

УДК

МИТОХОНДРИАЛЬНЫЙ ГЕНОМ И МИТОХОНДРИАЛЬНЫЕ БОЛЕЗНИ ЧЕЛОВЕКА

© 2002 г. Р. И. Сукерник¹, О. А. Дербенева¹, Е. Б. Стариковская¹, Н. В. Володько¹,
И. Е. Михайловская², И. Ю. Бычков², М. Т. Лотт³, М. Д. Браун³, Д. К. Уоллес³

¹ Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск 630090;
факс: (3832)22-12-78; e-mail: sukernik@bionet.nsc.ru

² Межатраслевой научно-технический комплекс "Микрохирургия глаза" им. академика Св. Федорова
(Новосибирский филиал), Новосибирск 630071; факс: (3832)40-37-37

³ Центр молекулярной медицины, университет Эмори, Атланта 30322, США; факс: 404/727-8367

Поступила в редакцию 14.06.2001 г.

Окончательный вариант получен 12.10.2001 г.

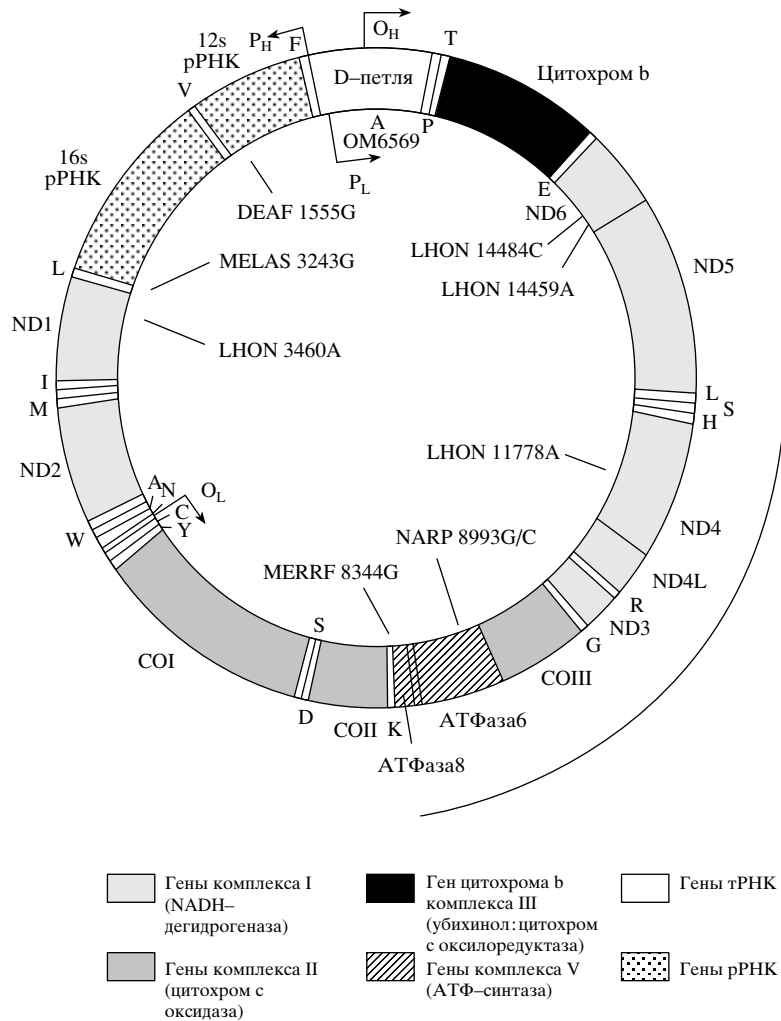
На сегодня известны более 100 точковых мутаций и несколько сот структурных перестроек митохондриальной ДНК (мтДНК), связанных с характерными нейромышечными и другими митохондриальными синдромами – от летальных и неонатальном периоде жизни до заболеваний с поздним началом. Непосредственная причина возникновения и развития митохондриальных расстройств кроется в дефектах системы окислительного фосфорилирования. Фенотипическая многоликость и феномен гетероплазмии, приравниваемый некоторыми авторами к мутационному грузу, – отличительная особенность митохондриальных болезней человека. Благодаря выявлению все большего количества пациентов и описанию сотен родословных, сведения о взаимоотношении между генотипом и фенотипом, структуре и частоте встречаемости патогенных и условной-патогенных мутаций мтДНК в популяциях накапливаются ускоренными темпами. Сведения по генетике и эпидемиологии митохондриальных болезней важны не только для дифференциальной диагностики и генетического консультирования. Поскольку не только нейтральные, но и слабopatогенные мутации мтДНК последовательно накапливаются в материнских филетических линиях, молекулярный анализ этих мутаций представляет интерес не только для реконструкции генеалогического древа человека современного вида, но и для оценки их значения при отборе.

Уникальные свойства митохондриального генома – цитоплазматическое наследование, отсутствие рекомбинаций и высокая скорость мутирования – оказались полезными не только для популяционно-генетических исследований. В течение последних лет значительно повысился интерес к новому, недавно выделенному классу наследственных болезней человека, обусловленных биохимическими дефектами в системе окислительного фосфорилирования [1–5].

О том, что нарушение процесса выработки и накопления энергии в форме АТФ может быть причиной некоторых нейромышечных синдромов, известно более трех десятилетий. Однако сравнительно недавно была установлена причинно-следственная связь между известными заболеваниями и синдромами типа MERRF (миоклональная эпилепсия с "разорванными красными мышечными волокнами"), MELAS (митохондриальная энцефалопатия с инсультоподобными эпизодами и лактат-ацидозом), LHON (наследственная атрофия/нейропатия зрительных нервов Лебера), некоторыми формами сахарного диабета, с одной стороны, и мутациями в кодирующем районе мтДНК – с другой [6–11]. Хотя наибольшей по-

требностью в митохондриальной энергии обладают нейроны головного мозга, зрительный нерв, скелетная мускулатура, сердечная мышца, клетки костного мозга и эндокринные железы, ее хронический недостаток может привести к патологическим изменениям практически в любом органе [5, 12–14].

Патогенные мутации мтДНК, имеющие ключевое значение в патогенезе митохондриальных заболеваний, встречаются повсеместно. Так, в Англии они найдены с примерной частотой 1 на 8000 человек [15]. Пенетрантность и экспрессивность таких мутаций варьируют в широких пределах от семьи к семье и между родственниками (по материнской линии) одной семьи и зависят от многих факторов, но главным образом от генотипа и уровня гетероплазмии (смесь мутантных и дикого типа молекул мтДНК) [16, 17]. Уровень гетероплазмии колеблется в процессе клеточного деления, подчиняясь главным образом вероятностным механизмам, с наибольшей амплитудой действующим на ранних стадиях оогенеза и эмбриогенеза. Поэтому фиксация мутантной мтДНК на уровне 100% (гомopлазмия) иногда наступает уже в следующем поколении [18–20].



