

Недостаточность митохондриальной деоксигуанозинкиназы

А.В.Дегтярева^{1,2}, Е.Ю.Захарова³, П.Г.Цыганкова³, Е.В.Чеглецова², С.В.Готье⁴, О.М.Цирульникова⁴

¹Российский государственный медицинский университет, кафедра неонатологии ФУВ, Москва (зав. кафедрой – акад. РАМН, проф. Н.Н.Володин);

²Российский государственный медицинский университет, кафедра детских болезней №2, Москва (зав. кафедрой – проф. Ю.Г.Мухина);

³Лаборатория наследственных болезней обмена веществ Медико-генетического научного центра РАМН, Москва (зав. лабораторией – д.м.н. Е.Ю. Захарова);

⁴Отдел трансплантации органов РНЦХ им. акад. Б.В.Петровского РАМН, Москва (зав. отделением – проф. С.В.Готье)

В статье представлен клинический случай редкого наследственного заболевания – недостаточности митохондриальной деоксигуанозинкиназы, подтвержденного лабораторно в России. Синдром истощения митохондриальной ДНК, связанный с дефицитом деоксигуанозинкиназы, характеризуется тканеспецифичным истощением мтДНК и снижением активности комплексов дыхательной цепи митохондрий, многие субъединицы которых кодируются мтДНК. Заболевание характеризуется необратимым поражением печени и головного мозга и является абсолютным противопоказанием к проведению трансплантации печени. Ранними признаками митохондриальных нарушений являются стойкий лактатацидоз и повышение уровня метионина в крови. Диагностика данной болезни имеет большое значение для медико-генетического консультирования семьи и позволяет избежать неоправданного выполнения трансплантации печени.

Ключевые слова: митохондриальные нарушения, недостаточность деоксигуанозинкиназы, синдром холестаза, цирроз печени, лактат-ацидоз

Mitochondrial deoxyguanosine kinase deficiency

A.V.Degtyareva^{1,2}, E.Yu.Zakharova³, P.G.Tsygankova³, E.V.Chegletsova², S.V.Gotye⁴, O.M.Tsyrunnikova⁴

¹Russian State Medical University, Department of Neonatology of Doctors Improvement Faculty, Moscow (Head of the Department – Acad. of RAMS, Prof. N.N.Volodin);

²Russian State Medical University, Department of Child Diseases No 2, Moscow (Head of the Department – Prof. Yu.G.Mukhina);

³Laboratory of Inherited Diseases of Metabolism of Medical and Genetic Scientific Center of RAMS, Moscow (Head of the Laboratory – MD E.Yu.Zakharova);

⁴B.V.Petrovskiy Russian Scientific Center of Surgery, Department of Organs Transplantation of RAMS, Moscow (Head of the Department – Prof. S.V.Gotye)

This article presents case report of rare inherited disorder – mitochondrial deoxyguanosine kinase (dGK) deficiency, which has been confirmed by genetic test in Russia. Deficiency in dGK activity, due to genetic alteration, has been shown to cause tissue-specific depletion of mtDNA and reduce activity of mitochondrial respiratory chain enzymes. Irreversible liver and brain alterations are typical for the disease and are absolute contraindication for liver transplantation. Earlier symptoms are permanent hyperlactacidaemia and high serum methionine concentration. It is very important to confirm the disease for family consulting and to prevent ineffective liver transplantation.

Key words: mitochondrial disorders, deoxyguanosine kinase deficiency, cholestasis, cirrhosis, lactatacidosis

Научный прогресс в области клинической и молекулярной генетики позволил выделить из ранее не дифференцированных состояний обширную группу «новых» болезней детского возраста, связанных с изменениями структуры и функции внутриклеточных образований – лизосом, мито-

хондрий, пероксисом. Перед клиницистами открылся новый класс заболеваний – болезни клеточных органелл. Это тяжелые заболевания, характеризующиеся резким отставанием детей в развитии, патологическими изменениями различных органов и систем, в совокупности занимающие существенное место среди причин инвалидности и смертности детского возраста [1]. Многолетние исследования патологии лизосом привели к значительному расширению научных знаний о природе, методах диагностики и лечения лизосомных болезней. Вместе с тем заболевания, обусловленные патологией митохондрий и пероксисом, остаются не до конца изученными.

