

Т. Дж. Шурр, Ю. Б. Гречанина*, В. А. Гусар, Е. Я. Гречанина*, С. И. Жаданов**

Пенсильванский университет, 19104-6398 Филадельфия, США

**Украинский институт клинической генетики Харьковского национального медицинского университета,
61022 Харьков*

***Харьковский специализированный медико-генетический центр, 61022 Харьков*

МИТОХОНДРИАЛЬНЫЕ БОЛЕЗНИ В УКРАИНЕ: РОЛЬ МУТАЦИЙ МТДНК ПРИ СЛОЖНЫХ КЛИНИЧЕСКИХ СИНДРОМАХ И НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНЫХ БОЛЕЗНЯХ

Статья посвящена изучению геномного разнообразия как базы молекулярной эпидемиологии наследственных болезней. Исследования полиморфизма мтДНК в популяции украинцев дали возможность выявить геногеографические особенности митохондриальных заболеваний, оценить влияние генетического фона на их проявление и использовать распределение гаплотипов в качестве диагностической “матрицы” при обследовании пациентов с митохондриальной патологией. Развитие молекулярной диагностики позволяет не только распознавать новую наследственную патологию, но и находить мишени поражения при хорошо известных, но неизлечимых болезнях.

Ключевые слова: митохондриальные болезни, мутации мтДНК, наследственные болезни.

После завершения проекта “Геном человека” особую актуальность приобретают исследования межиндивидуальных и межпопуляционных генетических различий человека, которые основаны на анализе ДНК-маркеров. Изучение геномного разнообразия позволяет не только решать эволюционно-генетические задачи, но и является базой для молекулярной эпидемиологии наследственных болезней, генетики мультифакторных заболеваний, генетического картирования.

Использование современных филогеографического и филогенетического подходов позволяет с высокой степенью разрешения выявлять структуру генофонда популяции, проследивать древние миграции, изучать геногеографические особенности распространения заболеваний в популяции [35]. В соответствии с современными представлениями, наиболее подходящими для исследования объектами являются участки генома, в которых

практически отсутствует рекомбинация: митохондриальная ДНК (мтДНК) и нерекombинирующая часть Y-хромосомы. Изменчивость данных маркеров связана исключительно с постепенным накоплением мутаций, а отсутствие рекомбинации позволяет с помощью филогенетического анализа восстановить последовательность мутационных событий, сформировавших гаплотип, и проследить происхождение и географическое распространение каждой отдельной линии [37].

Одним из важных аспектов исследования митохондриального генома является изучение влияния популяционных полиморфизмов (генетический фон) на экспрессию патогенных мутаций и проявление митохондриальной болезни [35]. Установлено, что наследственная зрительная нейропатия Лебера, отличающаяся чрезвычайно широким спектром мутаций мтДНК, гораздо чаще проявляется на фоне гаплогруппы J [34,37]. Выявлена положительная

Пенсильванский университет

Отдел антропологии

Т. Дж. Шурр — профессор отдела, PhD

.С. И. Жаданов — н.с., PhD

Украинский институт клинической генетики

Е. Я. Гречанина — директор, чл.-кор. НАМН Украины (mgc@ukr.net)

Ю. Б. Гречанина — с.н.с., к.м.н.

Харьковский специализированный медико-генетический центр

В. А. Гусар — зав. лаб. молекулярной диагностики, к.м.н.

© Т. Дж. Шурр, Ю. Б. Гречанина, В. А. Гусар, Е. Я. Гречанина, С. И. Жаданов, 2012.

связь между наличием полиморфизма, характерного для субгаплогруппы *H1*, и повышенным риском развития признаков болезней Альцгеймера и Паркинсона [22,28,33]. Поэтому молекулярный анализ как нейтральных, так и слабopatогенных мутаций мтДНК, которые последовательно накапливаются в материнских филогенетических линиях, приобретает первостепенное значение.

Согласно стандартной модели эволюции митохондриального генома человека современного вида, подавляющее большинство мутаций мтДНК в зародышевых линиях селективно нейтральны. Они последовательно накапливались в материнских филогенетических линиях с момента его происхождения и последующего расселения по земному шару [16,17,37,38]. Однако в последнее время появляется все больше данных, свидетельствующих о том, что эволюционно информативные нуклеотидные замены, сами по себе являясь селективно нейтральными, могут существенно влиять на пенетрантность патогенных мутаций. Вполне вероятно, что некоторые варианты мтДНК, обладавшие адаптивным преимуществом в прошлом (позитивные мутации), ныне предрасполагают к развитию митохондриальных болезней (негативные мутации) [32].

Система окислительного фосфорилирования обладает двойкой функциональной способностью — обеспечивает клетки энергией в форме АТФ и вырабатывает тепло для терморегуляции. С одной стороны, 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 [37]. С другой стороны, патогенная мутация мтДНК снижала выход энергии, что, как правило, приводило к избыточному накоплению свободных радикалов кислорода и окислительному стрессу, и как следствие — к нарушению проницаемости внутренней мембраны митохондрий и активации факторов, инициирующих апоптоз клетки [15].

В пользу первого предположения указывает тот факт, что наследственная болезнь Лебера гораздо чаще проявляется на фоне гаплогруппы *J*. Выяснилось, что нейтральные нуклеотидные замены 4216С и 1370А, свойственные гаплогруппе *J*, в сочетании со слабopедными основными мутациями в позициях 11778А и 14484С многократно повышают риск развития болезни, в то время как на фоне других гаплогрупп эти мутации остаются безвредными [34]. Наследственная болезнь Лебера, характеризующаяся чрезвычайно широким спектром мутаций мтДНК и сравнительно повышенной частотой встречаемости среди других митохондри-

альных синдромов, может быть представлена в качестве идеальной модели для изучения роли слабopatогенных мутаций мтДНК в эволюции человека современного вида [30,34]. Такая модель позволяет интегрировать в филогенетическом анализе совокупность всех данных по изменчивости мтДНК.

Некоторые корреляции были также установлены и для носителей других гаплогрупп, в частности гаплогруппы *T*; среди них повышено число мужчин, страдающих бесплодием из-за сниженной подвижности сперматозоидов [25], а принадлежность к гаплогруппе *C* положительно коррелирует с продолжительностью жизни [31]. Для субгаплогруппы *H1* была показана положительная связь между присутствием полиморфизма тРНК^{Gln} 4336 мтДНК и повышенным риском развития признаков болезни Альцгеймера и Паркинсона [22,28,33], для гаплогруппы *U* описано влияние на фенотип атаксии Фридрейха [14].

При анализе нуклеотидных последовательностей мтДНК были выделены три группы вариантов: нейтральные (синонимичные и слабо консервативные несинонимичные аминокислотные замены), вредные (изменяющие высококонсервативные аминокислотные последовательности и располагающиеся на концах ветвей филогенетического древа, что указывает на их недавнее происхождение), адаптивные (изменяющие высококонсервативные аминокислотные последовательности и локализованные внутри филогенетического древа. Они являются древними) [35].