Карта мтДНК человека с указанием положения генов и относительно часто встречающихся патогенных мутаций.

Фенотипическая экспрессия мутантных мтДНК весьма схожа с патологическими проявлениями мутаций ядерных генов, ответственных за выработку энергии в митохондриях. Отсюда и немалые сложности при дифференциальной диагностике некоторых митохондриальных заболеваний, сходных по клинической картине, но различающихся по наследственной природе [13, 14].

ГЕНЫ В МИТОХОНДРИЯХ

мтДНК человека (16569 пн) содержит 37 генов, продукты которых участвуют в процессе выработки энергии в дыхательной цепи митохондрий. Последняя располагается во внутренней мембране митохондрий и состоит из пяти сопряженно функционирующих ферментных комплексов, в целом насчитывающих 86 субъединиц. В основном они кодируются ядерными генами (ядДНК), но семь субъединиц первого ферментного комплекса (ND1, 2, 3, 4, 4L, 5, 6), один – треть-

его (цитохром b), три – четверного (COI, COII, COIII) и две – пятого (АТФазы 6 и 8) кодируются структурными генами мтДНК (рисунок) [21–24].

Молекула мтДНК человека помимо 13 структурных генов содержит гены 22 мтДНК и двух рРНК, принимающих участие в синтезе белка непосредственно в митохондриях. Большинство регуляторных последовательностей мтДНК располагаются в некодирующем, так называемом “контрольном районе” (КР) протяженностью 1122 пн (16024–00576). Однако большую часть генома занимает кодирующая последовательность, внутри которой межстронным участкам принадлежит всего 87 пн. В КР размещены промоторы для тяжелой (P_H) и легкой (P_L) цепей, а также точка инициации репликации тяжелой цепи (O_H). Цепи имеют асимметричное распределение Г/Ц-пар нуклеотидов. Богатая гуанином тяжелая цепь содержит оба гена рРНК, большинство структурных и генов тРНК. Лишь один структурный (ND6) и восемь генов тРНК расположены в легкой це-

пи. В процессе репликации мтДНК образуется D-петля – трехцепочечный участок длиной 710 пн в составе КР. Разнонаправленность и асинхронность – отличительные особенности процесса репликации, свойственные митохондриальному геному. Структура мтДНК млекопитающих обнаруживает большое сходство с геномом прокариот: гены в митохондриях лишены интронов (некоторые из них перекрываются) и транскрибируются с двух промоторов в виде полицистронных мРНК. Предполагается, что компактность мт-генома млекопитающих, при его высокой информативности, обусловлена отрицательным отбором в процессе эволюции [21, 22].

мтДНК человека отличается высокая скорость нуклеотидных замен, в среднем в 10–17 раз выше скорости мутирования ядерных генов, что объясняется несовершенством репарационных механизмов, отсутствием гистонов и присутствием свободных радикалов кислорода – побочных продуктов аэробного дыхания [2, 13, 17, 22, 23, 25]. Косвенным подтверждением справедливости данного объяснения может послужить обнаружение аналогов мтДНК в ядерном геноме, которые мутируют с гораздо меньшей скоростью, чем сама мтДНК [17, 26, 27]. Снижая выход энергии, патогенная мутация мтДНК, как правило, приводит к избыточному накоплению свободных радикалов кислорода. Следствием окислительного стресса оказываются нарушение проницаемости внутренней мембраны митохондрий и активация факторов, инициирующих апоптоз клетки [28].

ГЕТЕРОПЛАЗМИЯ – КЛЮЧЕВОЙ ФЕНОМЕН МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ГЕНЕТИКИ

При оплодотворении в цитоплазму яйцеклетки проникают лишь несколько копий отцовской мтДНК, вклад которых в следующее поколение блокируется на молекулярном уровне по неизвестной пока причине. При том, что одна митохондрия содержит около 10 молекул мтДНК, число копий мтДНК в цитоплазме зрелой яйцеклетки человека может достигать 100000, но после первых еще зиготических делений оно не превышает 1000 на клетку. Примерно столько же копий содержат стволовые клетки костного мозга и лейкоциты крови, но в дифференцированных органах и тканях, например в нейронах и скелетных мышцах, их число колеблется в пределах от 5000 до 10000 на клетку [29, 30].

Мутировавшая мтДНК (точковая мутация или делеция) следующему поколению обычно передается в состоянии гетероплазмы, уровень которой во многом определяет энергетический порог экспрессии мутационным событиям [30–32]. Этот уровень может варьировать в разных клетках и тканях одного и того же пробанда или здорового

носителя в широких пределах (1–99%). Так, у больных с атрофией зрительного нерва Лебера доля мутантных мтДНК в лейкоцитах оказалась намного выше, чем в тромбоцитах [33]. В другом случае болезни Лебера доля мутантной мтДНК в зрительном нерве и сетчатке, которые были изучены посмертно, составила 100% (гомоплазмия), тогда как прижизненный анализ лейкоцитов крови обнаруживал гетероплазмю [34].

В последние годы накапливается все больше наблюдений и экспериментальных данных, указывающих на роль отбора как в клетках зародышевой линии, так и в соматических [31, 35–42]. Так, присутствие в мозге и скелетных мышцах больных с митохондриальными миопатиями и энцефалопатиями значительно большего числа копий мутантных мтДНК, чем в лейкоцитах крови, все чаще объясняют отбором против стволовых клеток крови, содержащих данную мутацию [26, 31, 36–39]. Избирательная элиминация стволовых клеток с патогенной мутацией 3243G, обычно встречающаяся у больных MELAS, отмечена и у больных сахарным диабетом [40].

В процессе индивидуального развития распределение клонов мутировавшей мтДНК в тканях человеческого организма носит случайный характер. Но так как дефектные митохондрии, испытывающие хроническую интоксикацию свободными радикалами кислорода, пролиферируют быстрее нормальных, тем самым компенсируя нехватку энергии, то доля мутантных мтДНК в среднем по органу или ткани прогрессивно увеличивается [13, 31, 40, 43, 44]. Постепенно накапливаясь, мутационный груз достигает порогового уровня экспрессии мутантного генотипа и проявляет себя в виде биохимических, гистологических и клинических признаков митохондриальной болезни. Принцип тканеспецифичности положен в основу стратегии лечения некоторых митохондриальных миопатий. В предположении, что изменение соотношения мутантных и нормальных мтДНК в пораженных органах в пользу последних должно приостановить развитие болезни, стали применять, и не безуспешно, “антигеномные” средства, направленные на торможение репликации мутантной мтДНК [45–47].

