

САМОСТОЯТЕЛЬНЫЙ ГЕНОМ



ЛГМУ

Команда

«Аргументы»

Выполнил:

Чесноков М.Ш.

ЦЕЛИ



**Изучить
этиопатогене-
тические основы
«митохондриаль-
ных болезней»**

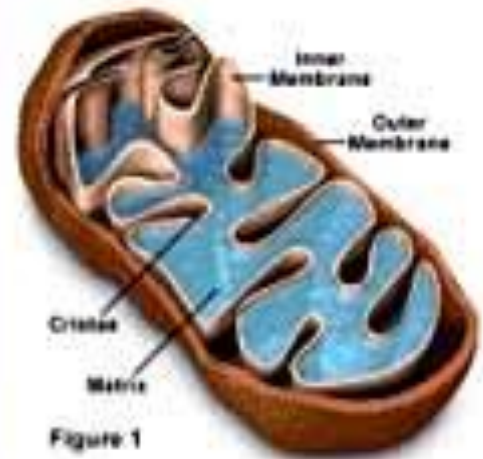
**Проанализировать
особенности
размножения и
жизнедеятельнос-
ти митохондрий.**

**Предложить
новые методы
предсказания
или
диагностики
какой-либо
митохондриаль-
ной болезни.**

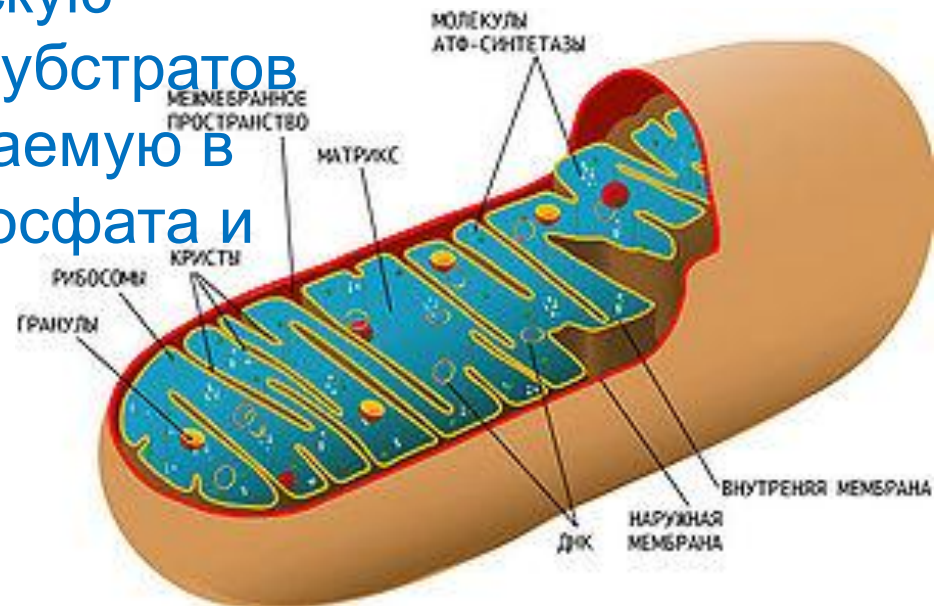
**Установить,
почему
трудно
диагностиро-
вать и
предсказать
данные
заболевания.**

Митохондрии

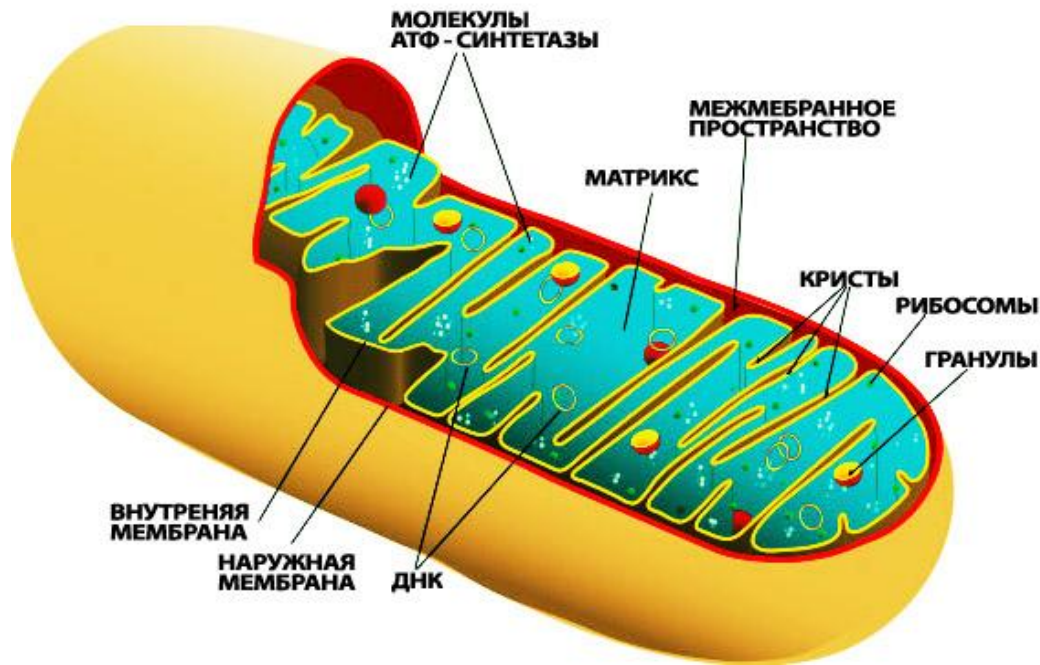
внутриклеточные органеллы, присутствующие в виде нескольких сотен копий во всех клетках (кроме эритроцитов) и продуцирующие АТФ.

