000. — № 7. — С. 46–50.
18. Генетическая паспортизация населения — новая технология диагностики в медицине / В. Е. Третьякова [и др.] // Поликлиника. — 2008. — № 2. — С.10–12.
19. *Ahmadian, A.* Pyrosequencing: history, biochemistry and future / A. Ahmadian, M. Ehh, S. Hober // *Clinica Chimica Acta*. — 2006. — Vol. 336. — P. 83–94.
20. Rapid quantification of the heteroplasmy of mutant mitochondrial DNAs in Leber's hereditary optic neuropathy using the Invader technology / Y. Mashima [et al.]. — 2003. — Vol. 37. — P. 268–276.

Учебное издание

**Угольник Татьяна Станиславовна
Манаенкова Ирина Валерьевна**

**НАСЛЕДСТВЕННЫЕ
МИТОХОНДРИАЛЬНЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ**

**Учебно-методическое пособие
для студентов 3 курса медико-диагностического факультета
медицинских вузов**

**Редактор *О. В. Кухарева*
Компьютерная верстка *С. Н. Козлович***

Подписано в печать 06.06.2012.

Формат 60×84¹/₁₆. Бумага офсетная 65 г/м². Гарнитура «Таймс».
Усл. печ. л. 1,63. Уч.-изд. л. 1,78. Тираж 70 экз. Заказ 163.

Издатель и полиграфическое исполнение
Учреждение образования
«Гомельский государственный медицинский университет»
ЛП № 02330/0549419 от 08.04.2009.
Ул. Ланге, 5, 246000, Гомель.