При изучении уровня мутационных замен, которые возникали в процессе климатической адаптации по мере географического распространения митохондриальных линий, ученые пришли к выводу, что последовательность в гене АТФ 6 мтДНК высоковариабельна в арктической зоне, цитохрома *b* — в умеренной зоне, цитохром *c*-оксидазы I — в тропической зоне [22,35]. Для каждой из гаплогрупп был рассчитан свой уровень мутационных замен. Для европейской гаплогруппы *H* он составляет 0,48, для *J* — 0,66, для *I*, *W*, *X* — 0,63, для *T* — 0,31 [35]. Это имеет большое значение при идентификации характера митохондриальных нарушений у больных из указанных географических зон и определении направления коррекции специфическими препаратами (например, цитохромоксидазой) как компонентом патогенетического лечения.

При исследовании влияния мутаций в гипервариабельном сегменте I (ГВС I) на изменчивость мтДНК было установлено, что повышенный уровень мутагенеза характерен для GC-обогащенных палиндромных участков и поли-C-трактов (так называемый полинуклеотидный контекст) [5], а

существование “горячих точек” мтДНК предполагает влияние мутаций в этих позициях на интенсивность мутационных процессов в других участках мтДНК [19]. Так, вариант 16189 вызывает обратную мутацию $T \rightarrow C$ в позиции 16192 в типах мтДНК, относящихся к группе U5. Вариант 16294 повышает скорость обратных мутаций $T \rightarrow C$ в позициях 16292 и 16296 в типах мтДНК, принадлежащих группе T [6]. В случае некодирующего региона мтДНК одним из факторов появления гипервариабельных сайтов также является влияние полинуклеотидного контекста на частоту мутаций. Некодирующая область мтДНК характеризуется высоким содержанием мононуклеотидных трактов, GC-обогащенных палиндромных участков, прямых и инвертированных повторов. Все эти элементы существенно влияют на повышение темпа мутирования и могут обуславливать высокую частоту возникновения спорадических случаев митохондриальных болезней [3,6].

Для изучения полиморфизма мтДНК перво-степенное значение приобретает полное секвенирование индивидуальных геномов мтДНК пробандов, здоровых носителей и выборочной совокупности из контрольной популяции. Эти данные полезны для лучшего понимания молекулярных механизмов возникновения митохондриальных болезней, оценки влияния генетического фона на их проявление и клинические особенности, значения скорости мутирования различных нуклеотидных сайтов кодирующего региона мтДНК при отборе в эволюционной истории человека [12,16,18].

В Харьковском специализированном медико-генетическом Центре (ХСМГЦ) проблема митохондриальных заболеваний изучается с 1992 г., что создало основу для проведения первых исследований митохондриального генома в Украине. Определение популяционных характеристик полиморфизма ГВС I контрольного региона мтДНК в сочетании с рестрикционным и филогенетическим анализом индивидуальных геномов мтДНК пробандов с высоким риском митохондриальной патологии представляется обоснованным подходом для эффективной интеграции параметров митохондриальных гаплотипов в практику прогнозирования, диагностики и адекватного лечения митохондриальных заболеваний.

Митохондриальные заболевания представляют собой обширную, сравнительно недавно обособленную гетерогенную группу болезней с полиморфизмом клинических проявлений, объединить которую позволяет общность этиопатогенетических факторов развития. Описание таких нарушений можно встретить как среди наследственных болезней с классическим характером наследования,

так и в разделе синдромов неясного, мультифакторного генеза. Сегодня понятие митохондриальных заболеваний охватывает обширный спектр клинической патологии (часто с тяжелым прогрессивным течением), приводящей к выраженной инвалидизации и резистентности к лечению. Такая группа разнородна и включает в себя большое число заболеваний нервной и мышечной систем, органа зрения, сердца, почек, эндокринных органов. Предполагается, что митохондриальные заболевания могут быть одним из наиболее часто встречающихся классов дегенеративных болезней, что объясняет необходимость их включения в рамки дифференциальной диагностики в клинике [40,41].

Большое число клеточных копий мтДНК и цитоплазматическая локализация митохондрий определяют уникальные особенности митохондриальных заболеваний и всей митохондриальной генетики, знание которых позволяет понять особенности экспрессии группы митохондриопатий и облегчает их дифференциальную диагностику.

Материнское наследование мтДНК является общей особенностью типа наследования у всех позвоночных (в том числе у человека) и отличает его от классического, менделевского типа наследования, присущего ядерным генам. Физиологический механизм материнского характера наследования состоит в том, что во время оплодотворения при проникновении в яйцеклетку сперматозоид утрачивает хвост с митохондриями и мтДНК, или же последняя селективно элиминируется. Таким образом, в оплодотворении участвует лишь ядерная ДНК спермия. Подобный механизм приводит к тому, что патогенные мутации мтДНК и вызываемые ими клинические фенотипы передаются лишь от матери всем ее детям. За редкими исключениями, случаев отцовской передачи задокументировано не было.

Каждая клетка человека содержит сотни митохондрий и тысячи мтДНК, в среднем от 2 до 10 на каждую органеллу. В обычных условиях клеточная мтДНК гомоплазмична, т. е. все клетки имеют мтДНК одинаковой последовательности. При возникновении мутации в мтДНК состав молекул становится неоднородным; такое состояние называется гетероплазмией и в большей степени характерно для патологических мутаций, которые редко фиксируются в популяции и представлены независимыми мутационными событиями. Во время деления клетки с гетероплазмией процесс распределения мутантной мтДНК в ту или иную дочерние клетки случаен. Таким образом, в исходе многократных клеточных делений состав мутантных мтДНК в различных клеточных линиях может дрейфовать в направлении

только мутантного или исключительно дикого типа. Этот процесс получил название репликативной сегрегации (РС). Феномен РС может иметь место в соматических клетках и в клетках зародышевых путей, объясняя различия в пропорции мутантных молекул мтДНК и фенотипические различия как между потомством, так и между различными тканями и органами одного индивида. При этом в ряде случаев смена митохондриального генотипа может происходить в течение одного поколения.

Случайный характер РС не позволяет в настоящее время достоверно предсказать уровень мутантных молекул мтДНК и вероятный риск экспрессии фенотипа, что значительно ограничивает возможности медико-генетического консультирования. Процесс РС может приводить к различному процентному соотношению мутантных молекул в тканях организма, что, в свою очередь, формирует наблюдаемое варьирование клинических симптомов поражения различных органов у больных даже в пределах одной семьи.

Изучение родословных человека с патогенными мутациями мтДНК обнаруживает преобладание симптомов поражения нервной и мышечной системы в клинической картине митохондриопатии. Действительно, различная чувствительность тканей к повреждающему действию мутаций мтДНК может быть обусловлена комбинированным влиянием феномена РС, патогенности мтДНК мутации, различий в энергетической потребности органов и тканей, а также различий в их способности компенсировать клеточное повреждение.

Минимальный уровень продукции АТФ, необходимый для поддержания базисных клеточных функций, варьирует для разных тканей. До тех пор пока пропорция нормальных мтДНК остается в пределах количества, достаточного для поддержания функционирующей дыхательной цепи ферментов и производства необходимого уровня энергии, клеточный фенотип остается неизменным. В случае когда пропорция мутантных мтДНК превышает известный уровень (или порог), происходит быстрая смена клеточного фенотипа на аномальный.