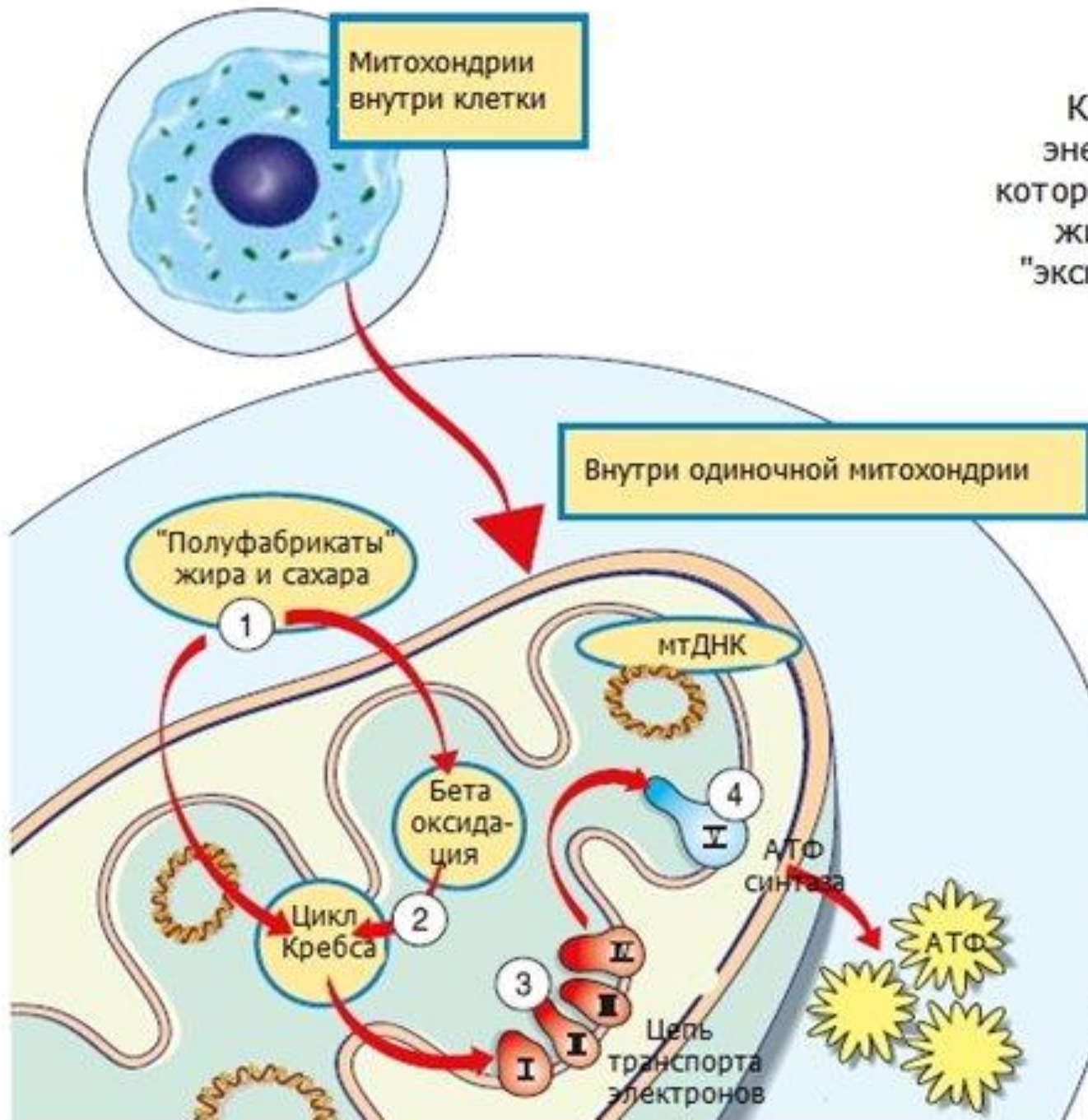


На **внутренней** мембране фиксированы ферменты, участвующие в окислительном фосфорилировании (комплекс цитохромов b, c, a и a₃) и переносе электронов. Это энергопреобразующая мембрана, которая превращает химическую энергию окисления субстратов в энергию, накапливаемую в виде АТФ, креатинфосфата и др.



На **наружной** мембране сосредоточены ферменты, участвующие в транспорте и окислении жирных кислот. Митохондрии способны к самовоспроизведению.

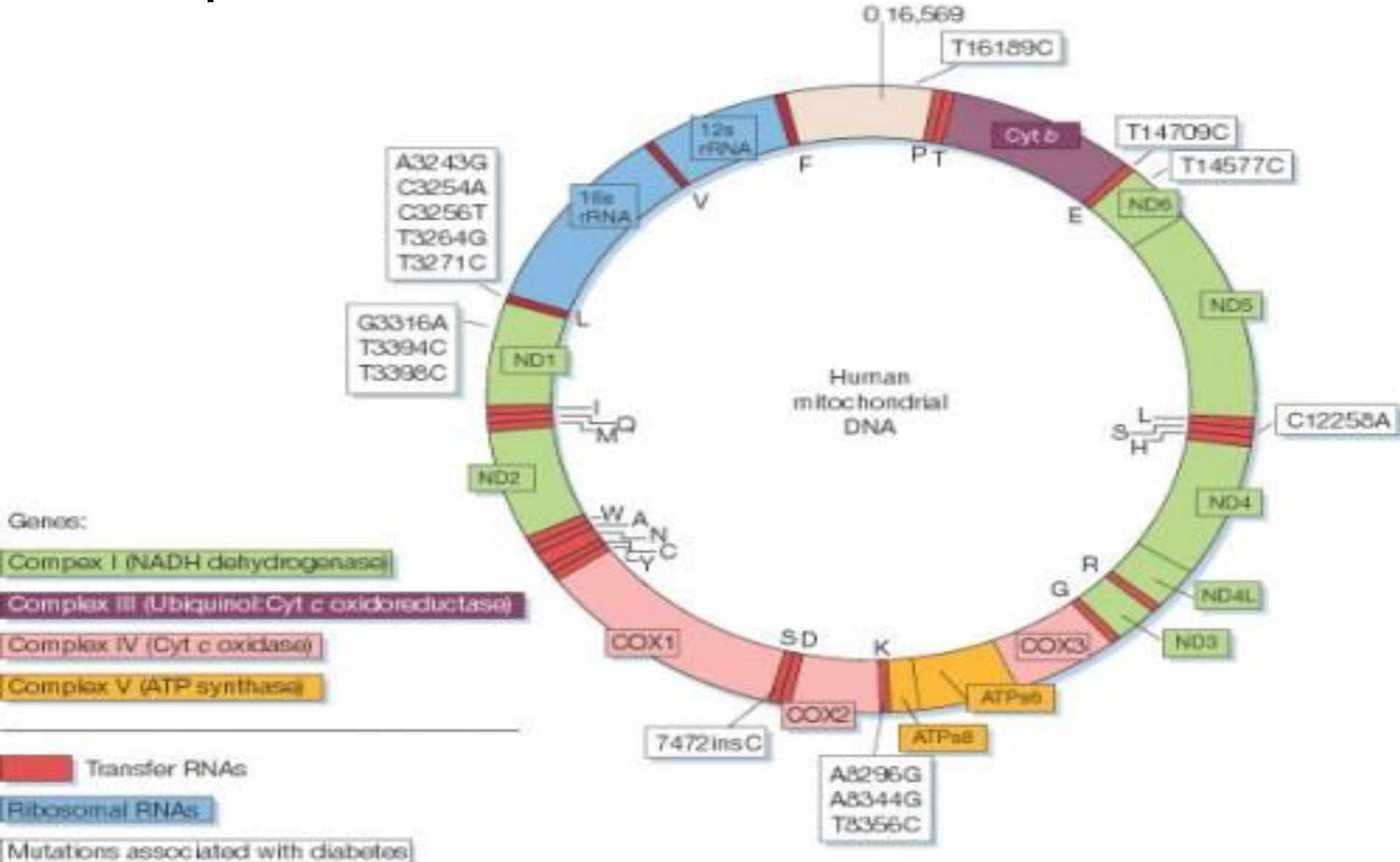




Каждая митохондрия - энергетическая фабрика, которая "импортирует" сахара и жиры, расщепляет их и "экспортирует" энергию (АТФ)


Основная функция митохондрий - аэробное биологическое окисление (тканевое дыхание с использованием клеткой кислорода) - система использования энергии органических веществ с поэтапным её высвобождением в клетке. В процессе тканевого дыхания происходит последовательный перенос ионов водорода (протонов) и электронов через различные соединения (акцепторы и доноры) на кислород.