Для корреспонденции:

Дегтярева Анна Владимировна, доктор медицинских наук, доцент кафедры неонатологии ФУВ Российского государственного медицинского университета

Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1

Телефон: (495) 254-0523

E-mail: annadim@yahoo.com

Статья поступила 28.05.2008 г., принята к печати 19.11.2008 г.

Митохондриальные болезни – это генетически гетерогенные заболевания, обусловленные нарушениями дыхательной цепи митохондрий. В настоящее время известно около 50 таких болезней [2]. Одна из групп митохондриальных болезней связана с нарушениями межгеномного взаимодействия. При этой патологии мутации в ядерных генах приводят к вторичным нарушениям митохондриальной ДНК (мтДНК) (множественным делециям и истощению) [3–5]. Наиболее известны 3 клинические формы (мышечная, гепатоцеребральная и энцефаломиопатическая) нарушения межгеномного взаимодействия у детей, в основе которых лежат дефекты пяти различных генов [4–8].

Мышечная форма связана с повреждением гена, ответственного за синтез митохондриальной тимидинкиназы (TK2). При мутациях гена митохондриальной деоксигуанозинкиназы (DGUOK), полимеразы гамма (POLG) и гена *MPV17* происходит поражение печени и головного мозга (гепатоцеребральная форма) [8, 9]. Дефект в гене сукцинил-КоА-синтетазы (*SUCLA2*) приводит к развитию энцефаломиопатической формы заболевания [10].

В литературе описано более 100 наблюдений синдрома истощения мтДНК. Синдром истощения митохондриальной ДНК – клинически (фенотипически) разнообразная группа нарушений, характеризующаяся выраженным снижением количества копий мтДНК в одной или нескольких тканях. Синдром истощения митохондриальной ДНК, связанный с дефицитом деоксигуанозинкиназы, – редкое нарушение. Эта патология характеризуется тканеспецифичным истощением мтДНК и снижением активности комплексов дыхательной цепи митохондрий, многие субъединицы которых кодируются мтДНК. Поскольку митохондрии нуждаются в собственном пуле деоксигуанозин – трифосфатов, необходимых для синтеза мтДНК, эти соединения должны быть транспортированы из цитозоля или синтезированы непосредственно в митохондриях в реакциях реутилизации азотистых оснований («синтез сбережения»). DGUOK и TK2 – два фермента, которые участвуют в первой, скоростylimитирующей реакции этого синтетического пути (реакции фосфорилирования дезоксинуклеозидов в соответствующие нуклеотиды). При дефектах этих ферментов соответственно нарушается процесс синтеза мтДНК в митохондриях [2, 11–14].

У большинства пациентов заболевание проявляется в первые недели жизни в виде изменений со стороны гепатобилиарной системы и нарушений ЦНС. Практически у всех отмечаются обильные срыгивания и рвоты, плоская весовая кривая, диффузная мышечная гипотония, желтуха и гепатомегалия. Патогномоничными признаками болезни являются стойкая гипогликемия, метаболический ацидоз и повышение уровня лактата в крови. На ранних сроках болезни характерно повышение биохимических маркеров холестаза и трансаминаз. В дальнейшем отмечается постепенное формирование билиарного цирроза с соответствующими клиническими проявлениями: нарушением синтетической функции печени (снижение альбумина, протромбинового индекса, фибриногена, холинэстеразы и др.), развитием портальной гипертензии (асцит, варикозное расширение вен пищевода) [2, 11, 12, 14–16]. При морфологическом исследовании биоптата печени отмечаются жировая дегенерация, явления холестаза, пролиферация желчных протоков, нарушение печеночной архитектоники и



Рисунок. Ребенок С. в возрасте 7,5 мес.

фибротические изменения с постепенным формированием ложных долек, т.е. цирроза печени [11, 17, 18].

