

Снижение эффективности окислительного фосфорилирования у доноров экстрахромосомы 21

С. Б. Арбузова*, В. Д. Соловьева, О. О. Федотова

Городская клиническая больница № 1 Министерства здравоохранения Украины
340000, Донецк, ул. Артема, 57

На основании высказанного нами предположения о роли митохондриальной ДНК в патогенезе трисомии 21 были изучены показатели энергетического обмена у 70 матерей — доноров экстрахромосомы 21. Изменение соотношений фосфора сыворотки и эритроцитов, увеличение активности лактатдегидрогеназы и креатинкиназы в сыворотке крови, уменьшение уровня АТФ являются свидетельством снижения эффективности окислительного фосфорилирования и указывают на митохондриальный «стресс» у доноров экстрахромосомы 21. Эти результаты и представленные ранее данные о повышенном уровне свободных радикалов, угнетении антиоксидантной системы, а также обнаруженная точечная мутация в мтДНК у обследованного донора экстрахромосомы 21 указывают на значимость митохондриального генома в патогенезе трисомии 21.

Введение. Трисомия 21 (синдром Дауна, СД) — самая частая патология у живорожденных детей. Несмотря на многочисленные работы в этой области, патогенетические механизмы, вызывающие нерасхождение хромосом при возникновении трисомии 21, не выяснены. Происхождение синдрома расценивается как мутация *de novo* [1].

В результате проведенного нами обследования 234 семей была обнаружена повышенная частота инсулиннезависимого диабета, заболеваний щитовидной железы, новообразований, лейкозов в семьях и родословных пациентов с трисомией 21. В родословных поражении отмечено преимущественно у родственников матери, включая мать пробанда, реже — у родственников отца, но также по материнской линии [2].

По собственным и литературным сообщениям известны нарушения репродуктивной функции, высокий процент самопроизвольных абортосов у матерей; повторные случаи анеуплоидий у живорожденных детей и абортосов, рождение детей с врожденными пороками развития, включая дефекты нервной трубки, в одной семье и родословной; цитогенетические изменения; хромосомная нестабильность, анеуплоидные клетки у доноров экстрахромосомы 21 и у родственников по материнской линии [2—6].

Сочетание описанных нарушений и заболеваний в семьях и родословных с трисомией 21 должно быть чрезвычайно редким, если эти события происходят случайно и независимо.

Анализ информативных родословных с высокой степенью отягощения и повторными браками демонстрирует цитоплазматическую передачу факто-

*Correspondence address.

ра, предрасполагающего как к возникновению трисомии 21, так и указанных патологий.

Установлено, что в 90—95 % случаев донором добавочной хромосомы 21 является мать [7].

Эти данные, а также возрастзависимое распределение частоты СД легли в основу высказанного нами предположения о неслучайности возникновения трисомии 21 и роли мутаций митохондриальной ДНК (мтДНК) в патогенезе синдрома [6].

Известно, что заболевания, вызванные мутациями в мтДНК, сопровождаются снижением эффективности окислительного фосфорилирования [8], в связи с чем состояние энергетического обмена было изучено нами в группе женщин — доноров экстрахромосомы 21.

Материалы и методы. Обследовано 70 женщин — доноров экстрахромосомы 21 в возрасте от 18 до 40 лет через 5—6 месяцев после рождения ребенка с СД. Контрольную группу составили здоровые женщины того же возраста, не имеющие профессиональных вредностей и отягощения родословных.

Изученные показатели: уровень аденозинтрифосфорной кислоты (АТФ) эритроцитов, фосфора сыворотки ($P_{i, \text{сыв}}$) и эритроцитов ($P_{i, \text{э}}$), активность лактатдегидрогеназы (ЛДГ) и креатинкиназы (КК) сыворотки крови.

Содержание макроэрга АТФ в эритроцитах определяли по разности концентраций неорганического фосфора в гемолизате отмытых эритроцитов до и после гидролиза. Количество неорганического фосфора в эритроцитах и сыворотке крови определяли по реакции с молибдатом аммония [9].