Митохондриальная ДНК

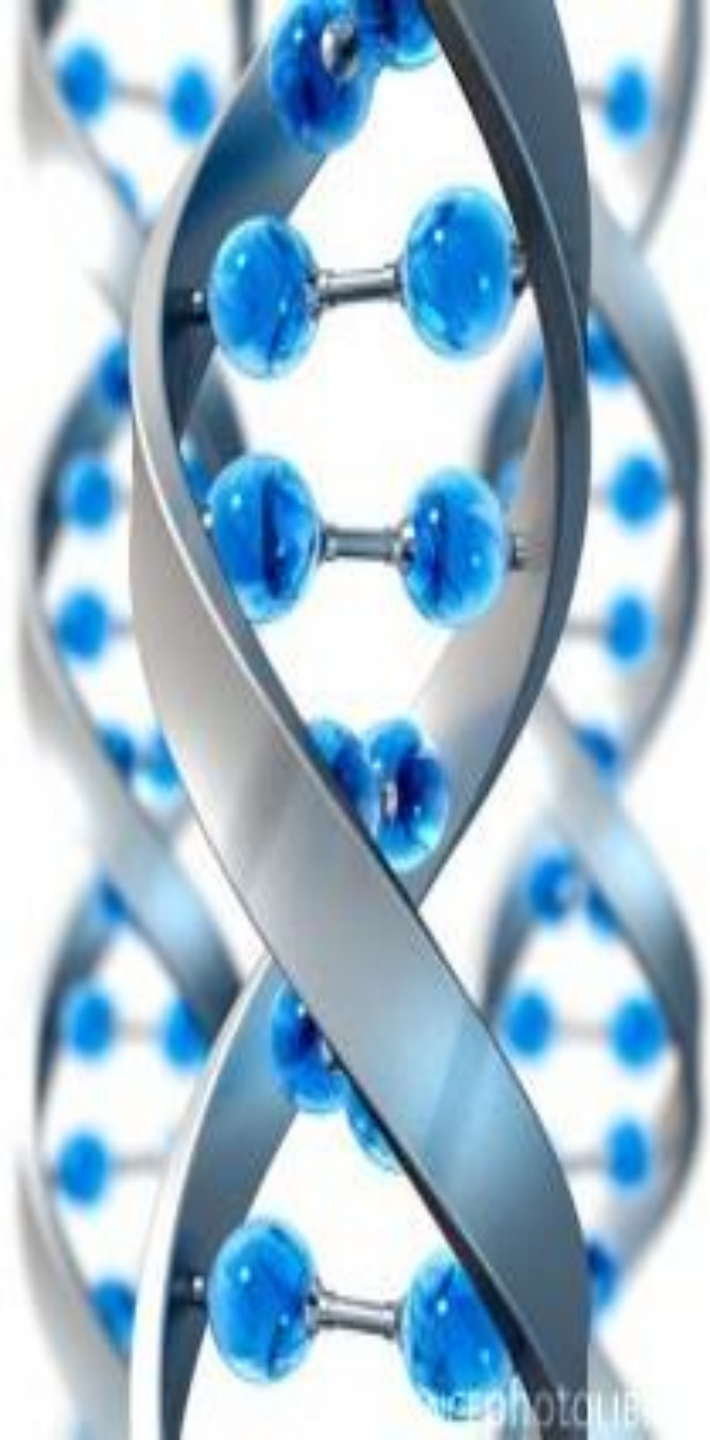




**Mitochondrial DNA est
parvum malum**

A detailed illustration of a mitochondrion, showing its characteristic bean-like shape and internal structure. The outer membrane is smooth, while the inner membrane is highly folded into cristae, which are shown in a vibrant orange-red color. The background is a dark, textured blue, suggesting a cellular environment.

МИТОХОНДРИАЛЬНЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ
КОД ПО МКБ-10
НАРУШЕНИЯ ОБМЕНА ВЕЩЕСТВ,
КЛАСС IV, E70-E90

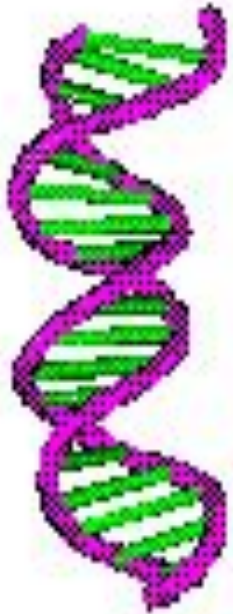
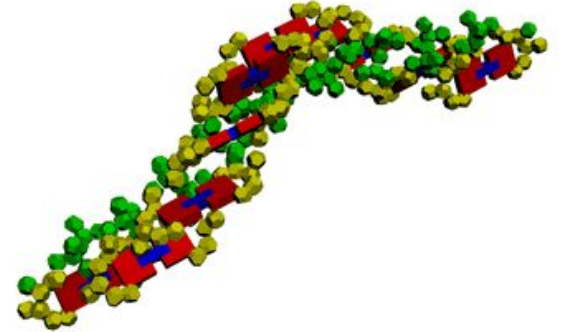


Митохондриальные болезни, обусловленные генными мутациями ядерной ДНК

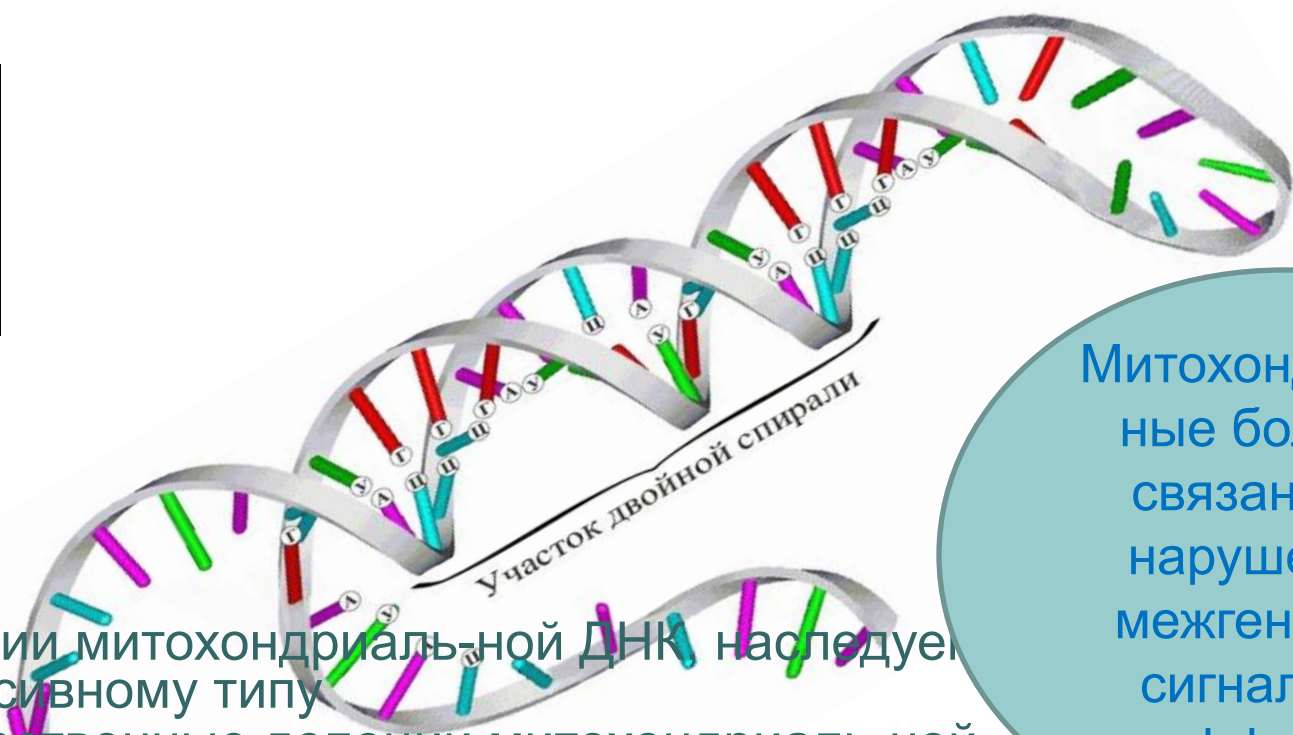
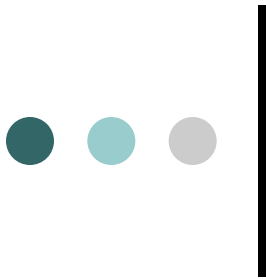
- Дефекты транспортных субстратов
- Дефекты ферментов цикла Кребса
- Дефекты субстратов утилизации
- Нарушение окислительного фосфорилирования
- Нарушения в дыхательной цепи

● ● ● |

Митохондриальные болезни, в основе которых лежат мутации митохондриальной ДНК



- Точковые мутации структурных генов
- Точковые мутации синтетических генов
- Спорадические мутации