В неврологическом статусе пациента отмечаются раннее появление и прогрессирование мышечной гипотонии, появление нистагма, как правило, крупноразмашистого, грубая задержка психомоторного развития и мультифокальные судороги. В основе неврологических нарушений лежат дегенеративные изменения в коре и серых структурах головного мозга, постепенно приводящие к тотальной атрофии [9, 11, 14–16]. Непосредственной причиной смерти больного могут стать неврологические нарушения или осложнения билиарного цирроза.

В качестве иллюстрации приводим историю болезни ребенка С. (рисунок).

Ребенок родился от родственного брака (родители троюродные брат и сестра), 2-й беременности, протекавшей с угрозой прерывания в первом триместре, гестозом во второй половине беременности (повышение АД, отеки, анемия), инфекцией мочевыводящих путей на 38 нед., вторых срочных родов (первые роды в 1994 г. – двойня, дети здоровы). Соматический анамнез родителей неотягощен. Вес при рождении – 3790 г, длина – 54 см, оценка по шкале Апгар – 6/7 баллов. В раннем неонатальном периоде отмечалось появление желтухи к концу первых суток жизни и рвоты «кофейной гущей» и постинъекционной кровоточивости на 5-е сутки. На 14-й день жизни описаны гепатомегалия с диффузными изменениями паренхимы при УЗИ, гидроцефальный синдром в стадии субкомпенсации. Выявленные изменения расценены как проявления внутриутробной ЦМВ инфекции, проведено специфическое лечение без эффекта. В дальнейшем отмечалось отставание ребенка в физическом развитии и постепенное формирование билиарного цирроза к возрасту 6 месяцев. В нервно-психическом

развитии отмечено появление кратковременной фиксации взгляда, а затем ее утрата, неоднократно описана выраженная диффузная мышечная гипотония, попытка формирования поворотов с последующей утратой навыка, угасание рефлексов новорожденных без формирования установочных и выпрямительных реакций. В возрасте двух месяцев появился грубый горизонтальный нистагм и расходящееся косоглазие, усилились проявления диффузной мышечной гипотонии.

В возрасте 7 мес ребенок поступил в отделение трансплантации печени ГУ РНЦХ им. акад. Б.В.Петровского РАМН для обследования и определения возможности проведения оперативного лечения. При поступлении вес ребенка – 5 кг, рост – 63 см, что соответствовало постнатальной гипотрофии III степени. Кожные покровы и склеры иктеричные, усилен сосудистый рисунок на груди и животе. Сердечно-легочная деятельность удовлетворительная. Живот увеличен в объеме за счет скопления жидкости в брюшной полости, печень +4 см, плотная, селезенка +6 см, плотная, стул окрашенный, диурез в норме. При обследовании выявлена гипербилирубинемия за счет прямой фракции (общий – 451,2 мкмоль/л, прямой – 310,7 мкмоль/л), выраженный синдром цитолиза (АЛТ – 895 ед/л, АСТ – 2108 ед/л при норме до 40 ед/л), повышение маркеров холестаза (ГГТ – 67 ед/л, норма – до 32 ед/л, ЩФ – 1781 ед/л, норма – до 150 ед/л), снижение показателей, отражающих синтетическую функцию печени (альбумин – 28 г/л, ПТИ – 45%, фибриноген – 0,67 г/л). При УЗИ отмечались признаки портальной гипертензии (увеличение диаметра портальной вены – PV = 0,6 см, реканализация околопупочной вены, значительное количество жидкости в брюшной полости), при ФЭГДС – варикозное расширение вен пищевода III степени. Отмечались явления гиперспленизма (анемия (Hb – 99 г/л), тромбоцитопения – 128 тыс). При оценке кислотно-щелочного состояния крови выявлены признаки метаболического ацидоза (BE – 10,5) и значительное повышение уровня лактата (7,9 при норме до 1,5). Также отмечалось снижение уровня сахара в крови (0,5–1,2 мкМ/л). Маркеры вирусных гепатитов (С, В) отрицательные. В неврологическом статусе выраженная задержка темпов психомоторного развития, диффузная мышечная гипотония, гипорефлексия. Сухожильные рефлексy с нижних конечностей отсутствовали. Очаговая симптоматика в виде горизонтального нистагма с ротаторным компонентом, расходящееся косоглазие. При осмотре отмечены эпизоды девиации глаз вправо, вниз с тоническим компонентом.