Если органы и ткани проранжировать по степени зависимости от активности системы окислительного фосфорилирования митохондрий, то наибольшей обладает центральная нервная система, а далее в порядке убывания следуют миокард, скелетные мышцы, почки, эндокринные органы и печень. Это отчасти объясняет более частое их поражение при внутриклеточном дефиците энергии, например в результате патогенной мутации мтДНК. Известно, что продукция АТФ цепью ферментов дыхательной цепи снижается с возрастом.

Важным механизмом этого предполагается процесс накопления мутаций мтДНК в соматических тканях как результат пролонгированного действия свободных радикалов. Гетерогенные классы мутаций мтДНК увеличиваются с возрастом в тканях головного мозга, сердца, скелетных мышц, печени, почек и других тканях. Эти наблюдения поддерживают гипотезу снижения активности цепи окислительного фосфорилирования с возрастом. Предположительно, накопление повреждений мтДНК может вносить свой вклад в прогрессирование и экспрессию митохондриальных заболеваний различных классов, а также, вероятно, лежит в основе процессов старения организма.

Геном митохондрий обладает значительно большей скоростью мутирования по сравнению с ядерным. Замещающие точечные мутации в генах мтДНК фиксируются в 6-17 раз быстрее, чем в аналогичных в функциональном отношении ядерных генах. Поскольку эволюционная консервативность митохондриальных генов сравнима с таковой для ядерных, то именно высокая скорость мутирования предполагает, что патогенные мутации более вероятны для митохондриальной, чем для ядерной ДНК.

Эта особенность мтДНК наряду с высокой зависимостью практически всех органов и тканей от процессов синтеза АТФ объясняет широкое распространение болезней энергетического обмена и предполагает роль генетических дефектов мтДНК в патофизиологических механизмах прогрессии многих наследственных дегенеративных заболеваний (ИБС, болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона и др.) и в процессах старения организма.

Перечисленные выше особенности позволяют выделить следующие общие характерные черты митохондриальных заболеваний, что облегчает проведение необходимой дифференциальной диагностики.

1. Полисиндромность поражений с более частым вовлечением нервной системы, органа зрения, сердца и соматической мускулатуры.
2. Поздняя экспрессия, большинство заболеваний имеют неврожденный характер и начинаются в детском и молодом возрасте.
3. Прогрессиентность течения с отрицательной динамикой и нарастанием симптомов поражения различных органов и систем.
4. Традиционные лечебные мероприятия, как правило, малоэффективны.
5. Нарушение системы окислительного фосфорилирования может иметь семейный характер с присутствием нескольких больных в родословных.

Атипичное течение ряда распространенных заболеваний может свидетельствовать о митохон-

Таблица 1

Атипичные признаки, которые могут свидетельствовать о митохондриальной природе синдрома

Диагноз	Атипичные признаки	Дефект мтДНК
Аутизм	Судороги	Перестройки мтДНК
Задержка речевого развития	Повышение уровня лактата плазмы	MELAS
Лейкемия	Матерински наследуемая тромбоцитопения	Перестройки мтДНК
Лейкодистрофия	Мышечная гипотония	Перестройки мтДНК
Мигрень	Снижение слуха, инсульты, диабет	MELAS
Миоклоническая эпилепсия	Миопатия	MERRF
Мозговые инсульты	Молодой возраст	MELAS
Печеночная недостаточность	Отсутствие вирусных маркеров, повышение лактата плазмы	Мутации мтДНК
Пигментная ретинопатия	Неврологические расстройства	NARP
Поперечные блокады сердца	Детский и молодой возраст	Мутации мтДНК
Почечный канальцевый ацидоз	Повышение лактата, гипотония	Мутации мтДНК
Птоз, офтальмоплегия	Сердечные блокады	CPEO
Раннее снижение слуха	Возраст 20-40 лет	MELAS
Рассеянный склероз	Судороги	Мутации мтДНК
Сердечная недостаточность	Начало до 50 лет, гипертрофическая кардиомиопатия	Мутации мтДНК
Синдром внезапной детской смерти (SIDS)	Гипогликемия	MCAD
Слепота	Атрофия зрительного нерва, дистония	LHON
Сахарный диабет II типа	Тугоухость	MELAS
Хронический панкреатит	Инсультподобные эпизоды или тромбоцито/лейкопения	Перестройки мтДНК, MELAS
Шизофрения	Судороги	MELAS
Эпилепсия	Внезапное начало в 1-8 лет на фоне или после инфекции, ночные эпизоды, нефокальная ЭЭГ	Перестройки мтДНК

Примечания: MELAS — митохондриальная энцефаломиопатия, лактат-ацидоз, инсультподобные эпизоды, MERRF — миоклонус-эпилепсия и синдром красных рваных волокон, NARP — нейропатия с атаксией и пигментным ретинитом, CPEO — хроническая прогрессирующая офтальмоплегия, MCAD — дефицит ацил-КоА-дегидрогеназы жирных кислот со средней длиной цепи, LHON — наследственная зрительная нейропатия Лебера (по данным "Mitochondrial and metabolic disorders, a parent's guide". — EP Foundation for Education, Inc. and EP Magazine, 2003. — 32 p. с изменениями)

дриальной природе развития синдрома (табл. 1).

Необходимость исследования полиморфизма мтДНК в контингенте пациентов с клинически установленной митохондриальной патологией была обусловлена данными о высокой вероятности влияния эволюционно нейтральных нуклеотидных замен на пенетрантность патогенных мутаций и экспрессию митохондриальных заболеваний [34,36]. Для проверки данного предположения исследовали полиморфизм индивидуальных геномов мтДНК у больных с клинико-лабораторными признаками митохондриальной патологии.

Материал и методы. Для исследования полиморфизма индивидуальных геномов мтДНК

использовали образцы периферической крови 50 пациентов (клинически гетерогенная группа) из 182, состоящих на учете в ХСМГЦ с клиническим диагнозом "Митохондриальная болезнь". Диагноз был установлен на основании клинико-генетических, клинико-генеалогических и сомато-генетических исследований. Молекулярно-генетические исследования проводились в Пенсильванском университете (Филадельфия, США) и в лаборатории молекулярной диагностики ХСМГЦ.

Исследование полиморфизма мтДНК проводили в несколько этапов.

1. Выделение ДНК из образцов крови с использованием методов фенол-хлороформной экстракции

[26] и солевой преципитации, согласно инструкции фирмы-производителя. Оценку продуктов амплификации ГВС I мтДНК проводили в 2 % агарозном геле.

2. Нуклеотидные последовательности ГВС I контрольного региона и кодирующей области мтДНК определяли с помощью секвенирования на автоматическом секвенаторе ABI 3730 с использованием набора *Big Dye Terminator v3.1 cycle sequencing Kit* (Applied Biosystems, США). Продукты ПЦР для проведения секвенсированной реакции очищали с помощью "QIAEX II" (Qiagen, ФРГ) (1/9-*Exonuclease I/SAP*). Разделение продуктов реакции проводили в 4,75 % полиакриламидном геле. Для выравнивания нуклеотидных последовательностей и детекции нуклеотидных замен использовали программу "Sequence Navigator" (Applied Biosystems).
3. С помощью анализа полиморфизма длины рестриционных фрагментов (ПДРФ) определяли гаплогруппы в соответствии с классификацией гаплотипов мтДНК [20]. Использовали следующие рестриционные ферменты: *Alu I*, *Nla III*, *Hinf I*, *BstO I* (*MVA I*), *Acc I*, *Bst I*, *Hae III*, *BSU R I*, *Ava II*, *Tas I*, *MSE I* (*TRU II*), *Hae III*. Оценку продуктов рестрикции проводили в 2-3 % агарозном геле.