КЛАССИФИКАЦИЯ ПАТОГЕННЫХ МУТАЦИЙ МТДНК

Хотя клинико-биохимические характеристики хорошо известны [4, 48–51], очевидно, что без молекулярного анализа мтДНК не обойтись при установлении диагноза, а значит и прогноза для заболевших и степени риска для здоровых носителей. Так как одна и та же мутация мтДНК может проявляться различными фенотипами, а различные мутации в молекуле мтДНК (например, некоторые точковые мутации и делеции) могут

иметь клинически неразличимые фенотипы, их удобно подразделять на: 1) смысловые замены в структурных генах; 2) мутации в генах рибосомных и транспортных РНК и 3) структурные перестройки, затрагивающие большие сегменты мтДНК [14].

Смысловые мутации в структурных генах

Наиболее типичным заболеванием, ассоциированным со смысловыми заменами в митохондриальном геноме, является наследуемая по женской линии нейропатия (атрофия) зрительных нервов Лебера (LHON) [1, 4, 6, 7, 14, 34, 52–57]. Для LHON характерно острое начало с одновременной или последовательной потерей центрального зрения на оба глаза по причине дегенерации клеток ганглиозного слоя сетчатки и атрофии зрительного нерва. Болезнь чаще поражает мужчин (в соотношении 4 : 1, 3 : 1) в возрасте 16–40 лет и отличается крайней вариабельностью по степени экспрессивности и пенетрантности. Обнаружение смысловой мутации в *ND*-генах у больных LHON – главный критерий, используемый при дифференциальном диагнозе.

Впервые причинно-следственная связь между мутациями в мтДНК и патологическими изменениями в митохондриях у больных наследственной нейропатией зрительных нервов Лебера была установлена Уоллесом в 1988 г. В мтДНК, выделенной из крови пробанда, была обнаружена мутация гена *ND4* в позиции 11778, в результате которой произошла замена высококонсервативного аргинина на гистидин [6]. Вскоре оказалось, что мутацию *MTND4* LHON11778A* обнаруживают в 50–70% всех случаев LHON, выявляемых у европейцев, и примерно у 95% больных LHON азиатского происхождения [14].

В литературе описано около 26 смысловых замен, которые ассоциируются с атрофией зрительных нервов Лебера. По степени независимости их принято подразделять на первичные и вторичные мутации. К первичным мутациям относят независимые мутации высокого риска: *3460A* в гене *ND1*, *11778A* в гене *ND4* и *14459A*, *14484C* и *14495G* в гене *ND6*. Первичные мутации в состоянии гомо- или гетероплазмии встречаются повсеместно на разных континентах независимо от этнической принадлежности, но отсутствуют в здоровом контроле. Вторичные мутации, если они не сцеплены с первичной мутацией, далеко не всегда ассоциируются с атрофией зрительных нервов Лебера. Однако вторичные мутации, например такие, как *4216C* в гене *ND1* и *13708A* в гене *ND5*, определенно усиливают экспрессивность и пенетрантность основной, первичной мутации. В семьях больных LHON европейского происхождения она встречается чаще, чем в случайной выборке из той же популяции (таблица) [1, 14, 54–62].

Из первичных мутаций самой “жесткой” считается мутация *MTND6*LDYT14459A*, пенетрантность которой превышает 60%. Она приводит к замене высококонсервативного аланина на валин в полипептиде ND6 и экспрессируется в виде двух разных фенотипов – болезни Лебера (LHON) и органического поражения ЦНС – дистонии. К настоящему времени описаны три родословные с этой мутацией. В одной из родословных, насчитывающей 42 родственника по линии матери, атрофию зрительных нервов Лебера имели 19%, дистонию – 31%, и оба клинических фенотипа отмечены у 2% [14, 58].

С эволюционной точки зрения существует один важный критерий, позволяющий отличать патогенные мутации мтДНК от слабopatогенных и нейтральных. Вредные мутации, значительно снижая приспособленность их носителей, утрачиваются в течение короткого эволюционного времени, хотя высокая скорость мутирования мтДНК предопределяет из независимое возникновение на гетерогенном генетическом фоне. Поэтому происхождение мутации *MTND6*LDYT14459A* от недавнего общего предка (по женской линии) маловероятно, поскольку все три родословные различаются по принадлежности к давно дивергировавшим мтДНК-линиям – европейской I, американоиндейской D и африканской L [14, 58].

Инициированный нами на территории Западной Сибири молекулярно-генетический и биохимический анализ больных атрофией/нейропатией зрительных нервов Лебера (LHON) позволил выявить уже известные и идентифицировать новые мутации (таблица) [60, 61]. В соответствии с ожиданием, среди лиц славянского происхождения наиболее распространенной оказалась мутация *MTND4* LHON11778*, чаще других встречающаяся среди европейцев с болезнью Лебера. Интересной и редкой находкой оказалась мутация *MTND4L* LHON10663C*, обнаруженная нами в русской семье из Казахстана [61]. В отличие от ранее описанных двух семей западно-европейского происхождения, в которых основная мутация *MTND4L* LHON10663C* сочеталась с вариантом *MTCYB* LHON15257A* [62], в русской семье данный вариант отсутствовал, что побудило нас отнести *MTCYB* LHON15257A* к категории мутаций вторичного риска (таблица).

