

## Современная диагностика митохондриальных болезней у детей

Е.А. Николаева, В.С. Сухоруков

### Current diagnosis of mitochondrial diseases in children

Е.А. Nikolayeva, V.S. Sukhorukov

Московский НИИ педиатрии и детской хирургии Росмедтехнологий

Дана характеристика заболеваний, сопровождающихся нарушениями клеточного энергообмена: первичных и вторичных митохондриальных болезней. Подчеркнута трудность разграничения этих патологических состояний у детей. На основании сведений литературы и собственных данных представлены современные критерии диагностики и дифференциальной диагностики митохондриальных заболеваний.

*Ключевые слова:* дети, митохондриальные болезни, критерии диагностики, дифференциальная диагностика.

The paper characterizes the diseases accompanied by impaired cell energy metabolism, such as primary and secondary mitochondrial diseases. It emphasizes difficulties in differentiating these pathological conditions in children. Based on the data available in the literature and their own findings, the authors present the current criteria for the diagnosis and differential diagnosis of mitochondrial diseases.

*Key words:* children, mitochondrial diseases, diagnostic criteria, differential diagnosis.

В последние десятилетия интенсивно развивается новая область медицины, занимающаяся изучением так называемых «митохондриальных болезней» [1–3]. Разработка и внедрение современных методов выявления расстройств, связанных с нарушениями клеточного энергообмена и тканевой гипоксией, показали, что эти нарушения не являются редкими. На основании накопленного опыта можно сделать вывод, что среди большой группы патологических состояний, сопровождающихся расстройствами клеточной биоэнергетики, следует выделять «первичные» митохондриальные заболевания и болезни с «вторичной» митохондриальной дисфункцией; кроме того, сформулировано понятие энергодифицитного диатеза как нормального конституционального варианта, характеризующегося относительно сниженным уровнем цитоэнергетики [4–11].

**Первичные митохондриальные болезни** – четко очерченный класс патологических состояний, обусловленных генетически детерминированными структурными и функциональными дефектами митохондрий, ведущими к недостаточности энергетической продукции клеток. В зависимости от ключевых обменных расстройств, лежащих в основе биоэнергетической недостаточности, среди ми-

тохондриальных болезнях выделяют нарушения обмена жирных кислот, пирувата, цикла Кребса, дефекты электронно-транспортной цепи митохондрий и окислительного фосфорилирования. Последняя группа особо выделяется выраженным клиническим полиморфизмом и генетической гетерогенностью в связи с тем, что структурные митохондриальные белки и ферментные комплексы дыхательной цепи отличаются двойным характером генетического кодирования – находятся под контролем и ядерной, и митохондриальной ДНК. Продемонстрирована достаточная распространенность указанных заболеваний, составляющая 1:5000–1:7000 новорожденных. Высказаны предположения, что не менее чем у 15% детей с неясной задержкой психомоторного развития и миопатией патология обусловлена дефектами электронно-транспортной цепи и окислительного фосфорилирования [11–14].

При большой группе заболеваний как эндогенного, так и экзогенного происхождения дисфункция митохондрий имеет **вторичный характер**, сопровождая основной патологический процесс. Наблюдающиеся при этом энергетические расстройства не являются непосредственным следствием ключевого дефекта, но, по-видимому, играют существенную роль в патогенезе. Примером подобных заболеваний служат цероидлипофузциноз, ганглиозидозы, мукополисахаридозы, ряд системных мозжечковых дегенераций, гепатолен-

© Е.А. Николаева, В.С. Сухоруков, 2007  
Ros Vestn Perinatol Pediat 2007;4: 11–21

Адрес для корреспонденции: 125412 Москва, ул. Талдомская, 2

тикулярная дегенерация, наследственные болезни соединительной ткани, туберозный склероз, некоторые эндокринные, аутоиммунные заболевания, болезни крови, нейродегенеративные болезни и др. Обращено внимание, что к митохондриальной дисфункции может приводить прием некоторых лекарственных средств (антибиотиков, цитостатиков), действие токсинов и т.п. [6–8, 15].

**Энергодефицитный диатез** представляет собой скрытую форму относительной индивидуальной недостаточности цитоэнергетического статуса организма, которая не проявляется в виде самостоятельного заболевания, но влияет на течение других болезней. Это состояние отражает генетически детерминированный уровень активности клеточного энергообмена и особенности его изменений в ответ на действующие факторы [9, 10].

В то же время диагностические технологии в этой области далеки от совершенства. Так, с одной стороны, выявление лабораторных признаков митохондриальной недостаточности у больных с различными заболеваниями зачастую приводит к гипердиагностике первичных митохондриальных болезней. С другой стороны, недостаточная надежность ряда ранее использовавшихся диагностических критериев чревата гиподиагностикой. Известны случаи нормального уровня лактата в крови, нормальной морфологической картины мышечного биоптата и даже нормальной активности ферментов дыхательной цепи у пациентов с подтвержденным диагнозом митохондриального заболевания [13, 16]. Таким образом, в последние годы особую актуальность приобрела проблема установления критериев диагностики первичных митохондриальных болезней дыхательной цепи у детей и дифференциальной диагностики с фенотипически сходными состояниями.

Для решения данных вопросов было предложено использовать основные и дополнительные диагностические критерии [17–19]. Их обобщенный анализ представлен в табл. 1. По мнению авторов, диагноз первичного митохондриального заболевания признается окончательно установленным при выявлении у ребенка двух основных критериев или одного основного и двух дополнительных. В случае определения у больного одного основного и одного дополнительного критериев или трех дополнительных диагнозов считается вероятным.

### **Клинические критерии диагностики митохондриальных болезней, обусловленных дефектами дыхательной цепи**

Общепризнано, что приоритетное значение имеет анализ клинических данных. Жизнеобеспечение разных тканей и органов зависит от митохондриальной активности в различной степени. В их ряду

на первом месте стоят нервные элементы, затем сердечная и скелетная мышечная ткань, почки, эндокринные железы и печень. В этой связи одной из наиболее характерных клинических особенностей митохондриальных заболеваний является полисистемность поражения. Причем вероятность включения в симптомокомплекс признаков повреждения той или иной системы прямо коррелирует с энергозависимостью последней.