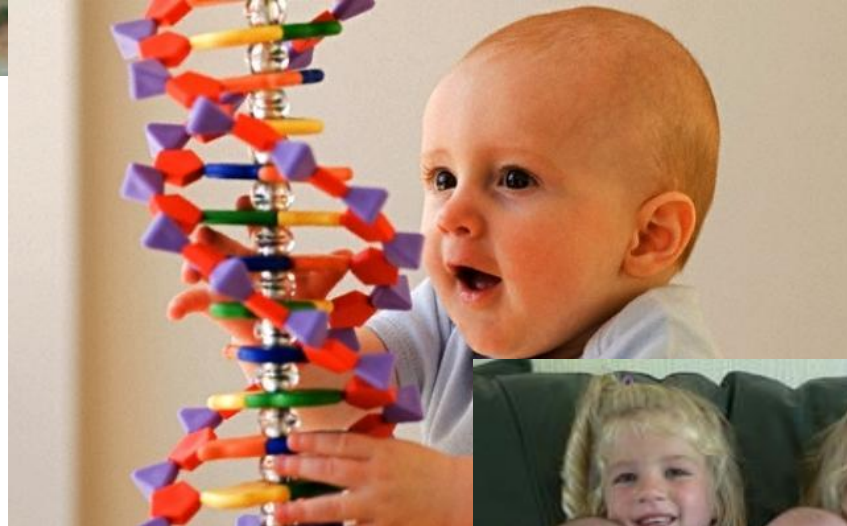
- Делеции митохондриальной ДНК наследуются рецессивному типу
- Множественные делеции митохондриальной ДНК наследуются аутосомно-доминантному типу

Митохондриальные болезни, связанные с нарушением межгеномных сигнальных эффектов

Возникновение митохондриальных болезней

**Из-за различного
распределения дефект-
ных митохондрий в
разных
органах мутация у
одного человека может
привести к
заболеванию печени, а у
другого — к
заболеванию мозга.
Величина проявления
дефекта -большая или
малая, может
существенно меняться
или нарастать.**





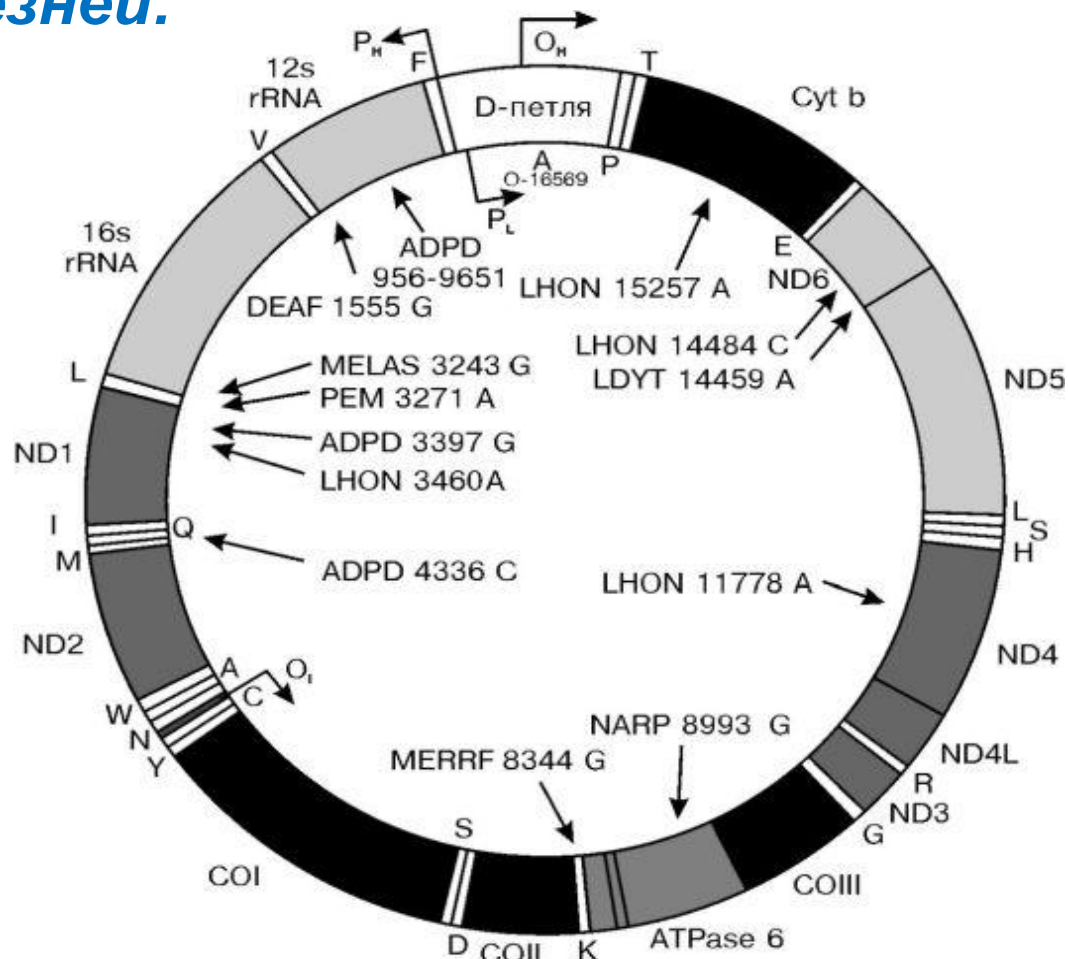
В связи с тем что митохондриальные болезни в ряде случаев могут быть обусловлены повреждением ядерного генома, передача заболевания будет соответствовать менделевским законам наследования.

В тех же случаях, когда развитие болезни обусловлено мутациями митохондриальной ДНК, наследование будет соответствовать митохондриальному типу, то есть передаваться по материнской линии.

Когда патология развивается при одновременном повреждении генов ядерного и митохондриального геномов, наследование будет носить сложный характер и определяться различными факторами.

В связи с этим при генеалогическом анализе по формальному признаку (характеру наследования по родословной) можно констатировать самые разные типы наследования: **аутосомно-доминантный, аутосомно-рецессивный, X-сцепленный, митохондриальный.**

Структура митохондриального генома и примеры митохондриальных болезней:



ADPD - болезнь Альцгеймера/болезнь Паркинсона; DEAF - нейросенсорная потеря слуха; LHON - наследственная нейроофтальмия Лебера; LDYT - LHON и дистония; MELAS - митохондриальная миотония, энцефалопатия, молочнокислый ацидоз и приступы судорог; MERRF - миоклональная эпилепсия в сочетании с необычно красными мышечными волокнами; NARP - нейропатия, атаксия и пигментный ретинит; PEM – летальная прогрессирующая энцефаломиопатия.

Основные клинические проявления МБ

Нервная система

Эпилепсии, спазмы, задержки развития, глухота, деменция, инсульт (часто до 40 лет), дефекты зрительной системы, нарушения баланса, проблемы с периферическим нервами

Глаза

Опущение век (птоз), невозможность двигать глазами (наружная офтальмоплегия), слепота (пигментозный ретинит, оптическая атрофия), катаракта

Сердце

Кардиомиопатия (слабость сердечной мышцы), блок проводимости

Скелетные мышцы

Мышечная слабость, непереносимость физических нагрузок, миоглобинурия, крампи

Печень

Печеночная недостаточность (редко за исключением детей с синдромом деплеции мтДНК), жировой гепатоз (стеатоз печени)