Мутации мтДНК, приводящие к нарушениям синтеза белка

Прогрессирующая с возрастом нейросенсорная глухота, если она наследуется по линии матери, часто ассоциируется с заменой А на Г в позиции 1555 гена 12S рРНК. Вероятность проявления этой мутации, обозначаемой как *MTRNR1*DEAF1555G*, увеличивается с возрастом и зависит от провоцирующих внешних факторов: проявляется после

Спектр мутаций мтДНК при наследственной нейропатии зрительных нервов Лебера (LHON) у лиц европейского происхождения (из [1, 14, 60, 61])

№	Мутация	Класс	Гетероплазмия	Сопутствующие неврологические нарушения	Аминокислотная замена	Степень консервативности	Обнаружено в России	Примерная частота, %	
								больные LHON	здоровый контроль
1	<i>MTND6*LDYT14459A</i>	Первичный	+	+/-	A72V	У		Редко	0
2	<i>MTND4*LHON11788A</i>	»	+/-	+/-	R340H	В	+	50–70	0
3	<i>MTND1*LHON3460A</i>	»	+/-	+/-	A52T	У	+	10–20	0
4	<i>MTND6*LHON14484C</i>	»	+/-	-	M64V	С		10–20	0
5	<i>MTND2*LHON5244A</i>	»	+	-	G259S	В		Редко	0
6	<i>MTND5*LHON13730A</i>	»	+	-	G465E	У		»	0
7	<i>MTND4L*LHON10663C</i>	»	-	-	V65A	С	+	»	0
8	<i>MTCO3*LHON9804A</i>	Первичная?	-	-	A200T	В		1.5	0
9	<i>MTATP6*LHON9101C</i>	»	-	-	I192T	С		Редко	0
10	<i>MTND4*LDYT11696G</i>	»	-	+/-	V312I	С		»	0
11	<i>MTND6*LHON14482G</i>	»	-	-	M64I	С		»	0
12	<i>MTND6*LHON14498T</i>	»	+	-	Y59C	У		»	0
13	<i>MTND6*LHON14568T</i>	»	-	-	G36S	С		»	0
14	<i>MTND6*LDYT14596A</i>	»	+	+/-	I26M	У		»	0
15	<i>MTND1*LHON3635A</i>	»	-	+	S110N	В	+	»	0
16	<i>MTND1*LHON4640C</i>	»	-	-	I57M	У	+	»	0
17	<i>MTATP6*LHON8551C</i>	»	-	+	F9L	В	+	»	0
18	<i>MTCYB*LHON15257A</i>	Вторичная	-	-	D171N	В	+	9	0.4
19	<i>MTND5*LHON13708A</i>	»	-	-	A458T	У	+	30	6
20	<i>MTND1*LHON3394C</i>	»	-	-	Y30H	В		Редко	0.9
21	<i>MTND1*LHON4160C</i>	»	-	+	L285P	В		»	0
22	<i>MTND1*LHON4216C</i>	»	-	-	Y304H	С	+	50	15
23	<i>MTND2*LHON4917G</i>	»	-	-	D150N	В	+	3	3
24	<i>MTCO1*LHON7444A</i>	»	-	-	Ter → K	-		5	1
25	<i>MTCO3*LHON9438A</i>	»	-	-	G78S	В		2.5	4.6
26	<i>MTCYB*LHON15812A</i>	»	-	-	V375M	У	+	4.0	0.1

Примечание. В – высоко консервативный, У – умеренно консервативный, С – слабо консервативный. Вопросительный знак означает, что окончательная классификация будет выработана по мере публикации новых данных.

приема аминокликозидов [16, 63]. В состоянии гомоплазмии эта мутация была впервые идентифицирована в большой семье арабов в Израиле – большинство членов этой семьи не слышат с младенчества, а меньшинство утратили слух в детском или юношеском возрасте [64]. Дальнейший анализ этой и других семей с врожденной нейро-сенсорной глухотой, материнским наследованием и мутацией *MTRNR1*DEAF1555G* показал, что раннее начало болезни связано с модифицирующим влиянием рецессивных ядерных генов на пенетрантность мутации мтДНК [65–67].

Мутации в генах тРНК признаны в качестве основной причины целого ряда тяжелых нейро-мышечных заболеваний. В их клинической картине доминируют признаки митохондриальной миопатии в энцефалопатии. Митохондриальные миопатии представляют собой обособленную группу патологических состояний, отличительным признаком которых является пролиферация и накопление патологически измененных митохондрий, сопровождающиеся дегенерацией синцития мышечных волокон. При обработке модифицированным красителем Гомори они окраши-

ваются в красный цвет – так называемые “разорванные красные волокна” [4, 5, 10, 12, 50]. Мутации в генах тРНК встречаются только в состоянии гетероплазмии – очевидно, по причине летальности зигот с гомоплазмией *in utero* [4, 6, 14, 40]. Доля мутантной мтДНК, выявляемая в скелетных мышцах, как правило, коррелирует с тяжестью заболевания и степенью биохимических и патогистологических изменений *in situ* [42].

На сегодня описаны десятки родословных с мутациями в генах тРНК. Две такие мутации, с примерно одинаковым дефектом в I комплексе дыхательной цепи, встречаются намного чаще, чем все остальные: *MTTL1*⁺MELAS3243G* (митохондриальная энцефалопатия с инсультоподобными симптомами и лактат-ацидозом) и *MTTK*⁺MERRF8344G* (миоклоническая эпилепсия и “разорванные красные волокна” в скелетных мышцах) [4, 5, 7, 9, 32, 42]. Мутация *3243G* в гене тРНК^{Leu} встречается также примерно у половины больных сахарным диабетом, наследуемым по линии матери и сопровождающимся нейросенсорной глухотой, но без сопутствующих признаков поражения центральной нервной системы (ЦНС), характерных для MELAS. Уровень гетероплазмии у таких больных хорошо коррелирует с возрастом начала заболевания [37, 38, 68].

Любопытно, что при примерно одинаковом уровне гетероплазмии (70%) признаки поражения ЦНС у больных MELAS с мутацией *3243G* присутствовали постоянно, тогда как у больных MERRF с мутацией *8344G* они наблюдались крайне редко. Вероятность рождения больного ребенка носительницей мутации *3243G* составила – при том же уровне гетероплазмии (~70%) – величину в 11.4 раза выше, чем для женщины с мутацией с мутацией *8344G* [32]. В другом случае у клинически здоровой матери, носительницы мутации *MTTL1*⁺MELAS3243G*, гетероплазмия в лейкоцитах крови оказалась минимальной – 7.24%, в скелетных мышцах существенно выше – 18.11%, но явно недостаточной для преодоления порогового уровня. Пропорция мутантных мтДНК в 82 изученных ооцитах матери варьировала в пределах от 0 до 45%, в среднем составив 12.64% на яйцеклетку в соответствии с гипотезой случайного распределения. При этом лейкоциты крови ее 15-летнего, клинически здорового сына содержали 11.7% мутантных мтДНК; невысокий средний уровень гетероплазмии в ооцитах матери предполагает пониженную степень риска рождения больного ребенка [19]. Очевидно, что корреляция между генотипом, фенотипом и уровнем гетероплазмии у матери и ребенка носит универсальный характер. В частности, эта корреляция прослеживается у больных с синдромом NARP (нейрогенная мышечная слабость, атаксия и пигментный ретинит), с которым ассоциируются две

смысловые замены в гене АТФазы 6 – *8993G/C* (рисунок) [69].