Построение медианных сетей осуществляли с использованием алгоритма *Reduced Median* с помощью программы *Network 3.1.1.1* [9]. Для оценки генетического разнообразия изучаемых выборок использовался пакет статистических программ для популяционной генетики *Arlequin ver 3.01* (<http://cmpg.unibe.ch/software/arlequin3>), включающий в себя показатели молекулярного разнообразия нуклеотидных последовательностей (D и θ_p), тест на селективную нейтральность (*Tajima's neutrality test*, D). Для сравнительного анализа использовали информацию о нуклеотидных последовательностях ГВС I контрольного региона и о рестриционном полиморфизме кодирующего региона мтДНК в других европейских и азиатских популяциях [4,21,24].

Результаты и их обсуждение. В выборке пациентов ($n = 50$) выявлено 55 полиморфных позиций (51 транзигия, 4 трансверсии). Транзигии представлены с преобладанием пиримидиновых замен ($C \rightarrow T$, $T \rightarrow C$) над пуриновыми ($A \rightarrow G$, $G \rightarrow A$) в таком процентном соотношении: C — 40,73 %, T — 27,90 %, A — 23,05 %, G — 8,32 %. Определены наиболее вариабельные позиции ГВС I мтДНК — 16189 и 16294. Полученные результаты исследования полиморфных позиций согласуются с данными [6], которые связывают характерную для них нестабиль-

ность с повышенной скоростью обратных мутаций в соседних нуклеотидных позициях, что, в свою очередь, обуславливает высокую частоту спорадических случаев митохондриальных болезней [3].

Характеристика больных с полиморфизмами мтДНК. Клиническая, биохимическая и цитогенетическая оценка больных с выявленными полиморфными генами мтДНК позволила определить характер фенотипических проявлений. Отмечены характерные для митохондриальной патологии основные признаки: прогрессивный характер течения патологии, множественность поражений, преобладающие изменения энерготропных органов.

В группе больных с митохондриальными полиморфизмами наиболее значимыми были следующие изменения: органа зрения (62,16 %), нервной системы (62,16 %), позвоночника (45,95 %), пищеварительной системы (40,54 %), сердечно-сосудистой системы (35,14 %), грудной клетки (32,43 %), ушных раковин (29,73 %), верхних конечностей (29,73 %), изменения кожи (27,03 %), нижних конечностей (27,03 %), черепа, носа, мочевыделительной системы (24,32 %), дыхательной системы (21,62 %), лица (21,62 %), зубов (18,92 %), щитовидной железы, верхней и нижней челюсти (13,51 %), волос, мышц, языка, половой системы (10,81 %), нёба (8,11 %), ногтей, подкожной клетчатки, губ, полости рта, селезенки, вилочковой железы (5,41 %), шеи (2,7 %).

Нерезко были выражены изменения: губ и полости рта (48,65 %), нёба и мышц (43,24 %), кожи (40,54 %), ушных раковин (37,84 %), лица (35,14 %), носа (29,73 %), грудной клетки, черепа и лица (27,03 %), мочевыделительной системы (21,62 %), волос, офтальмологической системы (18,92 %), нервной системы (16,22 %), зубов, нижних конечностей (13,51 %), ногтей, подкожной клетчатки (10,81 %), щитовидной железы (8,11 %), верхних и нижних конечностей, языка, сердечно-сосудистой системы (5,41 %), дыхательной системы, позвоночника, живота, таза (2,7 %).

Биохимические анализы крови имели свои особенности. Так, были увеличены значения показателей лактатдегидрогеназы (8,11 %), АСТ (5,41 %), пирувата, креатинкиназы, щелочной фосфатазы (2,7 %); у 2,7 % пациентов был снижен уровень лактата и общего холестерина.

Отмечено повышение в крови уровня некоторых аминокислот, определяемых с помощью ВЭЖХ: аспарагина — у 8,11 % больных, серина, глутамина, пролина, аргинина — у 5,41 %, аланина, α -аминомасляной кислоты, гидроксипролина — у 2,7 %; наблюдалось снижение уровня треонина, фенилаланина, лизина, аланина, глицина — у

5,41 %, глутамина, тирозина, лейцина, гистидина, аспарагина — у 2,7 % больных.

Нами была предпринята попытка изучить ассоциации отдельных органопатий с определенными полиморфизмами (табл. 2). Полученные данные подтверждают преимущественную вовлеченность энерготропных органов — центральной нервной системы, мышечной, скелетной, эндокринной и сердечно-сосудистой систем.

Отмечено наибольшее вовлечение органов и систем в патологический процесс при полиморфизмах (тРНК-лизин) (8697G/A, 8860G, 8701A/G, 8856G/A, 8860A (CRS), 8251G/A, 8472C/T, 8448T/C, 8994G/A, 8337T/C, 8794C/T, 8584G/A, 8701A/G) и при аминокислотной замене (тРНК-лизин) (*syn, Thr/Ala, Pro/Leu2, Met/Val, Met/Thr, His/Tyr, Ala/Thr*).

Полученные данные подтверждают клиническую значимость полиморфизмов в формировании клинических проявлений, свойственных митохондриальным нарушениям.

Показатели генетического разнообразия в выборке пациентов. При исследовании 50 пациентов выявлено 36 гаплотипов мтДНК (у 72,0 % больных). Носители уникальных гаплотипов составили 60,0 %. Наиболее часто встречающийся гаплотип (14,0 %) соответствует CRS [8]. Показатели генетического разнообразия исследуемой выборки составили: $D = 0,990 \pm 0,007$ и $\theta_{\pi} = 6,13$.

Проведен сравнительный анализ параметров мтДНК в выборках пациентов и контрольной группы (90 чел. из популяционной выборки). В контрольной выборке выявлено 62 гаплотипа мтДНК (у 68,0 % чел.). Носителей уникальных гаплотипов было 56,6 %. Наиболее часто встречающийся гаплотип (11,0 %) соответствует CRS [8]. Индексы генетического разнообразия — $D = 0,990 \pm 0,004$ и $\theta_{\pi} = 5,18$ — совпадали с результатами исследования больных с митохондриальной патологией. Полученные параметры структуры мтДНК в выборках пациентов и контроля свидетельствуют о высоком уровне генетического разнообразия в исследуемой украинской популяции. Для европейских популяций значения этих показателей значительно ниже ($D = 0,960$, $\theta_{\pi} = 3,87$) [23,29].