При обследовании других органов выявлены умеренные изменения сердца при Эхо-КГ (небольшая дилатация правого предсердия, трикуспидальная недостаточность I степени). ЭКГ свидетельствовала о синусовом ритме. ЭОС отклонена вправо, признаки повышения электрической активности правого желудочка. Рентген органов грудной клетки без патологии. Функциональное состояние мочевыделительной системы в пределах нормы.

На основании проведенного обследования выявлены признаки билиарного цирроза печени с нарушением синтетической функции и портальной гипертензией, тяжелые неврологические отклонения, а также гипогликемия, гиперлактатемия и метаболический ацидоз. Данный симптомокомплекс расценен как проявление метаболического нарушения, с целью уточнения генеза которого проведено дополнительное обследование, включающее спектр аминокислот и органи-

ческих кислот крови, обследование на галактоземию, уровень альфа-фетопротеина (АФП) в крови, КТ и МРТ головного мозга, офтальмологическое исследование. Наличие окрашенного стула и визуализация желчного пузыря при УЗИ позволили исключить билиарную атрезию, являющуюся наиболее частой причиной раннего цирроза печени.

При исследовании уровня аминокислот в крови отмечено значительное повышение метионина (515 мкМ/л при норме до 65 мкМ/л). Другие показатели, а также органические кислоты были в пределах нормы. Уровень АФП значительно повышен (18 769,82 нг/мл при норме до 15 нг/мл). Активность галактозо-1-фосфатуридилтрансферазы была в пределах нормы, что позволило исключить галактоземию.

При компьютерной томографии головного мозга патологии не выявлено. Магнитно-резонансная томография показала картину перивентрикулярной лейкомаляции, вторичного нерезкого расширения боковых желудочков на фоне задержанной миелинизации. Заключение окулиста включало расходящееся косоглазие, отсутствие фиксации взгляда, нистагм, ангиопатию сетчатки, высказано предположение о патологии проводящих зрительных путей.

Повышение уровня метионина в крови наряду с повышением АФП у ребенка с вышеописанным симптомокомплексом может быть обусловлено тирозинемией, для подтверждения которой определено содержание сукцинил ацетона в моче (уровень превышал норму). Однако при молекулярно-генетическом исследовании всей кодирующей последовательности гена FAN мутации выявлены не были, что явилось основанием предположить другое наследственное заболевание – гепатоцеребральную форму митохондриальных нарушений. В лаборатории наследственных болезней обмена веществ ГУ МГНЦ РАМН было проведено исследование гена POLG, мутации в котором описаны при синдроме Альперса, и гена DGUOK, мутации в котором обуславливают угнетение мтДНК. В гене POLG отклонений от нормы не обнаружено. В гене DGUOK обнаружена нонсенс-мутация с.313 C>T, приводящая к замене аминокислоты на стоп-кодон ARG105Stop в гомозиготном состоянии.

Недостаточность митохондриальной деоксигуанозинкиназы предполагает необратимые прогрессирующие изменения со стороны ЦНС, что является абсолютным противопоказанием к проведению трансплантации печени. Своевременная диагностика митохондриального нарушения в данном случае позволила избежать трансплантации, которая предполагала резекцию левого латерального сектора у здорового донора – отца ребенка.

Таблица 1. Динамика уровня билирубина, активности ферментов (АЛТ, АСТ, ГГТ) и показателей, отражающих синтетическую функцию печени у ребенка С.

Показатели	Норма	Возраст					
		7 мес 10 дн	7 мес 14 дн	7 мес 18 дн	7 мес 27 дн	8 мес 3 дня	8 мес 8 дн
О.Б, мкМ/л	до 17,1	451,2	528,6	557,2	521,9	652,6	913,7
П.Б, мкМ/л	до 3,4	310,7	359,7	346,7	321,9	377,4	479,1
АСТ, ед/л	до 40	2108	1166	1139	491	314	426
АЛТ, ед/л	до 40	895	601	595	248	192	204
Белок, г/л	54–87	56	54	52	53	53	64
Альбумин, г/л	38–56	28	31	30	28	32	30
ГГТ, ед/л	до 32	67	47	50	53	44	51
ПТИ, %	80–100	45	35	40	32	34	13
Фибриноген, г/л	2,5–3,5	0,67	0,97	1,4	0,8	0,65	0,52

Таблица 2. Динамика уровня глюкозы, ВЕ и лактата в крови у ребенка С.