Пищеварительный тракт

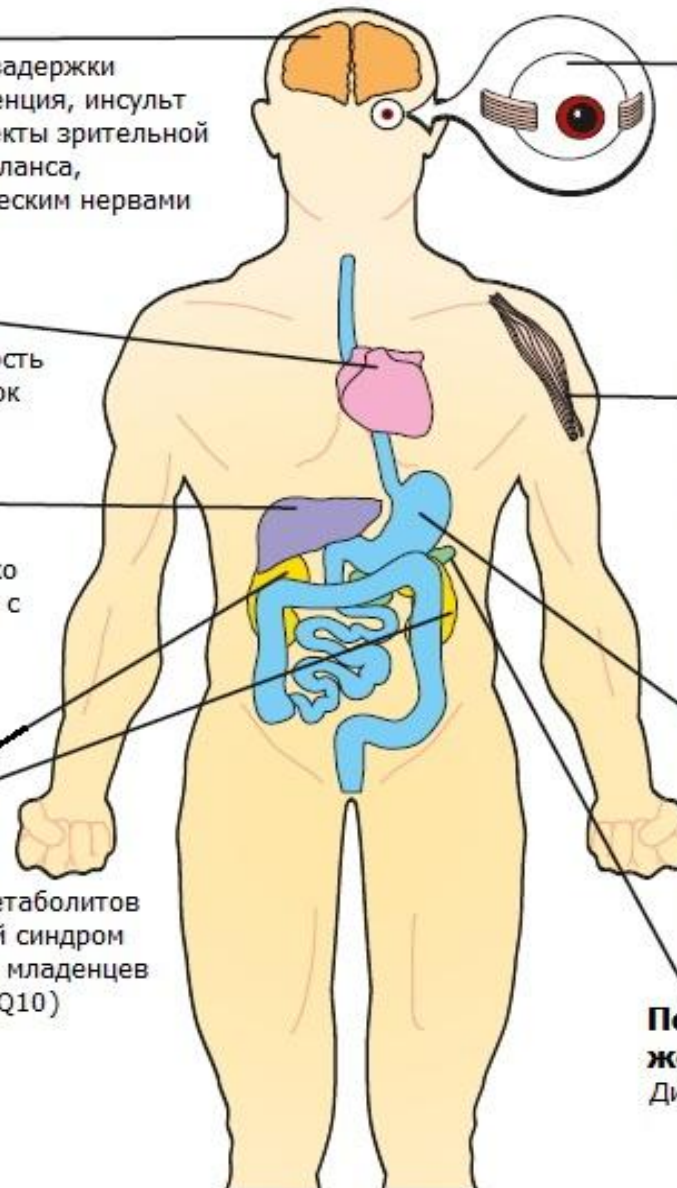
Трудности глотания, рвота, хроническая диарея, симптомы кишечной обструкции, ощущение переполнения желудка

Почки

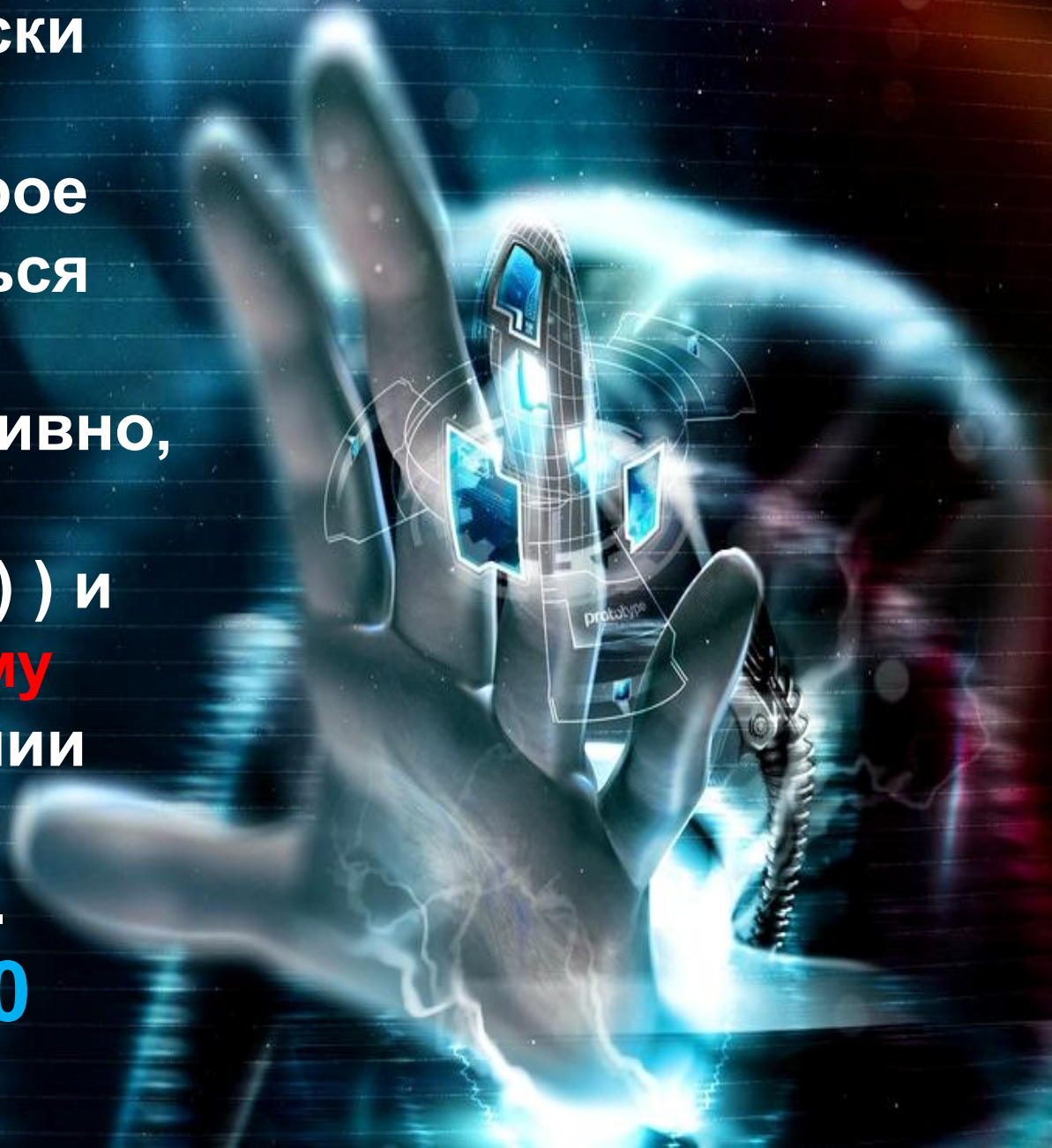
Синдром Фанкони (выход необходимых метаболитов в мочу), нефротический синдром (редко за исключением младенцев с дефицитом коэнзима Q10)

Поджелудочная железа

Диабет



Болезнь Лея (OMIM 256000) генетически гетерогенное заболевание, которое может наследоваться по **ядерному типу** (аутосомно-рецессивно, X-сцепленно рецессивно (редко)) и **митохондриальному** (реже). О заболевании впервые было упомянуто в 1951 г. Описано более **120** случаев.





Почему именно **болезнь Лея**?

- -занимает **5** место среди митохондриальных болезней
- -может передаваться как **аутосомно- рецессивно**, так и **митохондриально** (реже);
- -нарушается большое количество компонентов дыхательной цепи;



В основе заболевания-дефицит ферментов, обеспечивающих образование энергии главным образом за счёт нарушения обмена пирувиноградной кислоты и дефекта транспорта электронов в дыхательной цепи.

Развивается дефицит пируватдегидрогеназного комплекса (α -E1-субъединицы), пируваткарбоксилазы, комплекса 1 (НАД-коэнзим Q-редуктаза) и комплекса 4 (цитохромоксидаза) дыхательной цепи.