Структурные перестройки мтДНК

Описано множество перестроек в мтДНК (дупликации, делеции или их комбинации), приводящих к нарушениям в системе окислительного фосфорилирования [14, 70, 71]. При этом делеция чаще всего приходится на район между точками инициации репликации тяжелой и легкой цепей (O_H , O_L) и обычно возникает спонтанно в результате ошибок репликации. Дупликация наследуется чаще, чем делеция. Показательным примером может служить родословная с наследуемой по линии матери делецией размером 10.4 тпн и дупликацией 6.1 тпн в сочетании с сахарным диабетом и нейросенсорной глухотой [72, 73].

Среди множества вариантов делеция размером 4977 пн, захватывающая гены от ND5 до АТФазы8, встречается чаще, чем все остальные (рисунок). Так, мтДНК4977 была обнаружена у больных нейромышечными заболеваниями типа синдрома Кернса–Сейра (KSS), при прогрессирующей наружной офтальмоплегии (СРЕО) и синдроме Пирсона (болезнь костного мозга и поджелудочной железы) [74, 75].

Первые признаки заболевания появляются по мере увеличения до порогового уровня доли мутантных мтДНК в активно делящихся стволовых клетках костного мозга. Клинически это проявляется в виде панцитопении – в силу остановки репликации мтДНК. В результате мутантная мтДНК в форменных элементах крови не выявляется, и для молекулярной диагностики необходимы биоптаты из дифференцированных тканей – скелетных мышц [14].

Стоит отметить, что делеция мтДНК4977 встречается и у здоровых взрослых лиц; доля мутантной мтДНК в клетке возрастает при воздействии ионизирующей радиации и по мере старения [76–78].

Взаимодействие двух геномов

Хотя большинство генов, продукты которых ответственны за нормальное функционирование системы окислительного фосфорилирования, располагаются в хромосомах, на сегодня известно всего несколько локусов, мутации в которых могут рассматриваться в качестве этиологической причины митохондриальной болезни [14]. В качестве примера можно сослаться на синдром нейрогастроинтестинальной энцефалопатии (MNGIE), обусловленной мутацией гена тимодинфосфорилазы [79]. Гораздо чаще мутации в ядерных генах модифицируют экспрессию мутаций в митохондриальном геноме [80]. Без вероятного влияния ядерного генома трудно объяснить, почему одна

и та же точковая мутация (*MTTL1*^{MELAS3243G}*) ассоциируется с такими разными клиническими фенотипами, как сахарный диабет и энцефалопатия [81]. Кроме того, в основе возникновения некоторых митохондриальных миопатий, таких как офтальмоплегия и птоз, может лежать дестабилизация молекулы мтДНК, инициируемая мутациями в ядерных генах [14].

Возникающие в процессе индивидуального развития соматические мутации мтДНК реплицируются наряду с мутациями зародышевой линии, цитоплазматическими или ядерными. Предположительно, чем “жестче” по своему клиническому проявлению и последствиям для ее носителей исходная мутация, тем раньше будет преодолен биоэнергетический порог и тем раньше появятся признаки митохондриальных болезней [14, 31, 32]. Эта гипотеза отчасти объясняет, почему подавляющее число случаев митохондриальных расстройств не проявляет себя в раннем детстве, но прогрессирует с возрастом, в соответствии с закономерной тенденцией к снижению способности системы окислительного фосфорилирования вырабатывать энергию по мере старения клетки [13].

мтДНК и популяционная геномика

Согласно стандартной модели эволюции митохондриального генома человека современного вида, подавляющее большинство мтДНК-мутаций в зародышевых линиях нейтральны. Они последовательно накапливались в пределах материнских филетических линий с момента происхождения человека современного вида на ограниченной территории в Восточной Африке около 130 тыс. лет назад и его последующего расселения по земному шару [1, 2, 14, 82]. Между тем все больше данных свидетельствует о том, что слабopатогенные мутации мтДНК в одних популяциях и материнских филетических линиях встречаются чаще, чем в других, предположительно благодаря адаптивному преимуществу на ранних этапах освоения человеком Северной Евразии [1, 35]. В пользу этого предположения указывает тот факт, что слабовредные основные мутации – *MTND4*^{LHON11778A}*, *MTND6*^{LHON14484C}* или *MTND4L*^{LHON10663C}* – чаще чем в половине случаев встречаются в ассоциации со вторичными мутациями *MTND1*^{LHON4216C}* и *MTND5*^{LHON1370A}*, характерными для европейской гаплогруппы J. Учитывая, что гаплогруппа J представляет только 9% общеевропейского пула мтДНК, вероятность того, что слабopатогенные мутации мтДНК в составе этой гаплогруппы экспрессируются сильнее, нежели в других, оказывается достаточно высокой [60–62, 83]. Хотя в сообщениях других авторов приведены данные, не согласующиеся с выдвинутым предположением [33, 83], вполне вероятно, что некоторые варианты мтДНК, обла-

давшие адаптивным преимуществом в прошлом, ныне предрасполагают к развитию митохондриальной болезни. Так как система окислительного фосфорилирования обладает двойкой функциональной способностью – обеспечивать клетки энергией в форме АТФ и вырабатывать тепло для терморегуляции, дифференциальный отбор в предковых популяциях Северной Евразии мог сохранять те мутации, которые способствовали увеличению производства тепла и улучшению терморегуляции за счет снижения эффективности производства АТФ [1].

Таким образом, наследственная атрофия зрительных нервов Лебера, отличающаяся чрезвычайно широким спектром мутаций мтДНК и сравнительно повышенной частотой встречаемости, представляет собой идеальную модель для изучения роли слабopатогенных мутаций мтДНК в эволюции человека современного вида [84, 85]. Модель позволяет интегрировать в филогенетическом анализе совокупность всех данных по изменчивости мтДНК. В качестве основного методического подхода первостепенное значение приобретает полное секвенирование индивидуальных геномов мтДНК пробандов, здоровых носителей и выборочной совокупности из контрольной популяции. Эти данные будут полезны не только для лучшего понимания молекулярных механизмов возникновения и развития митохондриальных болезней, но и для оценки скорости мутирования различных нуклеотидных сайтов в кодирующем районе и их значения при отборе в эволюционной истории человека [2, 59, 82].