К основным клиническим критериям отнесены фенотипические признаки, четко указывающие на определенную нозологическую форму митохондриального заболевания, такого как синдромы Кернса–Сейра, Пирсона, нейропатия Лебера, болезнь Лея и др. К основным критериям относится также комбинация клинических проявлений, характерных для митохондриальной патологии, при неприменном условии исключения других метаболических и прочих заболеваний. К дополнительным клиническим критериям отнесены менее специфические симптомы, встречающиеся и при болезнях дыхательной цепи, и при патологии иного происхождения.

Следует обратить внимание, что специфический фенотип, позволяющий относительно легко, на основании клинических данных, диагностировать один из классических митохондриальных синдромов встречается не часто – не более чем у 20% больных. Он характеризуется полисистемным поражением и довольно поздним появлением первой симптоматики (обычно не ранее 3–4-летнего возраста, а чаще – в более старшем возрасте). В родословной у многих таких пациентов можно проследить материнское наследование патологии. Однако в существенной части родословных заболеваний встречается спорадически.

Около 20% больных страдают митохондриальной миопатией, сочетающейся с кардиомиопатией.

Примерно у половины больных выявляется неспецифическое поражение преимущественно центральной нервной системы – неспецифическая (или неклассифицированная) митохондриальная энцефаломиопатия. Этот термин означает состояние, которое не укладывается в клиническую картину других классических нозологических форм митохондриальной патологии. Неспецифичность симптомокомплекса вызывает большие диагностические трудности. Для установления митохондриальной природы заболевания у пациентов с подобными клиническими проявлениями требуется использовать большой комплекс лабораторных методов. У детей раннего возраста данный клинический фенотип патологии получил наименование летального инфантильного заболевания (около 7% всех пациентов с митохондриальной патологией). Заболевание протекает очень тяжело и сопровождается 50% летальностью [16, 20, 21].

Таблица 1. Критерии диагностики митохондриальных заболеваний у детей (обобщенные данные по [17–19])

Критерии	Основные	Дополнительные
Клинические	1. Клинические признаки определенной нозологической формы митохондриального заболевания: болезни Лея, Альперса, синдромов Пирсона, Кернса–Сейра, MELAS, MERRF, NARP, MNGIE, нейропатии Лебера или 2. Комбинация признаков мультисистемного поражения, патогномоничных для болезней дыхательной цепи + прогрессирующее течение с эпизодами экзациеребрации или четкие указания на наличие мутации митохондриальной ДНК у родственника + исключение других заболеваний соответствующими исследованиями	Симптомы, встречающиеся при болезнях дыхательной цепи, в том числе мертворождение, смерть sibсов в неонатальном периоде, снижение внутриутробной двигательной активности, двигательные расстройства, нарушение развития, гипотония или гипертония в неонатальном периоде
Гистологические	RRF в мышечной ткани >2%	Небольшое количество RRF в мышечной ткани, субсарколеммальное накопление митохондрий или аномалии митохондрий, выявленные при электронной микроскопии
Энзиматические	1. Цитохромоксидаза – негативные волокна в мышечной ткани или 2. Снижение активности комплексов дыхательной цепи: <20% от нормы в ткани, <30% в клеточной линии или <30% в нескольких тканях	Низкая активность комплексов дыхательной цепи: 20–30% от нормы в ткани, 30–40% в клеточной линии или нескольких тканях
Функциональные	Снижение уровня синтеза АТФ фибробластами более чем на 3 стандартных отклонения	Снижение уровня синтеза АТФ фибробластами на 2–3 стандартных отклонения или отсутствие роста фибробластов в среде с галактозой
Молекулярные	Ядерная или митохондриальная мутация, не вызывающая сомнения в патогенетической значимости	Ядерная или митохондриальная мутация, возможно, имеющая патогенетическое значение
Метаболические		Выявление в биологических жидкостях одного или более метаболитов, указывающих на нарушение энергетического обмена

*Примечание.* MELAS – митохондриальная энцефаломиопатия, лактат-ацидоз, инсультоподобные эпизоды; MERRF – миоклонус-эпилепсия, «рваные» красные мышечные волокна; NARP – нейропатия, атаксия, пигментный ретинит; MNGIE – мионейрогастроинтестинальная энцефалопатия; RRF – «ragged» red fibres, «рваные» красные мышечные волокна.

Для сравнительного анализа диагностических характеристик неспецифических митохондриальных энцефалопатий и классических митохондриальных болезней нами был проведен анализ клинических проявлений у 64 детей, разделенных на две группы. В 1-ю группу вошли 29 больных с синдромами Кернса–Сейра (19 детей), MELAS (7) и MERRF (3), во 2-ю – 35 больных с неклассифицированной митохондриальной энцефаломиопатией. Тяжесть отдельных клинических признаков оценивали в баллах (от 1 до 4). Как показали результаты анализа, у детей с митохондриальными

синдромами тяжесть состояния определялась выраженностью снижения толерантности к физической нагрузке, миопатического синдрома, энцефалопатии, офтальмоплегии, поражения сердца. В значительной степени были выражены низкорослость, эндокринные и координаторные расстройства и др. (рис. 1, а). Причем была установлена достоверная корреляция степени тяжести поражения разных систем, а также клинических и лабораторных данных ( $r = 0,8; p < 0,05$ ).