С целью углубления представлений о степени генетической изменчивости и нейтральности полиморфизмов мтДНК по отношению друг к другу проведен сравнительный анализ показателей генетического разнообразия с использованием Таджима-теста (<http://cmpg.unibe.ch/software/arlequin3>). Получены отрицательные значения как для выборки пациентов ($D = -1,777$), так и для контрольной группы ($D = -2,006$). Несмотря на при-

надлежность пациентов и контроля к одной популяции, показатели в выборке пациентов демонстрировали сходство с популяцией итальянцев ($D = -1,771$) и баварцев ($D = -1,783$), а в контрольной выборке — с популяцией тосканцев ($D = -2,025$), албанцев ($D = -2,031$) и жителей Сардинии ($D = -2,035$) [10]. Выявленные отличия в выборках пациентов и контроля могут свидетельствовать о высоком уровне генетической гетерогенности митохондриопатий в изученной украинской популяции. Однако это предположение требует специальной проверки.

Определение полиморфизма кодирующего региона мтДНК в выборке пациентов. Принимая во внимание значительный полиморфизм гипервариабельных позиций мтДНК [5,6] и высокую вероятность его модифицирующего влияния на клиническое течение митохондриопатий, а также характер полиорганных поражений [1], проведен секвенирующий анализ генов тРНК^{lys} и тРНК^{leu}, располагающихся в кодирующем регионе мтДНК. Мутации в этих генах признаны в качестве основной причины целого ряда тяжелых нейромышечных заболеваний [27]. Две мутации с дефектом в I комплексе дыхательной цепи — MELAS3243G и MERRF8344G, которые встречаются намного чаще, чем остальные [12,39], в исследуемой выборке не были найдены. Наряду с этим в генах тРНК^{lys} и тРНК^{leu} обнаружены полиморфизмы: 21 гомоплазмичная позиция, из которой 13 были синонимичные и 8 несинонимичные (3505A/G *Thr*→*Ala*, 8448T/C *Met*→*Thr*, 8472C/T *Pro*→*Leu2*, 8584G/A *Ala*→*Thr*, 8701A/G *Thr*→*Ala*, 8794C/T *His*→*Tyr*, 8836A/G *Met*→*Val*, 8860A/G *Thr*→*Ala*).

В гене тРНК^{lys} выявлены дополнительные полиморфизмы, характерные для определенного типа ГВС I мтДНК: для группы H — 8448T/C, группы U — 8337T/C, группы J — 8018T/C, группы T — 8697G/A, группы W — 8614T/C, 8610T/C, 8251G/A, 8994G/A, группы X — 8701A/G, группы N1b — 8251G/A, группы N1a — 8164C/T, группы A — 8856G/A, группы C — 8584G/A. Полученные результаты соответствуют приведенным в литературе [13,18].

У индивидов с типами ГВС I мтДНК, относящимся к гаплогруппе U и ее субкластерам, в гене тРНК^{leu} обнаружено наибольшее число случаев полиморфизма 3197T/C, который является предковым для данной гаплогруппы [13]. Он не был выявлен ни в одном из других типов ГВС I, за исключением типа, определяющего гаплогруппу X. Другие полиморфизмы в гене тРНК^{leu} были обнаружены в типах ГВС I, с принадлежностью к разным гаплогруппам.

Таблица 2

Органопатии, ассоциированные с генами тРНК-лейцин и тРНК-лизин

Органопатии	тРНК-лейцин			тРНК-лизин		
	поли-морфизм	новая мутация	АК замена	поли-морфизм	новая мутация	АК замена
Энцефалопатия, миопатия, нарушения ЖКТ				8697G/A 8860G		<i>syn</i> <i>Thr/Ala</i>
Миопатия, энцефалопатия		3594C/T	<i>syn</i>	8701A/G 8860G		<i>Thr/Ala</i> <i>Thr/Ala</i>
Энцефалопатия	3197T/C			8860G		<i>Thr/Ala</i>
Энцефалопатия*				нет		
Энцефалопатия, миопатия				8856G/A 8860G		<i>syn</i> <i>Thr/Ala</i>
Скелетные нарушения, невынашивание, офтальмопатия*						
Энцефалопатия				8860G		<i>Thr/Ala</i>
Скелетные нарушения, энцефалопатия, миопатия				8697G/A 8860G		<i>syn</i> <i>Thr/Ala</i>
Энцефалопатия, скелетные нарушения	3197T/C			8860G		<i>Thr/Ala</i>
Скелетные нарушения, энцефалопатия				8697G/A 8860G		<i>syn</i> <i>Thr/Ala</i>
Скелетные нарушения, энцефалопатия, нарушения ЖКТ, миопатия				8860A (CRS)		-
Энцефалопатия, миопатия		3624A/G	<i>syn</i>	8860G	9018T/C	<i>Thr/Ala</i> <i>syn</i>
Энцефалопатия	3336T/C				8164C/T	<i>syn</i>
Энцефалопатия, миопатия, офтальмопатия	3336T/C				8164C/T	<i>syn</i>
Энцефалопатия, миопатия				8860A (CRS)		-
Миопатия, энцефалопатия				8251G/A		<i>syn</i> <i>Pro/</i> <i>Leu2</i>
				8472C/T 8860G	8836A/G	<i>Thr/Ala</i> <i>Met/</i> <i>Val</i>
Миопатия, скелетные нарушения, энцефалопатия				8697G/A 8860G		<i>syn</i> <i>Thr/Ala</i>
Миопатия, энцефалопатия				8697G/A 8860G		<i>syn</i> <i>Thr/Ala</i>
Энцефалопатия, офтальмопатия, миопатия, нарушения ЖКТ				8860G		<i>Thr/Ala</i>
Офтальмопатия*						
Офтальмопатия, энцефалопатия, скелетные нарушения *						
Офтальмопатия, миопатия*						
Офтальмопатия, энцефалопатия, миопатия*						
Офтальмопатия, кардиопатия, энцефалопатия		3705G/A	<i>syn</i>			
Офтальмопатия, скелетные нарушения, энцефалопатия, кардиопатия	3197T/C					
Офтальмопатия, энцефалопатия				8860G		<i>Thr/Ala</i>
Энцефалопатия *						
Офтальмопатия, энцефалопатия, анемия				8697G/A 8860G		<i>syn</i> <i>Thr/Ala</i>
Офтальмопатия, энцефалопатия				8448T/C 8860G		<i>Met/Thr</i> <i>Thr/Ala</i>

Офтальмопатия, энцефалопатия, кардиопатия	3505A/G	Thr/ Ala	8251G/A 8860G 8994G/A	8610T/C 8614T/C	syn Thr/Ala syn syn syn
Офтальмопатия, энцефалопатия, кардиопатия			8860G		Thr/Ala
Офтальмопатия, энцефалопатия, миопатия			8860G		Thr/Ala
Офтальмопатия, нейросенсорная приглуховатость, миопатия			8448T/C 8860G		Thr/Ala
Энцефалопатия			8860G		Thr/Ala
Энцефалопатия, миопатия	3197T/C	3305A/G	нет 8337T/C 8860G		Thr/Ala Thr/Ala
Миопатия, энцефалопатия, кардиопатия			8337T/C 8860G		Thr/Ala
Миопатия, нарушения ЖКТ, энцефалопатия, тубулопатия	3197T/C		8860G		Thr/Ala
Энцефалопатия, кардиопатия			8860G		Thr/Ala
Энцефалопатия *					
Энцефалопатия, миопатия, скелетные нарушения			8860G		Thr/Ala
Иммунодефицит, энцефалопатия, миопатия, кардиопатия			8794C/T 8860G	8865G/A	His/Tyr Thr/Ala syn
Тубулопатия, кардиопатия, энцефалопатия, дисфункция иммунитета			8860G	8592G/A	Thr/Ala syn
Энцефалопатия, миопатия	3552T/A		8584G/A 8701A/G 8860G		Ala/Thr Thr/Ala Thr/Ala
Энцефалопатия, миопатия, эндокринопатия			8860G		Thr/Ala

Примечание: * — мутации не найдены.