Нарастающие неврологические симптомы:
мышечная гипотония или дистония с переходом в гипертонус,
приступы миоклонии или тонико-клонические судороги, тремор конечностей,
хореоатетоз, расстройство координации,
снижение сухожильных рефлексов

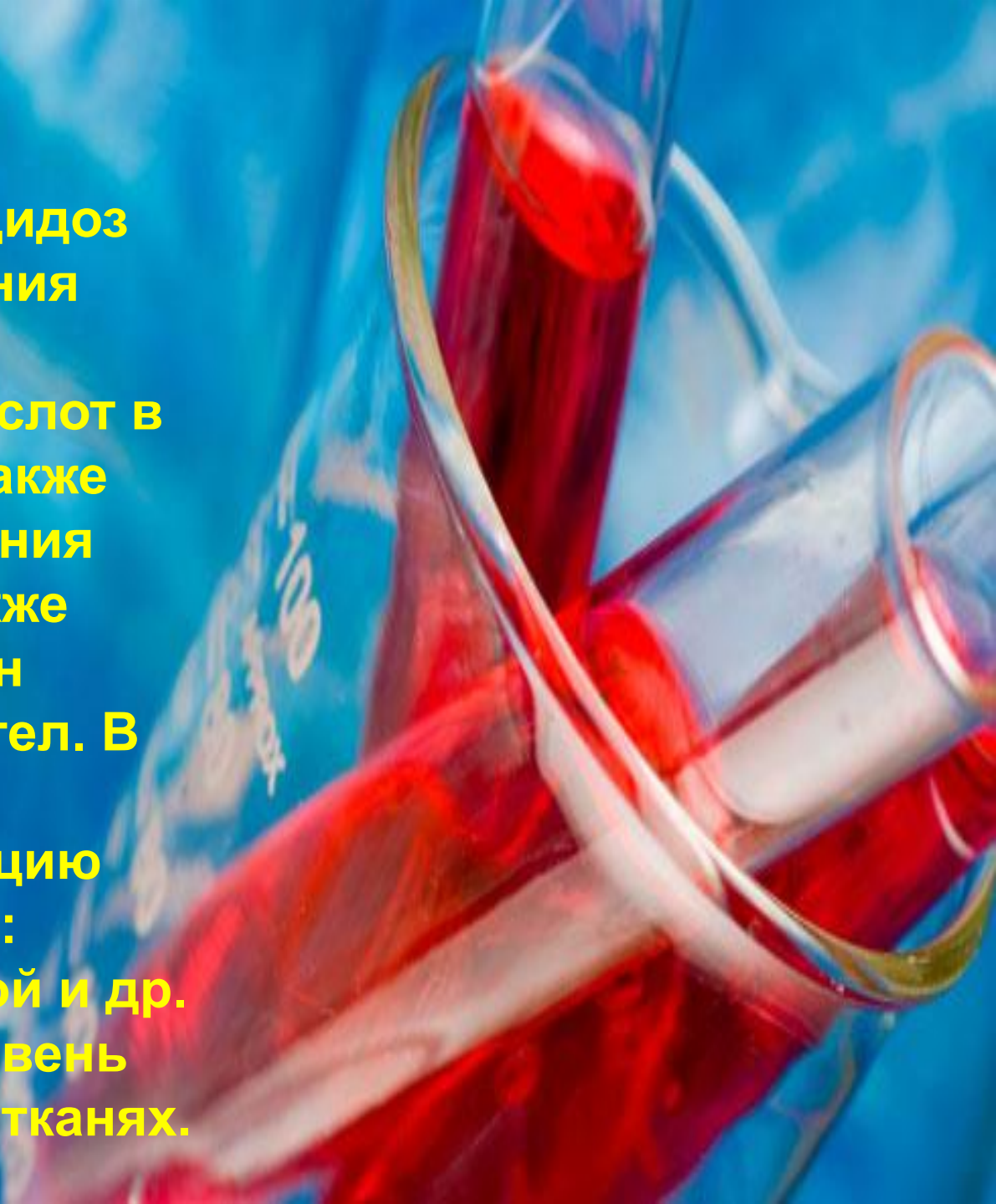
Церебральная нейродегенерация носит прогрессирующий характер.
Нарастают симптомы пирамидной и экстрапирамидной недостаточности, нарушается акт глотания.

Нередко наблюдают такие изменения органа зрения, как птоз, офтальмоплегия, атрофия зрительных нервов, реже пигментная дегенерация сетчатки.

Неспецифические нарушения: задержка психомоторного развития, снижение аппетита, эпизоды рвоты, дефицит массы тела.



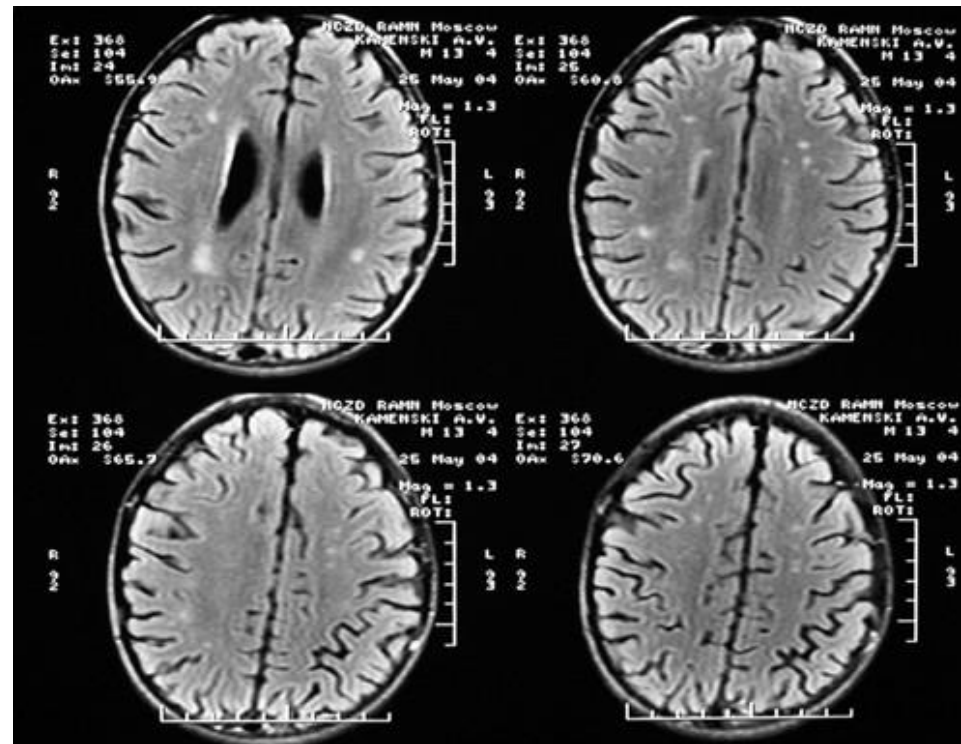
При биохимическом исследовании крови выявляют лактат-ацидоз вследствие накопления молочной и пировиноградной кислот в крови и ликворе, а также увеличение содержания аланина в крови. Также может быть повышен уровень кетоновых тел. В моче выявляют повышенную экскрецию органических кислот: молочной, фумаровой и др. Часто снижается уровень карнитина в крови и тканях.

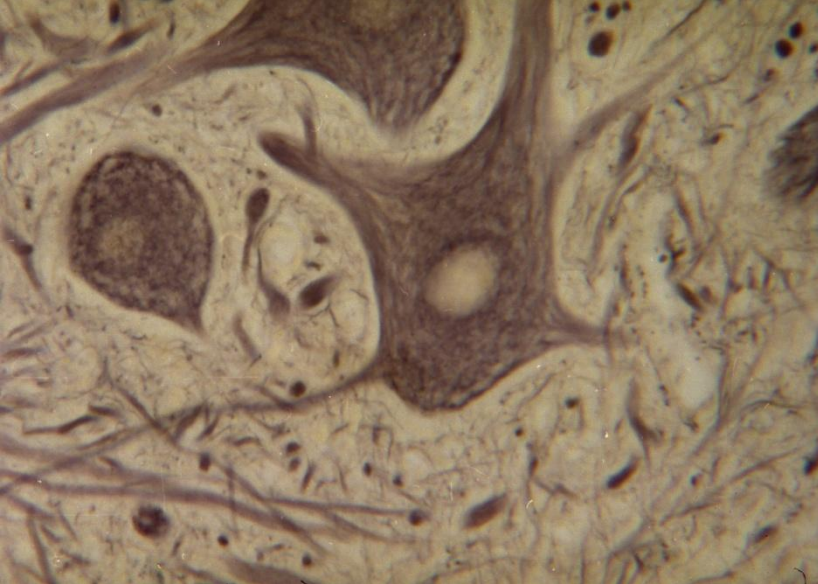




По результатам ЭЭГ выявляют focальные признаки эпилептической активности.