У детей 2-й группы доминировали более узко очерченные признаки поражения центральной

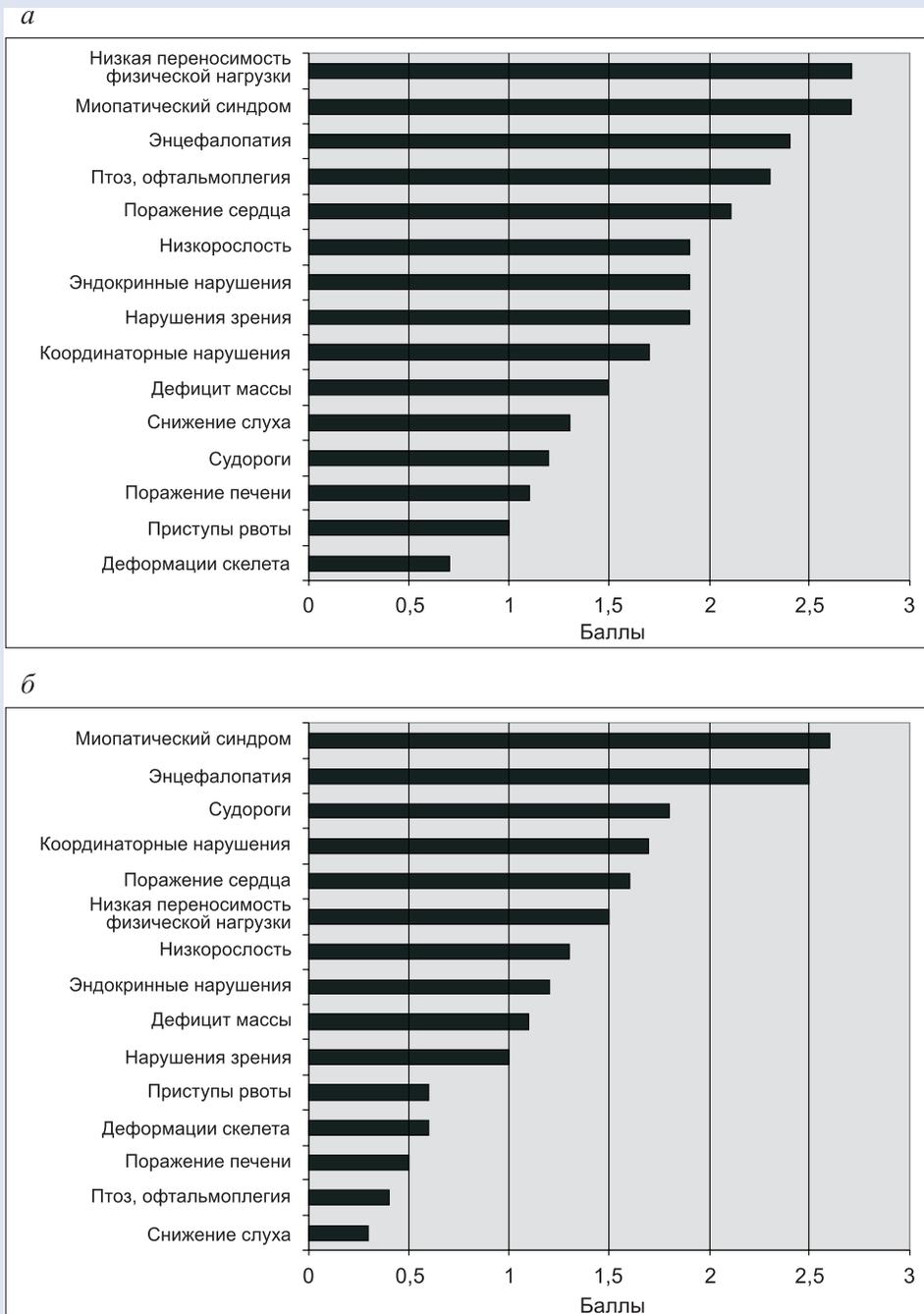


Рис. 1. Выраженность клинических признаков (в баллах) у детей с митохондриальными синдромами (а) и неклассифицированными митохондриальными энцефаломиопатиями (б).

нервной и нервно-мышечной систем: миопатический синдром, энцефалопатия, судороги, координаторные нарушения. Тяжесть других проявлений была существенно меньшей (рис. 1, б). Сравнение клинических данных показало, что дети с митохондриальными синдромами были достоверно старше ( $13,3 \pm 0,5$  года против  $8,4 \pm 0,6$  года;  $p < 0,001$ ). У них были значительно более выражены такие проявления, как низкая переносимость физической нагрузки, птоз, нарушение слуха и

зрения, эндокринные расстройства (табл. 2), т.е. более отчетливо определялась полиорганность поражения. Таким образом, неклассифицированные энцефаломиопатии представляют собой несколько иной, менее специфический вариант клинического фенотипа, по-видимому, более рано манифестирующий и с преимущественным вовлечением нервной и мышечной систем. Диагностика таких форм митохондриальной патологии вызывает затруднение.

## Выявление признаков митохондриальной недостаточности в различных тканях

*Гистологические и цитологические критерии диагностики митохондриальных болезней, обусловленных дефектами дыхательной цепи.*

Одним из оснований появления понятия «митохондриальные болезни» были успехи их морфологической диагностики, в первую очередь описание в 1963 г. (т.е. спустя год после первого описания митохондриального заболевания) [22–24] феномена RRF («ragged» red fibers, «рваных» или «шероховатых» красных волокон) – мозаично разбросанных скелетно-мышечных волокон с аномальными скоплениями митохондрий под сарколеммой и между миофибриллами. Выявление этого феномена считается одним из основных диагностических доказательств наличия первичных митохондриальных синдромов. Данные световой микроскопии подкрепляются электронно-микроскопическими описаниями изменений количества и ультраструктуры митохондрий, и морфологические методы занимают одно из ведущих мест в диагностике митохондриальных болезней. Их значимость тем более высока, что выявление митохондриальных изменений в скелетной мышце вовсе не обязательно свидетельствует о наличии только митохондриальной миопатии, а является тестом на существование общей полисистемной митохондриальной патологии.