Показатели	Норма	Возраст					
		7 мес 10 дн	7 мес 14 дн	7 мес 18 дн	7 мес 27 дн	8 мес 3 дня	8 мес 8 дн
Глюкоза, мм/л	3,3–6,1	0,5	1,7	3,0	1,5	2,5	0,9
ВЕ	±2	–10,6	–8,5	–10,8	–7,0	–3,9	–9,6
Лактат	до 1,5	7,9	4,2	10,2	12,5	13,2	7,5

За время пребывания в отделении, несмотря на проводимую интенсивную терапию, отмечалось нарастание печеночной недостаточности: повышение уровня билирубина, снижение трансаминаз, ГГТ, ПТИ и фибриногена (табл. 1). Некоторое повышение уровня альбумина в динамике было обусловлено постоянными инфузиями данного раствора. Сохранялись гипогликемия, несмотря на введение растворов глюкозы, гиперлактатемия и метаболический ацидоз (табл. 2). В неврологическом статусе отмечалось развитие адинамии с периодическим беспокойством, спутанности сознания. На 31-е сутки пребывания в стационаре ребенок умер. Непосредственной причиной смерти явилась остановка сердечно-легочной деятельности центрального генеза.

Заключение

В последние десятилетия благодаря современным возможностям молекулярной генетики описан целый ряд новых нозологических форм, что значительно расширяет наше понимание основ и патофизиологии многих заболеваний печени и ЦНС. Дефицит DGUOK является редким наследственным заболеванием из группы митохондриальных нарушений с неблагоприятным прогнозом. Основными органами-мишенями являются печень, поражение которой на ранних сроках включает синдром холестаза с постепенным формированием цирроза печени, и головной мозг, первым признаком патологии которого является диффузная мышечная гипотония с развитием в дальнейшем тотальной атрофии коры головного мозга. Митохондриальные нарушения характеризуются необратимым поражением мозга и, следовательно, служат абсолютным противопоказанием к проведению трансплантации печени. Диагностика данной болезни позволяет избежать неоправданного хирургического вмешательства и имеет важное значение для медико-генетического консультирования семьи. Это первый случай данного синдрома в России, подтвержденный лабораторными методами.

Литература

1. Вельтищев Ю.Е., Казанцева Л.З., Семьякина А.Н. Наследственные болезни обмена веществ. – В кн.: Наследственная патология человека / Под ред. Ю.Е.Вельтищева, Н.П.Бочкова. – М., 1992. – Т.1. – С.41–101.
2. Alberio S., Mineri R., Tiranti N. et al. Depletion of mtDNA: Syndromes and genes // *Mitochondrion*. – 2007. – V.7. – P.6–12.
3. Moraes C.T., Shanske S., Tritschler H.J. et al. mtDNA depletion with variable tissue expression: a novel genetic abnormality in mitochondrial diseases // *Am. J. Hum. Genet.* – 1991. – V.48. – P.492–501.
4. Tritschler H.J., Andreetta F., Moraes C.T. et al. Mitochondrial myopathy of childhood associated with depletion of mitochondrial DNA // *Neurology*. – 1992. – V.42. – P.209–217.
5. Vu T.H., Sciacco M., Tanji K. et al. Clinical manifestations of mitochondrial DNA depletion // *Neurology*. – 1998. – V.50. – P.1783–1790.