группам: H — 3705G/A, J — 3624A/G, X — 3594C/T, N1a — 3336T/C, C — 3552T/A.

Учитывая данные о высоком уровне мутационных замен, которые возникали в процессе климатической адаптации по мере географического распространения митохондриальных линий (для европейских гаплогрупп: H — 0,48, J — 0,66, I, W, X — 0,63, T — 0,31) [35], проведено выборочное секвенирование кодирующего региона мтДНК у трех пациентов с типами ГВС I, которые определяют гаплогруппы H, T и X. У пациента с гаплогруппой H (16304G) выявлены полиморфизмы 8860G, 15326A/G и найдена мутация 14553C/T (Val→Ile) в слабоконсервативном участке комплекса ND6, роль которой до конца неясна. У пациента с гаплогруппой T (16126-16209-16294-16296) выявлен широкий спектр популяционных полиморфизмов [13]: 1888G/A, 8697G/A, 8860G, 11251A/G, 11719G/A, 11812A/G, 14766C/T, 14905G/A, 15326A/G, 15452C/A, 15607A/G, 15928G/A. У пациента с гаплогруппой X (16126-16189A-16223-16278) выявлены полиморфизмы 14470T/C, 1719G/A и найдена новая мутация в эволюционно консервативной области комплекса ND5 12706C (Phe→Leu). Мутация отсутствовала в тканях матери пробанда, но была обнаружена в тканях пациента в состоянии гетероплазмии (мута-

ционный порог ~50 %) [40], что может свидетельствовать о вероятном возникновении мутации 12706C *de novo* в процессе гаметогенеза матери пробанда. Данная мутация является частой генетической причиной нейродегенеративных расстройств с поздней манифестацией (например болезнь Паркинсона) и наряду с этим ассоциируется с тяжелыми неврологическими состояниями у младенцев и детей грудного возраста, которые клинически чаще всего проявляются в виде синдрома Ли [2,42]. Полученные результаты позволили предположить влияние популяционного генетического фона на интенсивность мутационных процессов и фенотипическую экспрессию заболевания.

С целью оценки влияния генетического фона на проявление митохондриальных заболеваний в украинской популяции был проведен расчет частот митохондриальных гаплотипов.

К настоящему времени методами филогенетического анализа в мтДНК установлено наличие определенных участков, получивших название “горячие точки”, которые характеризуются повышенной скоростью прямых и обратных мутаций [6]. Оценку распределения таких вариабельных позиций в ГВС I мтДНК может дать анализ изменчивости нуклеотидных последовательностей ГВС I,

Таблица 3
Частоты основных митохондриальных гаплогрупп у обследованных больных, %

Гаплогруппы	Основные мотивы в ГВС I	Контроль (n = 90)	Больные (n = 50)
Европейские			
H	-	23,3	24,0
pre-V	-	3,3	2,0
V	16298	6,6	2,0
HV	-	4,4	-
J	16069-16126	13,3	12,0
T	16126-16294	7,7	16,0
U	-	20,0	18,0
U2	16051-16129GC-16189	2,2	-
U3	16343	3,3	2,0
U4	16356	1,1	-
U5	16270	12,2	14,0
U7	16318AT	1,1	-
K	16224-16311	3,3	-
I	16129-16223	1,1	2,0
W	16223-16292	2,2	2,0
X	16189-16223-16278	2,2	8,0
N1b	16145-16176CG-16223	1,1	6,0
N1a	16223-16172-16147CA-16320-16355	-	4,0
Азиатские			
C	16223-16290-16319	-	2,0
A	16223-16298-16327	-	2,0

объединенных в родственные по происхождению группы мтДНК.

Используя данные по нуклеотидным последовательностям ГВС I мтДНК, в выборке пациентов были определены частоты основных митохондриальных гаплогрупп (табл. 3). Для сравнительного анализа использовали данные по нуклеотидным последовательностям ГВС I мтДНК в контрольной выборке из популяции.

Результаты распределения частот митохондриальных гаплогрупп в выборке пациентов продемонстрировали наличие 9 основных европеоидных гаплогрупп — H, pre-V, V, J, T, U, I, W и X, суммарная частота которых составила 86,0 %. Были выявлены субкластеры гаплогруппы U — U3 (2,0 %) и U5 (14,0 %). В выборке пациентов представлены минорные европейские гаплогруппы N1b (6,0 %) и N1a (4,0 %). Также обнаружены азиатские гаплогруппы C (2,0 %) и A (2,0 %).

Наибольшая распространенность в исследуемой выборке приходится на гаплогруппы H, U, J, T, она составляет 70,0 % общего митохондриаль-

ного пула.

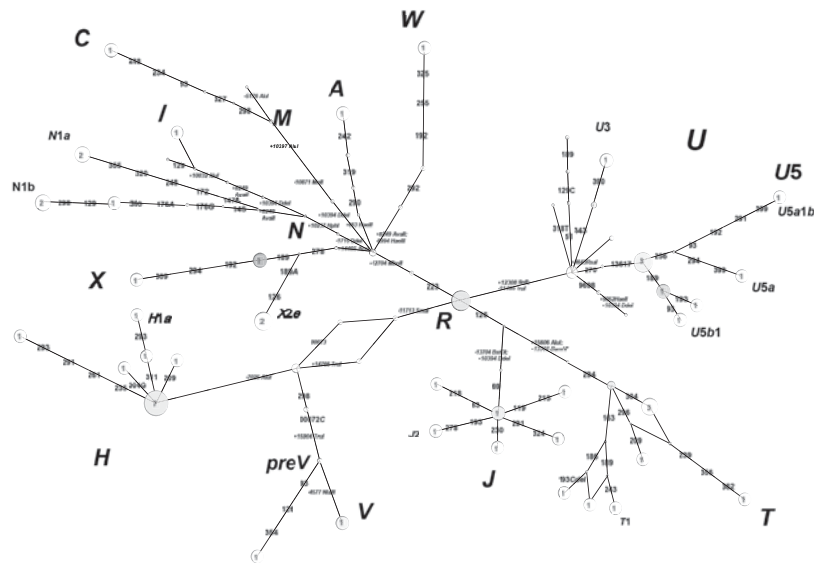
Аналогичная картина распределения европеоидных гаплогрупп наблюдается и в контрольной выборке. Их суммарная частота составила 79,4 %. Типы мтДНК, относящиеся к гаплогруппе HV, были выявлены у 4,4 % лиц. Также были выявлены субкластеры гаплогруппы U, которые отсутствовали у больных: U2 (2,2 %), U4 (1,1 %), U7 (1,1 %) и K (3,3 %). В контрольной выборке представлена минорная европейская гаплогруппа N1b (1,1 %). Азиатские гаплогруппы не выявлены. Наибольшая распространенность в контрольной выборке также приходится на группы H, U, J, T; она составляет 64,4 % общего митохондриального пула.