В 90-е годы XX века значение морфологической диагностики, казалось, начало снижаться в связи с распространением методов молекулярно-генетической диагностики митохондриальных синдромов. Возник вопрос: не изжила ли себя связанная с относительно травматичной биопсией процедурой морфологическая диагностика митохондриальных болезней? Немалую роль в некотором снижении интереса к морфологической диагностике сыграло высказываемое многими исследователями мнение о том, что RRF являются прямым следствием мутаций митохондриальной ДНК [23, 25–27]. Тогда непосредственному выявлению таких мутаций молекулярными методами, конечно, должно было быть отдано предпочтение. Тем не менее в настоящее время очевидна относительно низкая диагностическая чувствительность молекулярно-генетических методов. При этом отрицательный ответ при поиске тех или иных мутаций вовсе не означает отсутствие других вариантов мутаций генов митохондриальных белков, да и известна на сегодняшний день лишь малая часть таких генов. С другой стороны, многие данные свидетельствуют, что пролиферация митохондрий, лежащая в основе образования RRF, отражает в большей степени компенсаторную реакцию в ответ на по-

лисистемную и гетерогенную митохондриальную недостаточность. Более того, эта пролиферация может представлять собой универсальный механизм адаптации тканей к функциональной недостаточности [28]. Тогда наличие RRF должно быть не равнозначно присутствию мутантной митохондриальной ДНК, а служит более широким относительно охвата клинических состояний тестовым показателем.

Принципиально отметить следующее: в большинстве источников соответствующей литературы, хотя и признается необходимость определения относительного количества RRF среди мышечных волокон, каждое такое «шероховатое» волокно однозначно воспринимается как качественный феномен. А ведь выраженность скоплений митохондрий в каждом таком образовании может быть совершенно разной. Мы уже давно применяем 4-балльную оценку степени выраженности отдельных RRF (1 балл – только умеренные субсарколеммальные скопления метки; 2 балла – умеренные субсарколеммальные и умеренные интермиофибрилярные скопления метки; 3 балла – грубые субсарколеммальные и умеренные интермиофибрилярные скопления метки; 4 балла – грубые субсарколеммальные и грубые интермиофибрилярные скопления метки) [29]. Кроме того, для обобщенной оценки морфологических проявлений митохондриальных нарушений нами предложен показатель – «митохондриальный индекс», включающий качественную и количественную оценку RRF, а также характеристику гистохимической активности митохондриальных ферментов в мышце. Все это оказалось существенным для дифференциальной диагностики митохондриальных нарушений (см. табл. 2). Следует заметить, что в зарубежных работах также постепенно приходят к необходимости более дифференцированного подхода к морфологии RRF. Так, часто последнему понятию противопоставляется термин «субсарколеммальные скопления митохондрий», который соответствует нашему представлению об RRF выраженностью в 1–2 балла.

Помимо прямой оценки митохондриальных функций с помощью гистохимического выявления активности митохондриальных ферментов в мышце, применение других возможностей гистохимического исследования позволяет оценить и косвенные проявления митохондриальной недостаточности. К последним относятся, в частности, накопления (особенно субсарколеммальные) гликогена и липидов – субстратов энергообмена, а также микроконгломератов солей кальция, отложение которых свидетельствует о митохондриальной недостаточности (одна из функций митохондрий – перераспределение излишков кальция

**Таблица 2. Сравнение выраженности клинических проявлений и морфологических нарушений (в баллах) у детей с митохондриальными синдромами и неклассифицированными энцефаломиопатиями**

Показатель	Митохондриальные синдромы	Неклассифицированные митохондриальные энцефаломиопатии	<i>p</i>
Низкая переносимость физической нагрузки	2,7	1,5	<0,003
Птоз	2,3	0,4	<0,001
Снижение слуха	1,3	0,3	<0,005
Нарушение зрения	1,9	1,0	<0,02
Эндокринные нарушения	1,9	1,2	<0,05
Выраженность RRF в мышечной ткани	2,2	1,1	<0,004
Конгломераты кальция, гликогена, липидов в мышечной ткани	1,5	0,8	<0,05
Ультраструктурные изменения митохондрий в мышечной ткани	2,1	1,3	0,05

в клетке). Наконец, чрезвычайно информативным является изучение ультраструктурных дефектов митохондрий с помощью электронного микроскопа.

Возвращаясь к двум вышеприведенным группам обследованных нами детей, следует отметить значение морфологической оценки мышечных биоптатов в дифференциальной диагностике митохондриальных заболеваний. Так, оказалось, что у больных с митохондриальными синдромами определяется более высокий процент RRF, чем в группе с недифференцированными митохондриальными энцефаломиопатиями ( $24,0 \pm 2,4$  против  $10,5 \pm 2,1$ ;  $p < 0,02$ ), более выражены другие гистологические признаки митохондриальной дисфункции (см. табл. 2), что подчеркивает различие данных клинических фенотипов.

Аналогичные структурно-функциональные изменения, в частности гетерогенные аномальные скопления митохондриальных конгломератов, выявлены нами и в других системах организма (гладкие мышцы, почки), что позволяет рассматривать их как объект прикладной диагностики и как возможную модель для биологических исследований клеточной энергетики [30, 31].

Сравнительная простота и малая травматичность взятия и обработки крови объясняет интерес к цитохимическому анализу активности митохондриальных ферментов лимфоцитов для диагностики полисистемных митохондриальных нарушений. Ранее в совместном с группой Р.П. Нарциссова исследовании этих показателей у больных с разными формами митохондриальной недостаточности нами была выявлена достоверная корреляция

параметров лимфоцитарных гранул и показателей митохондриальной недостаточности в скелетной мышце [32]. Таким образом, у многих больных с полисистемной митохондриальной недостаточностью диагностическая биопсия мышц может быть заменена цитохимическим анализом клеток периферической крови. Снижение количества гранул, как правило, соответствует относительно тяжелым полисистемным митохондриальным нарушениям, а повышение – более легким (вероятно, сопровождается компенсаторным увеличением количества митохондрий).