Авторы крайне признательны И.Ф. Жимулёву за полезные замечания по прочтении рукописи и В.В. Черных, директору МНТК “Микрохирургия глаза” (Новосибирский филиал), за проявленный интерес и помощь в работе.

Работа поддержана следующими грантами: Fogarty International/NIH-TW01175, ИНТАС (96-1766) и РФФИ (00-04-49554).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Wallace D.C., Brown M.D., Lott M.T. Mitochondrial DNA variation in human evolution and disease // *Gene*. 1999. V. 238. P. 211–230.
2. Ingman M., Kaessmann H., Paabo S., Gyllensten U. Mitochondrial genome variation and the origin of modern humans // *Nature*. 2000. V. 408. P. 708–713.
3. Elson J.L., Andrews R.M., Chinnery P.F. et al. Analysis of European mtDNA for recombination // *Am. J. Hum. Genet.* 2001. V. 68. P. 145–153.
4. Korf B.R. Mitochondrial inheritance // *Human genetics. A problem-based approach* / Ed. Korf B.R. Boston: Blackwell Scientific Inc., 1996. P. 238–259.
5. Hanna M.G., Nelson I.P. Genetics and molecular pathogenesis of mitochondrial respiratory chain diseases // *Cell. Mol. Life Sci.* 1999. V. 55. P. 691–706.

6. Wallace D.C., Singh G., Lott M.T. et al. Mitochondrial DNA mutation associated with Leber's hereditary optic neuropathy // *Science*. 1988. V. 242. P. 1427–1430.
7. Wallace D.C., Zheng X.X., Lott M.T. et al. Familial mitochondrial encephalomyopathy (MERRF): genetic, pathophysiological, and biochemical characterization of a mitochondrial DNA disease // *Cell*. 1988. V. 55. P. 601–610.
8. Goto Y., Koga Y., Horai S., Nonaka I. Chronic progressive external ophthalmoplegia: a correlative study of mitochondrial DNA deletions and their phenotypic expression in muscle biopsies // *J. Neurol. Sci.* 1990. V. 100. P. 63–69.
9. van den Ouweland J.M., Lemkes H.H., Ruitenbeek W. et al. Mutation in mitochondrial tRNA(Leu)(UUR) gene in a large pedigree with maternally transmitted type II diabetes mellitus and deafness // *Nat. Genet.* 1992. V. 1. P. 368–371.
10. Shoffner J.M., Wallace D.C. Oxidative phosphorylation diseases and mitochondrial DNA mutations: diagnosis and treatment // *Annu. Rev. Nutr.* 1994. V. 14. P. 535–568.
11. Gerbitz K.D., van den Ouweland J.M., Maassen J.A., Jaksch M. Mitochondrial diabetes mellitus: a review // *Biochem. Biophys. Acta.* 1995. V. 1271. P. 253–260.
12. Schon T.A., Bonilla T., DiMauro S. Mitochondrial DNA mutations and pathogenesis // *J. Bioenerg. Biomembr.* 1997. V. 29. P. 131–149.
13. Wallace D.C. Mitochondrial diseases in man and mouse // *Science*. 1999. V. 283. P. 1482–1488.
14. Wallace D.C., Lott M.T., Brown M.D., Kerstann K. Mitochondria and neuroophthalmologic diseases // *The metabolic and molecular basis of inherited disease* / Eds Scriver C.R., Beavdet A.L., Valle D. N.Y.: McGraw-Hill, 2001. V. 2. P. 2425–2512.
15. Chinnery P.F., Johnson M.A., Wardell T.M. et al. The epidemiology of pathogenic mitochondrial DNA mutations // *Ann. Neurol.* 2000. V. 48. P. 188–193.
16. Fischel-Chodsian N. Mitochondrial mutations and hearing loss: paradigm for mitochondrial genetics // *Am. J. Hum. Genet.* 1998. V. 62. P. 15–19.
17. Lightowlers R.N., Chinnery P.F., Turnbull D.M., Howell N. Mammalian mitochondrial genetics: heredity, heteroplasmy and disease // *Trends. Genet.* 1997. V. 13. P. 450–455.
18. Jenuth J.P., Peterson A.C., Fu K., Shoubridge E.A. Random genetic drift in the female germline explains the rapid segregation of mammalian mitochondrial DNA // *Nat. Genet.* 1996. V. 14. P. 146–151.
19. Brown D.T., Samuels D.C., Michael E.M. et al. Random genetic drift determines the level of mutant mtDNA in human primary oocytes // *Am. J. Hum. Genet.* 2001. V. 68. P. 533–536.
20. Howell N., Kubacka I., Mackey D.A. How rapidly does the human mitochondrial genome evolve? // *Am. J. Hum. Genet.* 1996. V. 59. P. 501–509.
21. Anderson S., Bankier A.T., Barrell B.G. et al. Sequence and organization of the human mitochondrial genome // *Nature*. 1981. V. 290. P. 457–465.
22. Larsson N.-G., Clayton D.F. Molecular genetic aspects of human mitochondrial disorders // *Annu. Rev. Genet.* 1995. V. 29. P. 151–178.
23. Kogelnik A.M., Lott M.T., Brown M.D. et al. MITO-MAP: a human mitochondrial genome database – 1998 update // *Nucl. Acids Res.* 1998. V. 26. P. 112–115.
24. Saraste M. Oxidative phosphorylation at the fin de siecle // *Science*. 1999. V. 283. P. 1488–1493.
25. Robinson B.H. Human Complex I deficiency: clinical spectrum and involvement of oxygen free radicals in the pathogenicity of the defect // *Biochem. Biophys. Acta.* 1998. V. 1364. P. 271–286.
26. Zullo S., Sieu L.C., Slightom J.L. et al. Mitochondrial D-loop sequences are integrated in the rat nuclear genome // *J. Mol. Biol.* 1991. V. 221. P. 1223–1235.
27. Zichler H., Geisert o., von Haeseler A., Paabo S. A nuclear “fossil” of the mitochondrial D-loop and the origin of modern humans // *Nature*. 1995. V. 378. P. 489–492.
28. Green D.R., Reed J.C. Mitochondria and apoptosis // *Science*. 1998. V. 281. P. 1309–1316.
29. Kaneda H., Hayashi J., Takahama S. et al. Elimination of paternal mitochondrial DNA in intraspecific crosses during early mouse embryogenesis // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1995. V. 92. P. 4542–4546.
30. Attardi G., Yoneda M., Chomin A. Complementation and segregation behavior of disease causing mitochondrial DNA mutations in cellular model systems // *Biochem. Biophys. Acta.* 1995. V. 1271. P. 241–248.
31. Chinnery P.F., Thorburn D.R., Samuels D.C. et al. The inheritance of mtDNA heteroplasmy: random drift, selection or both? // *Trends. Genet.* 2000. V. 16. P. 500–505.
32. Chinnery P.F., Howell N., Lightowlers R.N., Turnbull D.M. MELAS and MERRF: the relationship between maternal mutation load and the frequency of clinically affected offspring // *Brain*. 1998. V. 121. P. 1889–1894.
33. Carelli V., Ghelli A., Ratta M. et al. Leber's hereditary optic neuropathy: biochemical effect of 11778/ND4 and 3460/ND1 mutations and correlations with the mitochondrial genotype // *Neurology*. 1997. V. 48. P. 1623–1623.
34. Howell N., Xu M., Halvorson S. et al. A heteroplasmic LHON family: tissue distribution and transmission of the 11778 mutation // *Am. J. Hum. Genet.* 1994. V. 55. P. 203–206.
35. Nachman M.W., Brown W.M., Stoneking M., Aquadro C.F. Nonneutral mitochondrial DNA variation in humans and chimpanzees // *Genetics*. 1996. V. 142. P. 953–963.
36. Krakauer D.C., Mira M. Mitochondria and germ-cell death // *Nature*. 1999. V. 400. P. 125–126.
37. Moilanen J.S., Majamaa K. Relative fitness of carriers of the mitochondrial DNA mutation 3243A > G // *Eur. J. Hum. Genet.* 2001. V. 9. P. 59–62.
38. Hart L.M., Jansen J.J., Lemkes H.H. et al. Heteroplasmy level of a mitochondrial gene mutation associated with diabetes mellitus decrease in leukocyte DNA upon aging // *Hum. Mut.* 1996. V. 7. P. 193–197.
39. Jackson M.J., Schaefer J.A., Johnson M.A. et al. Presentation and clinical investigation of mitochondrial respiratory chain disease. A study of 51 patients // *Brain*. 1995. V. 118. P. 339–357.