Следует отметить, что распределение основных групп мтДНК в выборке пациентов, в целом, соответствует распределению типов мтДНК в контрольной популяции по спектру, но не по частотам. Исключение составляют гаплогруппы U5, T и X, представленные с высокими частотами в обследуемой выборке больных.

Основные мотивы (последовательность нуклеотидных замен, определяющих гаплогруппу) гаплогрупп U5, T и X содержат позицию 16189, которая является наиболее вариабельной. Позиция 16294, входящая в основной мотив гаплогруппы T, также является наиболее вариабельной. По данным [6], вышеуказанные позиции являются нестабильными и могут повышать скорость обратных мутаций в соседних нуклеотидных позициях. Исходя из этого, мы предположили, что высокая частота гаплогрупп U5, T и X в выборке пациентов может быть обусловлена повышенной вариабельностью данных позиций. Это согласуется с современными представлениями о том, что транзиции составляют треть точковых мутаций [7], которые наблюдаются при наследственных заболеваниях человека.

Филогенетический анализ гаплотипов в выборке пациентов. Для определения эволюционных отношений между гаплотипами был проведен филогенетический анализ митохондриальных линий в выборке пациентов и построена медианная сеть с использованием алгоритма *Reduced Median* (программа *Network 3.1.1.1*. [9]) на основе нуклеотидных последовательностей ГВС I контрольного региона мтДНК. Этот анализ позволил продемонстрировать пространственную структуру выявленных гаплотипов мтДНК и общность митотипического состава в выборке пациентов (рисунок). На медианной сети представлены 9 основных европеоидных митохондриальных гаплогрупп — H, V, J, T, U, I, W, X, N и 2 азиатские гаплогруппы — A и C.

При этом в основных мотивах типов мтДНК в



Медианная сеть, отражающая филогенетические отношения гаплотипов мтДНК в выборке пациентов ($n = 50$) с клинически установленной митохондриальной патологией.

выборке пациентов определены различные комбинации популяционных полиморфизмов (субгаплогруппа U5 — 16192 и 16256 в сочетании с 16270) и дополнительные полиморфизмы (гаплогруппа T — 16193, 16239, 16243 и 16356, U5 — 16193, X — 16126, 16192, 16294 и 16309), которые не наблюдались ни в популяционной выборке, ни в контроле. Этот факт позволил предположить, что данные варианты полиморфизмов обусловлены повышенной вариабельностью позиций 16189 и 16294, входящих в основные мотивы вышеуказанных гаплогрупп. Принимая во внимание данные [6] о возможном влиянии гипервариабельных позиций на интенсивность мутационных процессов в соседних позици-

ях, было высказано предположение о том, что вышеуказанные комбинации полиморфизмов, составляющих генетический фон, могут играть определенную роль в проявлении митохондриальных заболеваний.

Таким образом, исследования полиморфизма мтДНК в популяции украинцев дали возможность выявить генеогеографические особенности митохондриальных заболеваний, оценить влияние генетического фона на их проявление и использовать распределение гаплотипов в качестве диагностической “матрицы” при обследовании пациентов с митохондриальной патологией.

Список использованной литературы

1. Гречанина Ю. Б. Стандарты для визначення мітохондропатій // Ультразвукова перинатальна діагностика. — 2003. — № 16. — С. 131-145.
2. Жаданов С. И., Гречанина Е. Я., Гречанина Ю. Б. и др. Изучение митохондриальных заболеваний в Украине: случай мутации ND5 *de novo*, значение патогенетических механизмов генных дефектов мтДНК ND5 // Журн. АМН України. — 2006. — 12, № 3. — С. 443-456.
3. Иллариошкин С. Н., Иванова-Смоленская И. А., Маркова Е. Д. ДНК-диагностика и медико-генетическое консультирование в неврологии. — М.: Медицинское информационное агентство, 2002. — 591 с..
4. Кушнеревич Е. И., Сивицкая Л. Н., Даниленко Н. Г. и др. Разнообразие митохондриальной ДНК современных белорусов // Докл. Акад. наук Беларуси. — 2007. — 51, № 1. — С. 79-83.
5. Мальярчук Б. А. CG-метилирование и мутагенез митохондриальной ДНК человека // Мол. биол. — 1995. — 29, вып. 2. — С.281-286.
6. Мальярчук Б. А., Деренко М. В. Изменчивость митохондриальной ДНК человека: распределение “горячих точек” в гипервариабельном сегменте I главной некодирующей области // Генетика человека. — 2001. — 37, № 7. — С. 991-1001.
7. Мальярчук Б. А., Деренко М. В., Соловенчук Л. Л. Типы контрольного региона митохондриальной ДНК у восточных славян // Генетика. — 1995. — 31, № 6. — С. 846-851.
8. Anderson S., Bankier A. T., Barrell B. G. et al. Sequence and organization of the human mitochondrial genome // Nature. — 1981. — 290. — P. 457-465.
9. Bandelt H.-J., Forster P., Sykes B. C., Richards M. B. Mitochondrial portraits of human populations using median networks // Genetics. — 1995. — 141. — P. 743-753.
10. Belledi M., Poloni E. S., Casalotti R. et al. Maternal and paternal lineages in Albania and the genetic structure of Indo-European populations // Eur. J. Hum. Genet. — 2000. — 8. — P. 480-486.