Количество гранул является ориентировочным, но не достаточным параметром. Получаемые нами данные свидетельствуют о клинической значимости как простого визуального подсчета гранул, так и компьютерного морфометрического анализа их различных параметров (рис. 2). При этом наиболее диагностически ценными являются препараты с выявленными гранулами сукцинатдегидрогеназы,  $\alpha$ -глицерофосфатдегидрогеназы, лактатдегидрогеназы. Для более точной дифференциальной диагностики нами совместно с нашими сотрудниками Н.В. Клейменовой, Т.В. Виноградовой, Е.В. Тозлиян и Е.И. Шабельниковой разработаны методы морфометрии цитохимических препаратов, позволяющие отличать, во-первых, проявления полисистемного энергодефицита от неспецифической реактивности митохондрий в лимфоцитах при иммуностимуляции, и, во-вторых, признаки «первичных» митохондриальных болезней от «вторичных» полисистемных изменений энергообмена.

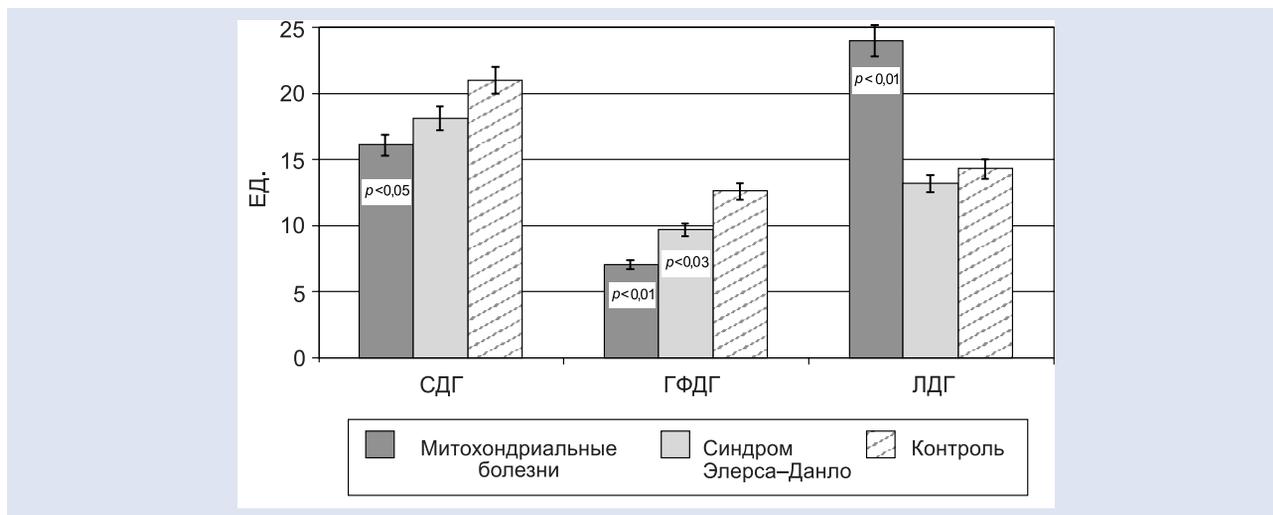


Рис. 2. Активность сукцинатдегидрогеназы (СДГ),  $\alpha$ -глицерофосфатдегидрогеназы (ГФДГ) и лактатдегидрогеназы (ЛДГ) в лимфоцитах у детей с митохондриальными заболеваниями и синдромом Элерса–Данло (цитохимический метод).

Комплексный цитохимический анализ является ценным диагностическим инструментом при подборе медикаментозного лечения и при оценке динамики митохондриальной недостаточности в процессе терапии. Чувствительность вышеупомянутых показателей позволяет уже вскоре после первого назначения препарата сделать вывод о его эффективности и прогнозировать результат лечения. Очевидно, что морфометрическая оценка изучаемых гранул при различных формах митохондриальной недостаточности также может иметь не только прикладное, но и общетеоретическое значение для изучения цитофизиологии клеточной энергетики.

*Энзиматические критерии диагностики митохондриальных болезней, обусловленных дефектами дыхательной цепи*

Следующая группа диагностических критериев включает показатели активности отдельных энзимных комплексов и электронно-транспортной цепи в целом. Выявление значительных нарушений, безусловно, входит в число основных критериев диагностики митохондриальных заболеваний. Тогда как умеренное снижение показателей относят к дополнительным критериям (см. табл. 1). Исследование проводят в мышцах, фибробластах, ткани печени.

По данным D. Thornburn, почти у половины пациентов с митохондриальными болезнями в тканях обнаруживается изолированный дефицит 1-го комплекса дыхательной цепи, приблизительно у  $1/3$  – комбинированный дефицит нескольких комплексов, у  $1/4$  – изолированный дефицит 4-го комплекса дыхательной цепи. Изолированная недостаточность 3-го комплекса и особенно 2-го комплекса дыхательной цепи встречается редко [33].

*Неинвазивная диагностика*

Стремление к совершенствованию исследований функционального статуса митохондрий заставляет рассматривать многие новые, в том числе неинвазивные способы диагностики. В качестве успешного примера можно привести методы транскутанного мониторинга  $pO_2$  и  $pCO_2$ . Соотношение этих показателей хорошо характеризует митохондриальную активность в различных тканевых компонентах кожи и подкожного жирового слоя. Нами получены данные о возможности эффективного слежения за состоянием полисистемного статуса тканевого энергообмена с помощью транскутанных мониторов (фирма «Радиометр», Дания). При этом можно оценивать степень полисистемной митохондриальной недостаточности, выявлять детей с энергодефицитным диатезом, оценивать эффект энерготропных лекарственных препаратов при их индивидуальном подборе в процессе лечения [9].