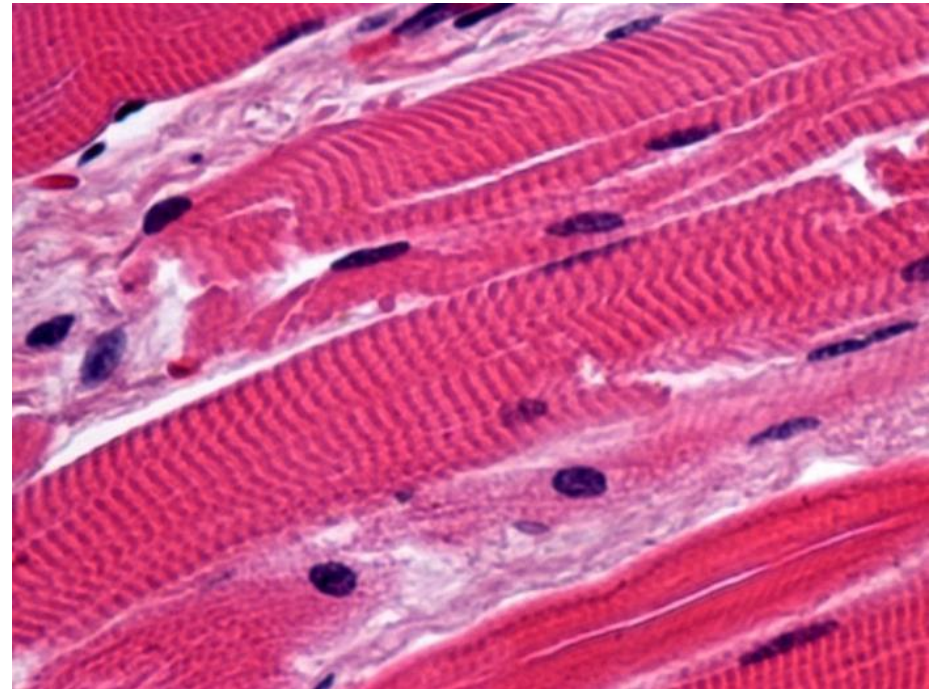
По данным МРТ обнаруживают расширение желудочков мозга, двустороннее поражение мозга, кальцификацию базальных ганглиев (хвостатого ядра, скорлупы, чёрной субстанции, бледного шара). Можно также выявить атрофию больших полушарий и вещества мозга.





При **морфологическом исследовании** обнаруживают грубые изменения вещества мозга: симметричные очаги некроза, демиелинизации и губчатой дегенерации мозга, преимущественно средних отделов, моста, подкорковых узлов, таламуса, зрительного нерва. Гистологическая картина включает кистозное перерождение мозговой ткани, астроцитарный глиоз, гибель нейронов, увеличение количества митохондрий в клетках.

В скелетных мышцах - накопление липидных включений, снижение гистохимической реакции на комплексы 1, 4 дыхательной цепи, субсарколеммальное скопление митохондрий, аномальные митохондрии с дезорганизацией крист. Феномен RRF часто не обнаруживают



Несмотря на многообразие современных методов диагностики, определение наличия митохондриальных болезней на ранних этапах развития, продолжает оставаться весьма затруднительным, т.к.:



- клинические симптомы болезни проявляются относительно поздно;**
- отсутствуют методы внутриутробного скрининга митохондриальных болезней;**
- это влечет немалые экономические затраты.**

Но мы предлагаем, очень достоверный вариант диагностики и подтверждения митохондриальных болезней, в нашем случае- **синдрома Лея**.



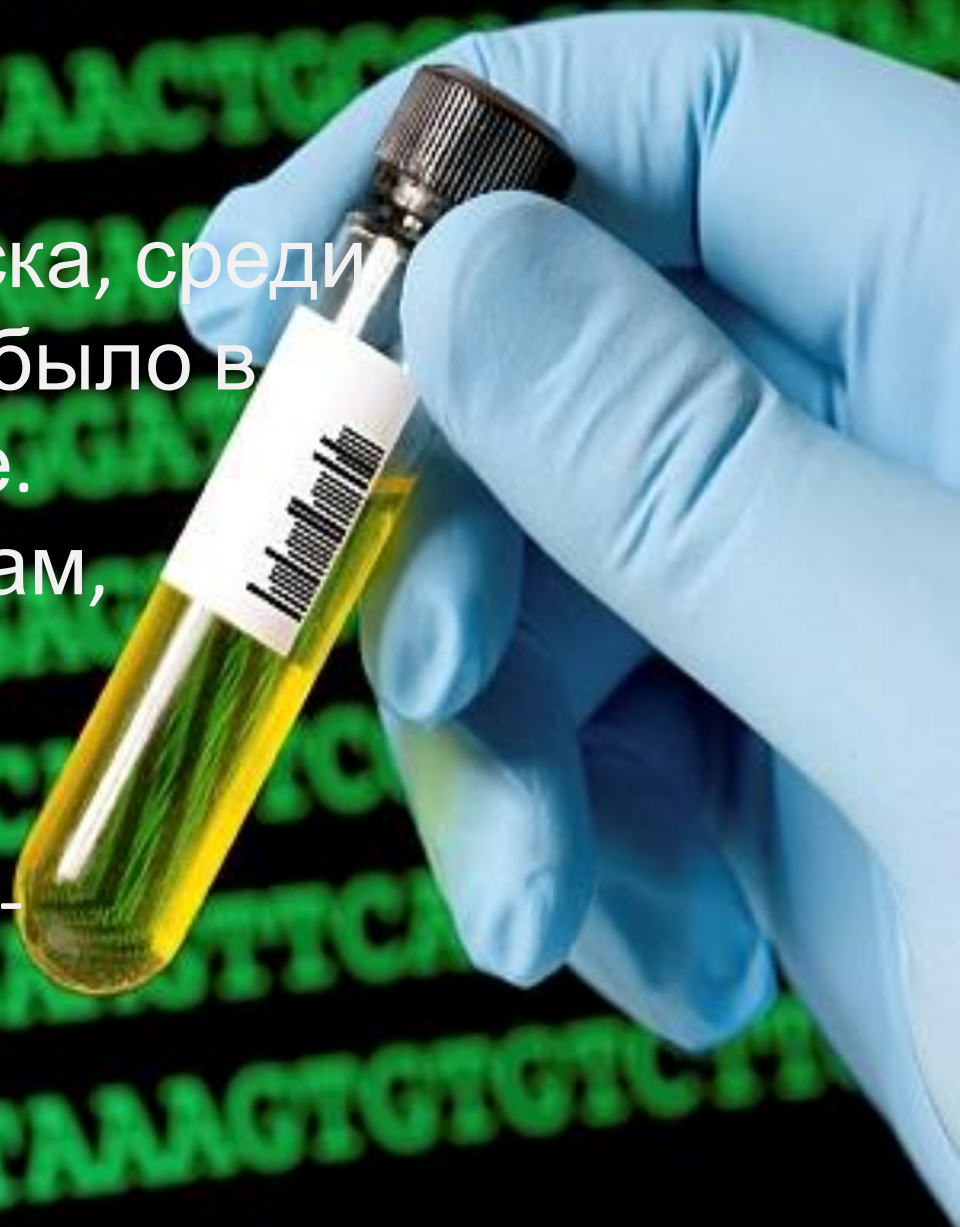
По нашей, предлагаемой методике, необходимо:

1-Установить группу риска, среди женщин, у которых уже было в роду такое заболевание.