11. Chinnery P. F., Howell N., Lightowers R. N., Turnbull D. M. MELAS and MERRF: the relationship between maternal mutation load and the frequency of clinically affected offspring // *Brain*. — 1998. — **121**. — P. 1889-1894.
12. 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. — **124**. — P. 209-218.
13. Finnila S., Lehtonen M.S., Majamaa K. Phylogenetic Network for European mtDNA // *Am. J. Hum. Genet.* — 2001. — **68**. — P. 1475-1484.
14. Giacchetti M., Monticelli A., Biase I. et al. Mitochondrial DNA haplogroups influence the Friedreich's ataxia phenotype // *J. Med. Genet.* — 2004. — **41**. — P. 293-295.
15. Green D. R., Reed J. C. Mitochondria and apoptosis // *Science*. — 1998. — **281**. — P. 1309-1316.
16. Hedges S. B. Human evolution. A start for population genomics // *Nature*. — 2000. — **408**. — P. 652-653.
17. Herrstadt C., Elson J. L., Fahy E. et al. Reduced-median-network analysis of complete mitochondrial DNA coding-region sequences for the major African, Asian, and European haplogroups // *Am. J. Hum. Genet.* — 2002. — **71**, № 2. — P. 448-449.
18. Ingman M., Kaessmann H., Paabo S., Gyllensten U. Mitochondrial genome variation and the origin of modern humans // *Nature*. — 2000. — **408**. — P. 708-713.
19. Jazin E., Soodyall H., Jalonen P. et al. Mitochondrial mutation rate revisited: hot spots and polymorphism // *Nat. Genet.* — 1998. — **18**. — P. 109-110.
20. Macaulay V. A., Richards M. B., Hickey E. et al. The emerging tree of west Eurasian mtDNAs: a synthesis of control-region sequences and RFLPs // *Am. J. Hum. Genet.* — 1999. — **64**. — P. 232-249.
21. Malyarchuk B., Derenko M., Grzybowski T. et al. Differentiation of mitochondrial DNA and Y chromosomes in Russian populations // *Hum. Biol.* — 2004. — **76**, № 6. — P. 877-900.
22. Mishmar D., Ruiz-Pesini E., Golik P. et al. Natural selection shaped regional mtDNA variation in humans // *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. — 2003. — **100**, № 1. — P. 171-176.
23. Richards M., Corte-Real H., Forster P. et al. Paleolithic and Neolithic lineages in the European mitochondrial gene pool // *Am. J. Hum. Genet.* — 1996. — **59**. — P. 185-203.
24. Richards M., Macaulay V., Hickey E. et al. Tracing European founder lineages in the Near Eastern mtDNA pool // *Am. J. Hum. Genet.* — 2000. — **67**. — P. 1251-1276.
25. Ruiz-Pesini E., Lapena A. C., Diez-Sanchez C. et al. Human mtDNA haplogroups associated with high or reduced spermatozoa motility // *Am. J. Hum. Genet.* — 2000. — **67**. — P. 682-696.
26. Sambrook J., Fritsch E. F., Maniatis T. *Molecular cloning: A Laboratory Manual*. — N.Y.: Cold Spring Harbor Lab. Press, 1989. — 479 p.
27. Shoffner J. M., Wallace D. C. Oxidative phosphorylation diseases and mitochondrial DNA mutations: diagnosis and treatment // *Annu. Rev. Nutr.* — 1994. — **14**. — P. 535-568.
28. Shoffner J. M., Brown M. D., Torroni A. et al. Mitochondrial DNA variants observed in Alzheimer disease and Parkinson disease patients // *Genomics*. — 1993. — **17**. — P. 171-184.
29. Simoni L., Calafell F., Pettener D. et al. Geographic patterns of mtDNA diversity in Europe // *Am. J. Hum. Genet.* — 2000. — **66**. — P. 262-278.
30. 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.
31. Tanaka M., Gong J.S., Zhang J. et al. Mitochondrial genotype associated with longevity // *Lancet*. — 1998. — **351**. — P. 185-186.
32. Tishkoff S. A., Verrelli B. C. Patterns of human genetic diversity: implications for human evolutionary history and disease // *Annu. Rev. Genomics Hum. Genet.* — 2003. — **4**. — P.293-340.
33. Torroni A., Lott M. T., Cabell M. F. et al. MtDNA and the origin of Caucasians: identification of ancient Caucasian-specific haplogroups, one of which is prone to a recurrent somatic duplication in the D-loop region // *Am. J. Hum. Genet.* — 1994. — **55**. — P. 760-776.
34. Torroni A., Petrozzi M., D'Urbano L. et al. Haplotype and phylogenetic analyses 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. — **60**. — P. 1107-1121.
35. Wallace D. A mitochondrial paradigm of metabolic and degenerative diseases, aging, and cancer: a Dawn for evolutionary medicine // *Ann. Rev. Genet.* — 2005. — **39**. — P. 359-407.
36. Wallace D. Mitochondrial diseases in man and mouse // *Science*. — 1999. — **283**. — P. 1482-1488.
37. Wallace D. C., Brown M. D., Lott M. T. Mitochondrial DNA variation in human evolution and disease // *Gene*. — 1999. — **238**. — P. 211-230.
38. Wallace D. C., Lott M. T., Brown M. D., Kerstann K. Mitochondria and neuroophthalmologic diseases // *The metabolic and molecular basis of inherited disease* / Eds: C. R. Scriver, A. L. Beavdet, D. Valle. — N.Y.: McGraw-Hill, 2001. — V. 2. — P. 2425-2512.
39. 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. — **55**. — P. 601-610.
40. Zhadanov S. I., Atamanov V. V., Zhadanov N. I. et al. A novel mtDNA ND6 gene mutation associated with LHON in a Caucasian family // *Biochem. Biophys. Res Commun.* — 2005. — **332**, № 4. — P. 1115-1121
41. Zhadanov S. I., Atamanov V. V., Zhadanov N. I., Schurr T. G. *De novo* COX2 mutation in a LHON family of Caucasian origin: implication for the role of mtDNA polymorphism in human pathology // *J. Hum. Genet.* — 2006. — **51**, № 3. — P. 161-170.
42. Zhadanov S. I., Grechanina E. Ya., Grechanina Yu. B. et al. Fatal manifestation of a *de novo* ND5 mutation: Implication for the pathogenetic mechanisms of ND5 gene defects // *Mitochondrion*. — 2007. — **7**, № 4. — P. 260-266.

Получено 17.05.2011

МИТОХОНДРИАЛЬНІ ХВОРОБИ В УКРАЇНІ: РОЛЬ МУТАЦІЙ МТДНК ПРИ СКЛАДНИХ КЛІНІЧНИХ СИНДРОМАХ І НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНИХ ХВОРОБАХ

Т. Дж. Шурр, Ю. Б. Гречаніна*, В. А. Гусар, Є. Я. Гречаніна*, С. І. Жаданов**

Пенсильванський університет, 19104-6398 Філадельфія, США

*Український інститут клінічної генетики Харківського національного медичного університету, 61022 Харків

**Харківський спеціалізований медико-генетичний центр, 61022 Харків

Стаття присвячена вивченню геномної розмаїтості як бази молекулярної епідеміології спадкових хвороб. Дослідження поліморфізму мтДНК у популяції українців дали можливість виявити географічні особливості мітохондріальних захворювань, оцінити вплив генетичного фону на їх прояви і використовувати розподіл гаплотипів у якості діагностичної “матриці” при обстеженні хворих з мітохондріальною патологією. Розвиток молекулярної діагностики дозволяє не лише розпізнавати нову спадкоємну патологію, але й знаходити мішені ураження при добре відомих, але невиліковних хворобах. Розвиток молекулярної діагностики дозволяє не лише розпізнавати нову спадкову патологію, але і знаходити мішені ураження при добре відомих, але невиліковних хворобах.

MITOCHONDRIAL DISEASES IN UKRAINE. ROLE OF MTDNA MUTATIONS IN COMPLEX CLINICAL SYNDROMES AND NEURODEGENERATIVE DISEASES

T. J. Shurr, Yu.B. Grechanina*, V. A. Husar, E. Ya. Grechanina*, S. P. Zhadanov**

Pennsylvania University, Phila., PA 19104-6398, USA

*Ukrainian Institute of Clinical Genetics, Kharkiv National Medical University, 61022 Kharkiv

** Kharkiv Specialized Medico-Genetic Center, 61022 Kharkiv

The article deals with the study of genome variability as a basis for molecular epidemiology of hereditary diseases. The studies into mtDNA polymorphism in the population of Ukrainians enabled to reveal geographical peculiarities of mitochondrial diseases, assess the effects of the genetic background on their demonstration, as well as to use the distribution of haplotypes as a diagnostic “matrix” during examination of patients with mitochondrial pathology. Progress made in molecular diagnosis made it possible to detect new hereditary pathology and to identify targets hit at well known but incurable diseases. Development of molecular biology enables to reveal new hereditary pathology and locate targets for destruction in well-known, but incurable diseases.