**Молекулярно-генетические критерии диагностики митохондриальных болезней, обусловленных дефектами дыхательной цепи**

Обнаружение в тканях больного мутации ядерной или митохондриальной ДНК, ведущей к нарушению способности митохондрий преобразовывать и аккумулировать энергию органических соединений, является веским доказательством митохондриального генеза патологии. Впервые мутации митохондриальной ДНК были выявлены в тканях больных митохондриальными энцефаломиопатиями и нейропатией Лебера в 1988 г. С тех пор стали известны свыше 250 точковых мутаций митохондриальных полипротеидов, рибосомальных и транспортных РНК и более 90 вариантов

# Мониторы серии TCM4 НЕИНВАЗИВНЫЙ МОНИТОРИНГ ГАЗОВ КРОВИ В НЕОНАТОЛОГИИ

$t_{sp}O_2$   
 $t_{sp}CO_2$   
 $SpO_2$   
Пульс



*Представительство компании «Радиометр Медикал АпС»*  
119048, Москва, ул. Усачева 33, стр. 1  
тел. +7 (495) 937-2118  
факс +7 (495) 937-2117

одиночных делеций митохондриальной ДНК [34]. Однако, по данным ряда авторов, митохондриальную мутацию удастся идентифицировать лишь у небольшого процента детей с болезнями дыхательной цепи — не более чем у 4–11% [13, 16]. Причем большинство мутаций встречается редко, в ограниченном числе семей. Исключение составляет точечная мутация A3243G (замена аденина на гуанин в нуклеотидной позиции 3243 митохондриальной ДНК). Эта мутация среди взрослого населения Финляндии имеет частоту 1:6000; у детей, по-видимому, частота существенно ниже [35].

Обращает внимание, что подавляющее большинство (приблизительно 800) митохондриальных белков, в том числе около 80 полипептидов дыхательной цепи кодируются ядерной ДНК. Они синтезируются в рибосомах эндоплазматической сети и поступают внутрь митохондрий с помощью транслокационной системы, ферментные комплексы которой также кодируются в ядре. Установлено, что процессы репликации и транскрипции митохондриальной ДНК находятся под контролем ядерных факторов. Более того, экспрессией большинства генов митохондрий управляют ядерные гены.

К ядерно-кодируемым митохондриальным заболеваниям относятся большинство случаев болезни Лея, болезнь Альперса, синдром Барта, мионейрогастроинтестинальная энцефалопатия, большинство случаев летального инфантильного заболевания, обусловленных дефектами комплексов дыхательной цепи [36–39]. Между тем идентификация мутаций ядерной ДНК является дорогостоящим и трудоемким исследованием. Так, подозрение на аутосомно-рецессивную недостаточность 1-го комплекса дыхательной цепи

требует анализа по крайней мере 36 ядерных генов, кодирующих отдельные субъединицы данного комплекса. К настоящему времени верифицированы мутации 10 таких генов. Несмотря на существующее предположение, что не менее  $\frac{3}{4}$  пациентов с митохондриальной патологией страдают ядерно-кодируемыми заболеваниями, доказать наличие мутации удастся лишь у 2,5–12% (в зависимости от обследованного контингента) [13, 16].

Таким образом, подавляющему большинству больных клиницистам приходится формулировать диагноз митохондриального заболевания, не имея молекулярно-генетического подтверждения.

### Метаболические критерии диагностики митохондриальных болезней, обусловленных дефектами дыхательной цепи

Метаболическим критериям диагностики придавалось большое значение на начальных этапах изучения митохондриальной патологии. Впоследствии оказалось, что биохимические показатели, свидетельствующие о нарушении процессов клеточного энергообмена (метаболический ацидоз, увеличение содержания в крови лактата, пирувата натощак и после нагрузки глюкозой, снижение содержания общего карнитина, активация перекисного окисления липидов, увеличение экскреции ряда органических кислот), к сожалению, могут служить лишь дополнительными критериями диагностики. Их изменение не отличается стабильностью, не обладает высокой специфичностью, может встречаться при различных заболеваниях.

Например, высокий уровень лактата в крови, повышенное соотношение лактат/пируват после нагрузки глюкозой характерны для детей с мито-

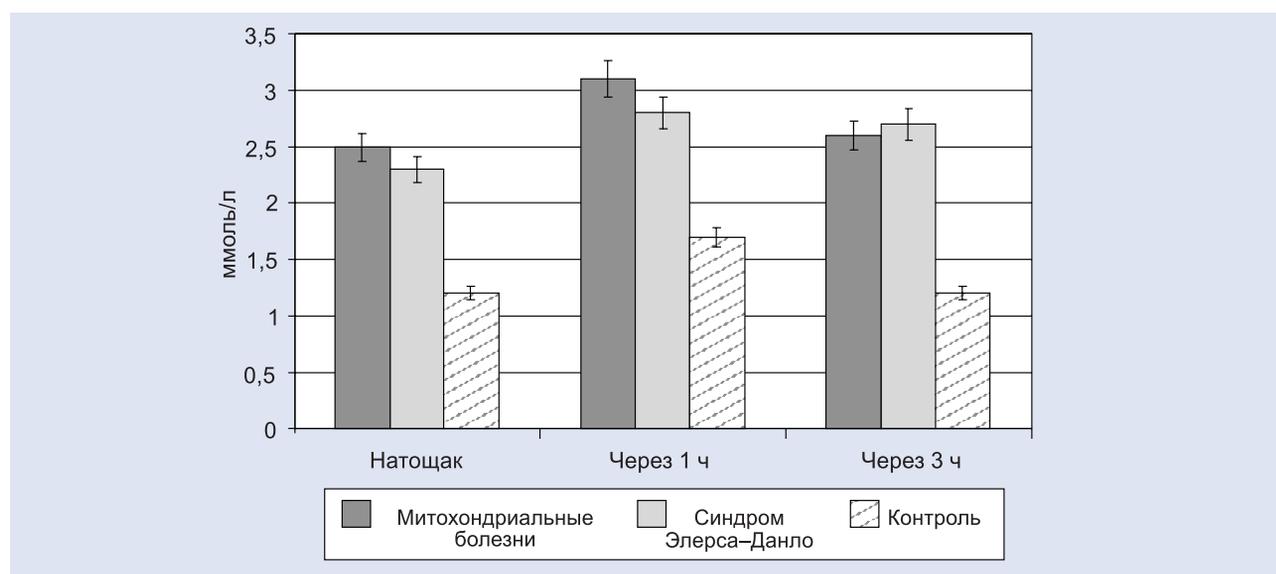


Рис. 3. Уровень лактата в крови на фоне нагрузки глюкозой у детей с митохондриальными заболеваниями ( $n=35$ ) и синдромом Элрса–Данло ( $n=33$ ).