2-Беременным женщинам, которым более

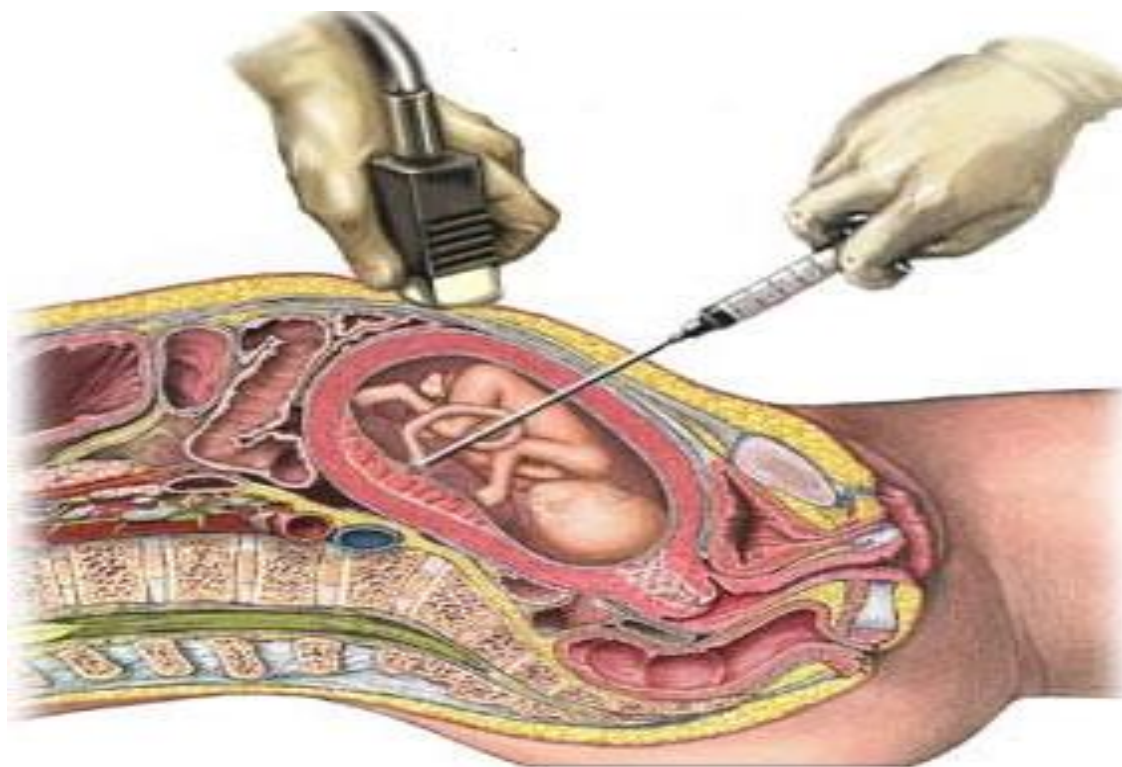
35 лет,

собрать полный медико-генетический анамнез





Кордоцентез - метод получения кордовой (пуповинной крови) плода для дальнейшего исследования. Производится не ранее 18 недель гестации. Через переднюю брюшную стенку беременной после инфильтрационной анестезии под контролем ультразвукового аппарата производят прокол тонкой пункционной иглой, попадают в сосуд пуповины, получают до 5 мл. крови.





Два варианта развития событий

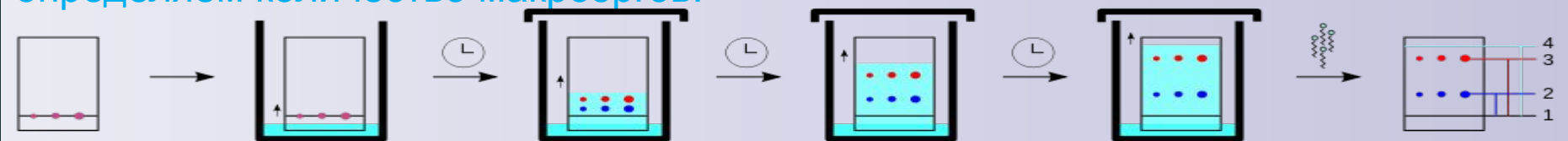
- 1-дорогостоящий, но достоверный- исследование структуры хромосом соматической клетки, используя ПЦР.
- 2-дешевый, но менее достоверный- тонкослойная хроматография на силикагеливых пластинах, для подсчета адениловых нуклеотидов в клетке, имеющей митохондрии.

Хроматография – важнейший аналитический метод.

Метод ТСХ прост по методике выполнения и аппаратуре и не требует для анализа больших количеств вещества.

Раствор образца наносят микропипеткой на небольшом расстоянии от края пластинки на стартовую линию, и край пластинки погружают в растворитель, который действует как подвижная фаза жидкостной адсорбционной хроматографии. Под действием капиллярных сил растворитель поднимается вверх по пластинке и с разной скоростью переносит за собой компоненты смеси, что приводит к их пространственному разделению. Чтобы растворитель не испарялся с поверхности сорбента, пластинка на время разделения должна быть помещена в герметически закрытую прозрачную камеру. Разделяемые компоненты на пластинке образуют отдельные зоны (пятна). Хроматографирование продолжают до тех пор, пока растворитель не пройдет от линии старта около 10 см до так называемой линии фронта. После этого пластинку вынимают из хроматографической камеры, подсушивают на воздухе и определяют положение пятен.

При проявлении используется способность адениловых нуклеотидов флуоресцировать под действием УФ-излучения. Далее, путем спектрофотометрии определяем количество макроэргов.



Элюирование в ТСХ. 1. Линия старта; 2. Зоны первого вещества разделяемой смеси; 3. Зоны второго вещества разделяемой смеси; 4. Линия фронта

После подсчета каждого макроэрга, рассчитываем

$$\text{ЭЗ} = (\text{АТФ} + 1/2\text{АДФ}) / (\text{АТФ} + \text{АДФ} + \text{АМФ})$$

$$\text{ЭП} = \text{АТФ} / \text{АДФ}$$

$$\text{Кср} = (\text{АТФ} + \text{АМФ}) / \text{АДФ}$$

$$\text{ИФ} = \text{АТФ} / (\text{АДФ} + \text{АМФ})$$

$$\text{ТКД} = \text{АДФ} / \text{АМФ}$$

$$\text{ГАК} = ([\text{АТФ}] \times [\text{АМФ}]) / [\text{АДФ}]^2$$

Где:

ЭЗ – энергетический заряд;

ЭП – энергетический потенциал;

Кср – сравнительный коэффициент;

ИФ – индекс фосфорилирования;

ТДК – термодинамический контроль

дыхания;

ГАК – соотношение компонентов

аденилатциклазной реакции;

Сравниваем их с нормальными показателями и предполагаем развитие митохондриальной болезни у детей.

Выводы

Диагностика митохондриальных болезней на ранних этапах- весьма затруднительна. Это связано с особенностями функций и жизнедеятельности митохондрий. Одной из болезней является болезнь Лея-аутосомно-рецессивное (митохондриальное реже) заболевание, в основе которого лежит дефицит ферментов дыхательной цепи. Это ведет к нарушению синтеза основного источника энергии АТФ. Диагностики данной болезни на ранних этапах пока не существует, по этому мы предлагаем 2 методики: 1-исследование ядерной ДНК на наличие митохондриальной болезни. 2- определение адениловых нуклеотидов с помощью тонкослойной хроматографии- дешевого и универсального метода определения качественного и количественного состава веществ. Данная методика позволяет нам предположить наличие любой митохондриальной болезни у детей.

A fluffy, light-colored kitten is sitting upright in a dark environment. To its right is a lit lamp with a yellow, pleated shade and a glass base. The lamp's light illuminates the kitten's face and the surrounding area. The kitten has large, dark eyes and a slightly open mouth, looking directly at the viewer.

СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