40. Kaufmann P., Koga Y., Shanske S. et al. Mitochondrial DNA and RNA processing in MELAS // *Ann. Neurol.* 1996. V. 40. P. 172–180.
41. Yanagisawa K., Uchigata Y., Sanaka M. et al. Mutation in the mitochondrial tRNA(Leu) at position 3243 and spontaneous abortions in Japanese women attending a clinic for diabetic pregnancies // *Diabetologia.* 1995. V. 38. P. 809–815.
42. Weber K., Wilson J.N., Taylor L., et al. A new mtDNA mutation showing accumulation with time and restriction to skeletal muscle // *Am. J. Hum. Genet.* 1997. V. 60. P. 373–380.
43. Chinnery P.F., Samuels D.S. Relaxed replication of mtDNA: a model with implications for the expression of disease // *Am. J. Hum. Genet.* 1999. V. 64. P. 1158–1165.
44. Elson J.L., Samuels D.S., Turnbull D.M., Chinnery P.F. Random intracellular drift explains the clonal expansion of mitochondrial DNA mutations with age // *Am. J. Hum. Genet.* 2001. V. 68. P. 802–806.
45. Taivassalo T., Fu K., Johns T. et al. Gene shifting: a novel therapy for mitochondrial myopathy // *Hum. Mol. Genet.* 1999. V. 8. P. 1047–1052.
46. Manfredi G., Gupta N., Vazquez-Memije M.E. et al. Oligomycin induces a decrease in the cellular content of a pathogenic mutation in the human mitochondrial ATPase 6 gene // *J. Biol. Chem.* 1999. V. 274. P. 9386–9391.
47. Taylor R.W., Wardell T.M., Lightowers R.N., Turnbull D.M. Molecular basis for treatment of mitochondrial myopathies // *Neurol. Sci.* 2000. V. 21. P. S909–S912.
48. Тёмин П.А., Никанорова М.Ю., Сухоруков В.С. Миоклонус эпилепсия с разорванными красными мышечными волокнами: клинический полиморфизм, вопросы диагностики и лечения // *Рос. вестн. перинатологии и педиатрии.* 1996. Т. 4. С. 35–41.
49. Тёмин П.А., Никанорова М.Ю., Николаева Е.А. Синдром MELAS (митохондриальная энцефаломиопатия, лактат-ацидоз, инсультоподобные эпизоды): основные проявления, критерии диагностики, возможности лечения // *Неврологический журн.* 1998. № 2. С. 43–48.
50. Краснополяская К.Д. Наследственные митохондриальные болезни: методические подходы к диагностике и лечению: Информационное письмо // *Бюл. Об-ва мед. генетиков.* 1997. № 1. С. 9–18.
51. Князев Ю.А., Краснополяская К.Д., Мятникова Е.И., Петрухин А.С. Митохондриальные болезни // *Вестн. АН РАМН.* 2000. № 7. С. 46–50.
52. Howell N., Kubacka I., Halvorson S., Mackey D. Leber's hereditary optic neuropathy: the etiological role of a mutation in the mitochondrial cytochrome b gene // *Genetics.* 1993. V. 133. P. 133–136.
53. Riordan-Eva P., Sanders M.D., Govan G.G. et al. The clinical features of Leber's hereditary optic neuropathy defined by the presence of a pathogenic mitochondrial DNA mutation // *Brain.* 1995. V. 118. P. 319–337.
54. Mackey D.A., Oostra R.J., Rosenberg T. et al. Primary pathogenic mtDNA mutations in multigeneration pedigrees with Leber hereditary optic neuropathy // *Am. J. Hum. Genet.* 1996. V. 59. P. 481–485.
55. Howell N., Bogolin C., Jamieson R. et al. mtDNA mutations that cause optic neuropathy: how do we know? // *Am. J. Hum. Genet.* 1998. V. 62. P. 196–201.
56. Thieme H., Wissinger B., Jandek C. et al. A pedigree of Leber's hereditary optic neuropathy with visual loss in childhood, primarily in girls // *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* 1999. V. 237. P. 714–719.
57. Mashima Y., Hiida Y., Oguchi Y. et al. High frequency of mutations at position 11778 in mitochondrial ND4 gene in Japanese families with Leber's hereditary optic neuropathy // *Hum. Genet.* 1993. V. 92. P. 101–102.
58. Jun A.S., Brown M.D., Wallace D.C. A mitochondrial DNA mutation at np 14459 of the ND6 gene associated with maternally inherited Leber's hereditary optic neuropathy and dystonia // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 1994. V. 91. P. 6206–6210.
59. Chinnery P.F., Brown D.T., Andrews R.M. et al. The mitochondrial ND6 gene is a hot spot for mutations that cause Leber's hereditary optic neuropathy // *Brain.* 2001. V. 124. P. 209–218.
60. Brown M.D., Zhadanov S.I., Allen J.C. et al. Novel mtDNA mutations and oxidative phosphorylation dysfunction in Russian LHON families // *Hum. Genet.* 2001. V. 109. P. 33–39.
61. Brown M.D., Starikovskaya E.B., Derbeneva O.A. et al. A new primary mutation associated with Caucasoïd haplogroup J // *Am. J. Hum. Genet.* 2002. V. 70.
62. Brown M.D., Torroni A., Reckord C.L., Wallace D.C. Phylogenetic analysis of Leber's hereditary optic neuropathy mitochondrial DNA's indicates multiple independent occurrences of the common mutations // *Hum. Mut.* 1995. V. 6. P. 311–325.
63. Estivill X., Govea N., Barcelo A. et al. Familial progressive sensorineural deafness is mainly due to the mtDNA A1555G mutation and is enhanced by treatment with aminoglycosides // *Am. J. Hum. Genet.* 1998. V. 62. P. 27–35.
64. Jaber L., Shohat M., Bu X. et al. Sensorineural deafness inherited as a tissue specific mitochondrial disorder // *J. Med. Genet.* 1992. V. 29. P. 86–90.
65. Prezant T.R., Agopian J.V., Bohlman M.C. et al. Mitochondrial ribosomal RNA mutation associated with both antibiotic-induced and non-syndromic deafness // *Nat. Genet.* 1993. V. 4. P. 289–294.
66. Mathis G., Claes S., Longo-Mbenza B., Cassiman J.-J. Non-syndromic deafness associated with a mutation and a polymorphism in the mitochondrial 12S ribosomal RNA gene in a large Zairean pedigree // *Eur. J. Hum. Genet.* 1996. V. 4. P. 46–51.
67. El-Schahawi M., Lopez de Munain A., Sarrazin A.M. et al. Two large Spanish pedigrees with non-syndromic sensorineural deafness and the mtDNA mutation at np 1555 in the 12S rRNA gene: evidence of heteroplasmy // *Neurology.* 1997. V. 48. P. 453–456.
68. Olsson C., Zethelius B., Lagerstrom-Fermer M. et al. Level of heteroplasmy for the mitochondrial mutation A3243G correlates with age at onset of diabetes and deafness // *Hum. Mut.* 1998. V. 12. P. 52–58.
69. White S.L., Collins V.R., Wolfe R. et al. Genetic counseling and prenatal diagnosis for the mitochondrial DNA mutations at nucleotide 8993 // *Am. J. Hum. Genet.* 1999. V. 65. P. 474–482.