хондриальными болезнями [40]. Однако на основании этих данных невозможно дифференцировать первичные митохондриальные заболевания от сопутствующей митохондриальной недостаточности при наследственных болезнях соединительной ткани (рис. 3). В то же время следует учитывать информативность отдельных метаболических показателей. В частности, не вызывает сомнения патогномичность массивной 3-метилглутаконовой ацидурии для X-сцепленного митохондриального синдрома Барта. Показана частая встречаемость высокой почечной экскреции таких метаболитов цикла Кребса, как яблочная и фумаровая кислоты у пациентов с митохондриальными заболеваниями [41].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Все вышесказанное иллюстрирует, как на основании достижений клинической и лабораторной медицины сближаются профессиональные интересы и подходы к решению проблем педиатров и пато-

логов в целях повышения качества и точности диагностики детских болезней, повышения эффективности терапии. При комплексном использовании различных методов диагностики удалось достичь существенного прорыва в понимании природы митохондриальных заболеваний. Дальнейшее внедрение координированных способов диагностики — залог прогресса в этой области. Большое значение могут иметь разные модификации диагностических методов: от быстрых и дешевых (скрининговых) до углубленных, с использованием электронной микроскопии, исследованием целого спектра митохондриальных ферментов и компьютерной морфометрической оценкой результатов микроскопии. Успехи дифференциальной диагностики не только позволяют ставить диагноз, но и определяют варианты необходимой терапии. Только при этих условиях возможна значительная эффективность правильно назначенного лечения даже тяжелых митохондриальных энцефалопатий у детей.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Вельтищев Ю.Е., Темин П.А. Митохондриальные болезни. В кн.: Наследственные болезни нервной системы. Под ред. Ю.Е. Вельтищева, П.А. Темина. М: Медицина 1998; 346—471.
2. Shapira A.H.V. Mitochondrial disorders. *Biochim Biophys Acta* 1999; 1410: 2: 99—102.
3. Scheffler L.E. A century of mitochondrial research: achievements and perspectives. *Mitochondrion* 2001; 1: 1: 3—31.
4. Сухоруков В.С., Николаева Е.А. (ред.). Нарушение клеточного энергообмена у детей. М: Атес Медика Софт 2004; 79.
5. Сухоруков В.С. Врожденные дисфункции митохондриальных ферментов и их роль в формировании тканевой гипоксии и связанных с ней патологических состояний. В кн.: Проблемы гипоксии: молекулярные, физиологические и медицинские аспекты. Под ред. Л.Д. Лукьяновой и И.Б. Ушакова. М: Истоки 2004; 439—455.
6. Blass J.P., Sheu R.F., Cedarbaum J.M. Energy metabolism in disorders of the nervous system. *Rev Neurol* 1988; 144: 343—363.
7. Семьякина А.Н., Николаева Е.А., Новиков П.В. и др. Нарушения процессов клеточной биоэнергетики у детей с моногенными заболеваниями соединительной ткани (синдромы Марфана и Элерса—Данло) и методы их терапевтической коррекции. *Мед генетика* 2002; 4: 186—190.
8. Shapira A.H.V. Primary and secondary defects of the mitochondrial respiratory chain. *J Inherit Metab Dis* 2002; 25: 207—214.
9. Царегородцев А.Д., Сухоруков В.С. Актуальные проблемы и перспективы развития диагностических технологий в педиатрии. *Рос вестн перинатол и педиат* 2006; 1: 3—9.
10. Sukhorukov V.S. Energy deficient diathesis as energy metabolism disadaptation in children. *Mat. of VIII World Congress of Int. Soc. for Adaptive Medicine. Moscow* 2006; 54.
11. Naviaux R.K. Developing a systematic approach to the diagnosis and classification of mitochondrial disease. *Mitochondrion* 2004; 4: 351—361.
12. Uusimaa J., Remes A.M., Rantala H. et al. Childhood encephalopathies and myopathies: a prospective study in a defined population to assess the frequency of mitochondrial disorders. *Pediatrics* 2000; 105: 598—603.
13. Skladal D., Halliday J., Thorburn R. Minimum birth prevalence of mitochondrial respiratory chain disorders in children. *Brain* 2003; 126: 1905—1912.
14. Тозляян Е.В. Клиническое значение митохондриальных нарушений у детей с недифференцированными формами задержки нервно-психического развития: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М 2003.
15. Семьякина А.Н., Сухоруков В.С. Нарушения процессов клеточной биоэнергетики и методы их терапевтической коррекции у детей с мукополисахаридозами. *Рос вестн перинатол и педиат* 2005; 1: 18—21.
16. Scaglia F., Towbin J.A., Craigan W.J. et al. Clinical spectrum, morbidity and mortality in 113 pediatric patients with mitochondrial disease. *Pediatrics* 2004; 114: 925—931.
17. Walker U.A., Collins S., Byrne E. Respiratory chain encephalomyopathies: a diagnostic classification. *Eur Neurol* 1996; 36: 260—267.
18. Bernier F.P., Boneh A., Dennett X. et al. Diagnostic criteria for respiratory chain disorders in adults and children. *Neurology* 2002; 59: 1406—1411.
19. Wolf N.I., Smeitink A.M. Mitochondrial disorders: a proposal for consensus diagnostic criteria in infants and children. *Neurology* 2002; 59: 1402—1405.
20. Garcia-Cazorla A., De Lonlay P., Nassogne M.C. et al. Long-term follow-up of neonatal mitochondrial cytopathies: a study of 57 patients. *Pediatrics* 2005; 116: 1170—1177.
21. Shoffner J.M. Metabolic myopathies: mitochondrial myopathy diagnosis. *Neurologic Clinics* 2000; 18: 1: 105—122.
22. Engel W.K., Cunningham G.G. Rapid examination of muscle tissue: An improved trichrome stain method for fresh frozen biopsy sections. *Neurology* 1963; 13: 919—926.