Общую активность ферментов ЛДГ (КФ 1.1.1.27) и КК (КФ 2.7.3.2) измеряли спектрофотометрическим методом при 340 нм по скорости образования NADH с помощью стандартных наборов фирмы «Pointe Scientific, Inc.», США.

Математическую обработку осуществляли с использованием пакета компьютерной программы «Statgraphics» версии 3.00.

Результаты и обсуждение. Результаты исследования приведены в таблице. Все показатели достоверно отличались от контроля ($p < 0,001$). $P_{i, \text{сыв}}$ у женщин-доноров снижен на 30 % по сравнению с контролем. В то же время увеличение $P_{i, \text{э}}$ на 40 % свидетельствует о внутриклеточном его накоплении.

Параллельно с этим количество метаболита с высокоэнергетическими фосфорными связями — АТФ — снижено на 20 %, что указывает на суще-

Показатели энергетического обмена у женщин — доноров экстрахромосомы 21

Показатель	Группа женщин — доноров экстрахромосомы 21, n = 70	Контрольная группа
Неорганический фосфор сыворотки ($P_{i, \text{сыв}}$), ммоль/л	0,86 ± 0,02*	1,21 ± 0,03
Неорганический фосфор эритроцитов ($P_{i, \text{э}}$), ммоль/л	5,90 ± 0,13*	4,25 ± 0,09
АТФ эритроцитов, ммоль/л	0,96 ± 0,02*	1,20 ± 0,03
Активность лактатдегидрогеназы сыворотки крови, Е/л	357,7 ± 6,8*	244,1 ± 9,8
Активность креатинкиназы сыворотки крови, Е/л	116,5 ± 6,8*	71,5 С 2,4

*Различия достоверны при $p < 0,001$.

ствование механизма, препятствующего нормальному синтезу АТФ и приводящего к увеличению неорганического фосфора P_i , не включенного в АТФ.

Активность ЛДГ и КК у матерей, имеющих детей с СД, значительно выше, чем в группе сравнения, — на 50—60 % соответственно, что может являться отражением компенсаторного усиления гликолиза при дефиците АТФ.

Таким образом, у женщин — доноров экстрахромосомы 21 выявлены нарушения в соотношении показателей энергетического обмена в крови, свидетельствующие о снижении эффективности окислительного фосфорилирования — одного из главных метаболических звеньев в митохондриях.

Сдвиг уровня АТФ — продукта метаболизма митохондрий — в сторону уменьшения указывает на митохондриальный «стресс». Мы не приводим в данном сообщении подробных результатов молекулярно-генетического исследования, поскольку сиквенс мтДНК был проведен у одного донора экстрахромосомы 21. Тем не менее, была обнаружена не описанная ранее точечная мутация в районе картирования АТФазы, в положении С8764А, приводящая к замене аланина на триптофан.

Мутации в мтДНК и разобщение окислительного фосфорилирования характерны для болезни Альцгеймера, онкозаболеваний, инсулиннезависимого диабета [10], в различных аспектах обсуждавшихся в связи с синдромом Дауна.

Разбалансировка окислительного фосфорилирования происходит с возрастом по мере накопления мутаций в мтДНК, отмеченных у здоровых людей после 40 лет [8].

Совокупность полученных нами данных о снижении эффективности окислительного фосфорилирования, повышенном уровне свободных радикалов и угнетении антиоксидантной системы у доноров экстрахромосомы 21 [2, 11], а также обнаружение точечной мутации мтДНК у матери, происхождение дополнительной хромосомы 21 от которой доказано, указывают на значимость митохондриального генома в патогенезе трисомии 21.