70. Poulton J., Brown G.K. Investigation of mitochondrial disease // *Arch. Dis. Child.* 1993. V. 73. P. 94–97.
71. Poulton J., O’Rahilly S., Morten K.J., Clark A. Mitochondrial DNA, diabetes and pancreatic pathology in Kearns–Sayre syndrome // *Diabetologia.* 1995. V. 38. P. 868–871.
72. Ballinger S.W., Shoffner J.M., Hedaya E.V. et al. Maternally transmitted diabetes and deafness associated with a 10.4 kb mitochondrial DNA deletion // *Nat. Genet.* 1992. V. 1. P. 11–15.
73. Ballinger S.W., Shoffner J.M., Gebhart S. et al. Mitochondrial diabetes revisited // *Nat. Genet.* 1994. V. 7. P. 458–459.
74. Lestienne P., Ponsot G. Kearns–Sayre syndrome with muscle mitochondrial DNA deletion // *Lancet.* 1988. V. 1. P. 885.
75. Zeviani M., Moraes C.T., DiMauro S. et al. Deletions of mitochondrial DNA in Kearns–Sayre syndrome // *Neurology.* 1988. V. 38. P. 1339–1346.
76. Melov S., Shoffner J.M., Kaufman A., Wallace D.C. Marked increase in The number and variety of mitochondrial DNA rearrangement in aging human skeletal muscle // *Nucl. Acids Res.* 1995. V. 23. P. 4122–4126.
77. Lui V.W., Zhang C., Nagley P. Mutations in mitochondrial DNA accumulate differentially in three tissues during aging // *Nucl. Acids. Res.* 1998. V. 26. P. 1268–1275.
78. Kubota N., Hayashy J., Iwamura Y. Induction of a particular deletion in mitochondrial DNA by X-rays depends on the inherent radiosensitivity of the cells // *Radiat. Res.* 1997. V. 148. P. 395–398.
79. Nishino I., Spinazzola A., Hirano M. Thymidine phosphorilase gene mutations in MNGIE, a human mitochondrial disorder // *Science.* 1999. V. 283. P. 689–692.
80. Kaukonen J., Juselius J.K., Tiranti V. et al. Role of adenine nucleotide translocator 1 in mtDNA maintenance // *Science.* 2000. V. 289. P. 782–785.
81. Morgan-Hughes J.A., Hanna M.G. Mitochondrial encephalomyopathies: the enigma of genotype versus phenotype // *Biochim. Biophys. Acta.* 1999. V. 1410. P. 125–145.
82. Hedges S.B. Human evolution. A start for population genomics // *Nature.* 2000. V. 408. P. 652–653.
83. Lodi R., Montagna P., Cortelli P. et al. “Secondary” 4216/ND1 and 13708/ND5 Leber’s hereditary optic neuropathy mitochondrial DNA mutations do not further impair in vivo mitochondrial oxidative metabolism when associated with the 11778/ND4 mitochondrial DNA mutation // *Brain.* 200. V. 123. P. 1896–1902.
84. Torroni A., Petrozzi M., D’Urbano L. et al. Haplotype and phylogenetic analysis suggest that one European-specific mtDNA background plays a role in the expression of Leber hereditary optic neuropathy by increasing the penetrance of the primary mutations 11778 and 14484 // *Am. J. Hum. Genet.* 1997. V. 60. P. 1107–1121.
85. Sukernik R.I., Starikovskaya E.B., Torroni A. et al. Diffusion of neutral and deleterious mitochondrial genes throughout Siberia: implications for the history and nature of human evolution // *Biodiversity and dynamics of ecosystems in North Eurasia.* Novosibirsk: IC&G, 2000. P. 182–183.