23. *De Vivo D.* The expanding spectrum of mitochondrial diseases. *Brain Develop* 1993; 15: 1–22.
24. *Reichmann H., Vogler L., Seibel P.* Ragged red or ragged blue fibers. *Eur Neurol* 1996; 36: 2: 98–102.
25. *DiMauro S., Bonilla E., Zeviani M. et al.* Mitochondrial myopathies. *Ann Neurol* 1985; 17: 521–538.
26. *Engel A.G., Banker B.Q.* Myology. McGraw-Hill Book Company. New York 1986; 2050.
27. *Stadhouders A.M., Sengers R.C.A.* *J Inher Metab Dis* 1987; 10: Suppl 1: 62–80.
28. *Sukhorukov V.S.* Mitochondrial proliferation as adaptation mechanism in various diseases. In: *Adaptation Biology and Medicine: Health Potentials*. L. Lukyanova, N. Takeda, P.K. Singal (eds.). Narossa Publishing House. New Delhi 2007; 5: 25–42.
29. Сухоруков В.С. Гетерогенность и клинко-морфологическая неоднородность митохондриальной патологии у детей: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. М 1998; 37.
30. Сухоруков В.С. Общие вопросы патологии клеточной энергетики. Актуальные вопросы современной педиатрии. М 2002; 11–15.
31. Сухоруков В.С. Гистологический анализ митохондриальных нарушений у человека. Сборник трудов Всерос. научн. конф. Гистологическая наука России в начале XXI века: итоги, задачи, перспективы. М: Изд-во РУДН 2003; 177–181.
32. Сухоруков В.С., Нарциссов Р.П., Петричук С.В. и др. Сравнительная диагностическая ценность анализа скелетной мышцы и лимфоцитов при митохондриальных болезнях. *Арх патол* 2000; 62: 2: 19–21.
33. *Thornburn D.R., Chow C.W., Kirby D.M.* Respiratory chain enzyme analysis in muscle and liver. *Mitochondrion* 2004; 4: 363–375.
34. <http://www.mitomap.org/>
35. *Majamaa K., Moilanen J.S., Uimonen S. et al.* Epidemiology of A3242G, the mutation for mitochondrial encephalomyopathy, lactic acidosis, and stroke-like episodes: prevalence of the mutation in an adult population. *Am J Hum Genet* 1998; 63: 447–454.
36. *Loeffen J., Elpeleg O., Smeitink J. et al.* Mutations in the complex I *NDUFS2* gene of patients with cardiomyopathy and encephalomyopathy. *Ann Neurol* 2001; 49: 195–201.
37. *Haut S., Brivet M., Touati G. et al.* A deletion in the human *QP-C* gene causes a complex III deficiency resulting in hypoglycaemia and lactic acidosis. *Hum Genet* 2003; 113: 118–122.
38. *Davidzon G., Mancuso M., Ferraris S. et al.* *POLG* mutations and Alpers syndrome. *Ann Neurol* 2005; 57: 921–924.
39. Николаева Е.А., Яблонская М.И., Барсукова П.Г. и др. Болезнь Лея, обусловленная мутацией гена *SURF1*: диагностика и подходы к терапевтической коррекции. *Рос вестн перинатол и педиат* 2006; 2: 27–31.
40. Николаева Е.А., Подольная М.А., Кобринский Б.А. и др. Фенотипический полиморфизм и критерии диагностики наследственных болезней митохондрий и обмена органических кислот у детей. *Рос вестн перинатол и педиат* 2001; 2: 45–49.
41. *Barshop B.A.* Metabolomic approaches to mitochondrial disease: correlation of organic acids. *Mitochondrion* 2004; 4: 521–527.

Поступила 15.03.07

### Исследование концентрации плазменного фибриногена у детей, получающих элиминационную диету, основанную на соевых белках и гидролизате казеина

#### Plasma fibrinogen concentration in pediatric patients treated with an elimination diet based on soy proteins and casein hydrolyzate

*B. Mikoluc, R. Motkowski, J. Piotrowska-Jastrzebska, J.K. Koput, J. Wysocka*

*Adv Med Sci* 2006; 51: 214–218

Цель исследования состояла в том, чтобы оценить взаимосвязь концентрации фибриногена (одного из наиболее обсуждаемых новых факторов риска атеросклероза) и классических маркеров риска атеросклероза в группе детей в возрасте от 2 до 6 лет из семей с наличием или отсутствием у родственников рано манифестирующих циркуляторных заболеваний (по стандартам Американской академии педиатров). Также учитывалось влияние диетического лечения пищевой аллергии на уровень атеросклеротических маркеров, в частности фибриногена.

В настоящее исследование включены 134 ребенка. Анализ данных, касающихся так называемых классических биохимических факторов риска атеросклероза (общий холестерин, липопротеиды высокой и низкой плотности, триглицериды, глюкоза), не показал никаких различий между группами. Оказалось, что в группе с наличием в семейном анамнезе циркуляторных заболеваний концентрация фибриногена была статистически выше, чем в группе с неотягощенным анамнезом. Выявлено, что элиминационная диета не оказывала никакого влияния на концентрацию фибриногена у детей с отягощенным семейным анамнезом. В группе детей с неотягощенным анамнезом содержание фибриногена в крови было статистически ниже у пациентов, получавших гидролизат казеина, чем у детей, получавших соевое детское питание.

Сделан вывод, что при первичном сборе анамнеза и осмотре педиатры должны обращать внимание на наличие атеросклероза у родственников ребенка. В случае отягощенного семейного анамнеза необходимо проверить уровень фибриногена как одного из факторов риска атеросклероза.

Референт А.И. Асманов