С. Б. Арбузова, В. Д. Соловьева, О. О. Федотова

Зниження ефективності окислювального фосфорилування у донорів екстрахромосоми 21

Резюме

На підставі висловленого нами припущення щодо ролі мутацій митохондриальної ДНК у патогенезі трисомії 21 були вивчені показники енергетичного обміну у 70 матерів — донорів екстрахромосоми 21. Змінення співвідношення фосфору сироватки та еритроцитів, збільшення активності лактатдегідрогенази і креатинкінази, зменшення рівня АТФ є свідченням зниження ефективності окислювального фосфорилування і показником митохондриального «стресу» у донорів екстрахромосоми 21. Отримані результати і представлені раніше дані про підвищений рівень вільних радикалів, пригнічення антиоксидантної системи, а також виявлення точкової мутації митохондриальної ДНК у обстеженого донора в ділянці кодування АТФази вказують на важливість митохондриального геному в патогенезі трисомії 21.

S. B. Arbuzova, V. D. Solovyeva, O. O. Phedotova

The reduction of oxidative phosphorylation's efficiency in donors of extrachromosome 21

Summary

The indices of energy metabolism in 70 mothers—donors of extrachromosome 21 have been studied on the basis of our suggestion about the role of mt DNA mutations in pathogenesis of trisomy 21. The changes of ratio between serum and erythrocyte's phosphorus, the increase of lactat dehydrogenase and creatinkinase activity in serum, the decrease of ATP level are the evidence of the reduction of oxidative phosphorylation's efficiency and show the mitochondrial «stress» in donors of extrachromosome 21. The obtained results and our earlier presented data about the increased level of free radicals, the oppression of antioxidant system as

well as mt DNA's point mutation detected in examined donor of extrachromosome 21 indicate the importance of mitochondrial genome in pathogenesis of trisomy 21.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Mikkelsen M.* Epidemiology of trisomy 21: Population, peri- and antenatal data // *Trisomy 21: Proc. of Int. Symp.* / Eds G. R. Burgio, M. Fraccaro, L. Tiepolo, U. Wolf.—Berlin; Heidelberg; New York: Springer, 1981.—P. 211—222.
2. *Арбузова С. Б.* Свободные радикалы в возникновении и клиническом проявлении синдрома Дауна // *Цитология и генетика.*—1996.—30, № 2.—С. 25—34.
3. *Lippman A., Ayme S.* Fetal death rates in mothers of children with trisomy 21 (Down syndrome) // *Ann. Hum. Genet.*—1984.—48.—P. 303—312.
4. *Бутомо И. В., Ковалева Н. В.* Структурные хромосомные перестройки и мозаицизм у родителей детей с болезнью Дауна // *Цитология и генетика.*—1996.—27, № 1.—С. 787—791.
5. *Бужиевская Т. И. и др.* Необычные случаи наследования болезни Дауна // *Там же.*—1988.—22, № 3.—С. 25—29.
6. *Арбузова С. Б.* О роли митохондриальной ДНК в происхождении регулярной трисомии 21 // *Там же.*—1995.—29, № 3.—С. 77—80.
7. *Antonarakis S. E.* Parental origin of the extra chromosome in trisomy 21 as indicated by analysis of DNA polymorphisms // *N. Engl. J. Med.*—1991.—324, N 13.—P. 872—876.
8. *Richter C.* Reactive oxygen and DNA damage in mitochondria // *Mutat. Res.*—1992.—275.—P. 249—255.
9. *Виноградова И. В., Багрянцева С. Ю., Дервиз Г. В.* Метод одновременного определения 2,3-ДФГ и АТФ в эритроцитах // *Лаб. дело.*—1980.—№ 7.—С. 464—466.
10. *Shoffner J. M., Wallace D. S.* Mitochondrial genetics: principles and practice // *Amer. J. Hum. Genet.*—1992.—51, N 6.—P. 1179—1186.
11. *Arbuzova S.* The role of free radicals in etiology and pathogenesis of trisomy 21 // *Eur. J. Hum. Genet.*—1996.—N 4, Suppl. 1.—P. 157.