6. Ducluzeau P.H., Lachaux A., Bouvier R. et al. Depletion of mitochondrial DNA associated with infantile cholestasis and progressive liver fibrosis // *J. Hepatol.* – 1999. – V.30. – P.149–155.
7. Elpeleg O. Inherited mitochondrial DNA depletion // *Pediatr. Res.* – 2003. – V.54. – P.153–159.
8. Spinazzola A., Viscomi C., Fernandez-Vizarra E., Carrara F. MPV17 encodes an inner mitochondrial membrane protein and is mutated in infantile hepatic mitochondrial DNA depletion // *Nature Genet.* – 2006. – V.38. – P.570–575.
9. Mandel H., Szargel R., Labay V., Elpeleg O. The deoxyguanosine kinase gene is mutated in individuals with depleted hepatocerebral mitochondrial DNA // *Nature Genet.* – 2001. – V.29. – P.337–341.
10. Elpeleg O., Miller C., Hershkovitz E., Bitner G. Deficiency of the ADP-forming succinyl-CoA synthase activity is associated with encephalomyopathy and mitochondrial DNA depletion // *Am. J. Hum. Genet.* – 2005. – V.76. – P.1081–1086.
11. Labarthe F., Dobbelaere D., Devisme L. et al. Clinical, biochemical and morphological features of hepatocerebral syndrome with mitochondrial DNA depletion due to deoxyguanosine kinase deficiency // *J. Hepatol.* – 2006. – V.38. – P.333–341.
12. Salviati L., Sacconi S., Mancuso M. et al. Mitochondrial DNA depletion and dGK gene mutations // *Ann. Neurol.* – 2002. – V.52. – P.311–317.
13. Filosto M., Mancuso M., Tomelleri G. et al. Hepatocerebral syndrome: genetic and pathological studies in an infant with dGK mutation // *Acta Neuropathol. (Berl.)*. – 2004. – V.108. – P.168–171.
14. Rabinowitz S.S., Gelfond D., Chen C.K. et al. Hepatocerebral mitochondrial DNA depletion syndrome: clinical and morphological features of a nuclear gene mutation // *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* – 2004. – V.38. – P.216–220.
15. Muller-Hocker J., Muntau A., Schafer S. et al. Depletion of mitochondrial DNA in the liver of an infant with neonatal giant cell hepatitis // *Hum. Pathol.* – 2002. – V.33. – P.247–253.
16. Taanman J.W., Kateeb I., Muntau A.C. et al. A novel mutation in the deoxyguanosine kinase gene causing depletion of mitochondrial DNA // *Ann. Neurol.* – 2003. – V.52. – P.237–239.
17. Mandel H., Hartman C., Elpeleg O.N. et al. The hepatic mitochondrial DNA depletion syndrome: ultrastructural changes in liver biopsies // *Hepatology*. – 2001. – V.34. – P.776–784.
18. Bioulac-Sage P., Parrot-Roulaud F., Mazat J.P. et al. Fatal neonatal liver failure and mitochondrial cytopathy (oxidative phosphorylation deficiency): a light and electron microscopic study of the liver // *Hepatology*. – 1993. – V.18. – P.839–846.

Сведения об авторах:

Захарова Екатерина Юрьевна, кандидат медицинских наук, заведующая лабораторией наследственных болезней обмена веществ Медико-генетического научного центра РАМН

Адрес: 115478, Москва, ул. Москворечье, 1

Телефон: (495) 324-2004

E-mail: labnbo@med-gen.ru

Цыганкова Полина Георгиевна, лаборант-исследователь лаборатории наследственных болезней обмена веществ Медико-генетического научного центра РАМН

Адрес: 115478, Москва, ул. Москворечье, 1

Телефон: (495) 324-2004

E-mail: labnbo@med-gen.ru

Чеглецова Елена Владимировна, аспирант кафедры детских болезней №2 Российского государственного медицинского университета

Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1

Телефон: (495) 254-6762

E-mail: ch_alena@list.ru

Готье Сергей Владимирович, академик РАМН, доктор медицинских наук, заведующий отделом трансплантации органов Российского научного центра хирургии РАМН им. академика Б.В.Петровского

Адрес: 119991, Москва, Абрикосовский пер., 2

Телефон: (495) 248-5855

E-mail: gautier@list.ru

Цирульникова Ольга Мартеновна, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник отдела трансплантации органов Российского научного центра хирургии РАМН им. академика Б.В.Петровского

Адрес: 119991, Москва, Абрикосовский пер., 2

Телефон: (495) 248-5855