УДК 611.018.1:576.311.347:575.13

Никитина Л.П., Гомбоева А.Ц., Соловьева Н.В., Кузнецова Н.С.

МИТОХОНДРИАЛЬНЫЕ БОЛЕЗНИ
ЧАСТЬ I. ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АППАРАТ МИТОХОНДРИЙ

ГОУ ВПО Читинская государственная медицинская академия, г.Чита

В работе представлены современные данные об особенностях генома митохондрий.
***Ключевые слова**: Митохондрии, функции мтДНК, строение*

MITOCHONDRIALN DISEASES
REPORT I. MITOCHONDRIAL GENOME

Modern data about features of mitochondrial genome are presented.
***Keywords**: mitochondrions, function, mtDNA*

Медики всего мира констатируют общепланетарную тенденцию - рост числа редких болезней. Специалисты связывают наблюдаемое явление как с улучшением диагностики, так и с ухудшением экологической обстановки, провоцирующей возникновение новых мутаций в генах человека [14]. Именно этим обусловлено появление в конце XX века новой парадигмы медицины - "4P" (predictive, personalized, preventive, participatory medicine) и новой модели здравоохранения. Основа этого направления - пациент с конкретным недугом, причем ключевыми понятиями являются "редкая болезнь" (rare disease) и лекарство-сирота (orphan drug) [37].

Среди множества редких заболеваний особое место занимают патологические состояния, вызванные повреждениями митохондрий [35, 36].

Еще в 1850 году Kelliker впервые наблюдал эти органоиды в виде гранул в мышечных клетках. Позднее в 1898 году было доказано, что они играют важную роль в окислительно-восстановительных процессах и клеточном дыхании [9,13]. В 60-е годы XX века были обнаружены митохондриальный геном и митохондриальная ДНК (мтДНК) [6], которая способна транскрибироваться с последующей трансляцией [13]. Филогенетический анализ свидетельствует о том, что данные органеллы были многие тысячи лет назад самостоятельными бактериями (□-протобактериями), которые позднее вступили в симбиоз с другими клетками; их связь стала неразрывной, что привело к возникновению современных эукариотических клеток [5, 15].

Практически каждое такое образование включает сотни и тысячи митохондрий, которые содержат по 2 -10 копий мтДНК размером до 70 нм [15, 16, 24]. На долю данного полинуклеотида, обозначаемого 25-ой хромосомой, приходится до 5% от общего количества ДНК клетки [15]. В первичную структуру двойной нити входит 16569 пар мононуклеотидов. Так как обе цепи различаются по содержанию аденина (A) и гуанина (G), отсюда равновесное ультрацентрифугирование позволяет их разделить на тяжелую (H- heavy) и легкую (L- light) цепи [15]. Вторичная структура - хорошо спирализованное образование. Третичная - представляет кольцевой дуплекс, т.е. концы сдвоенной нити сближены и ковалентно соединены между собой и с относительно малым числом белков [15, 16].

мтДНК содержит 37 генов, продукты которых участвуют в процессе выделения энергии в электронно-транспортной цепи, располагающейся во внутренней мембране митохондрий и состоящей из 5 сопряженно функционирующих ферментных комплексов [12] (табл.).

Семь субъединиц, входящие в состав I комплекса, одна - III-го, три - IV-го и две V комплексов, зашифрованы в мтДНК (рис.) [8, 12, 15]. 93% полинуклеотидной цепи лишено интронов [4, 6, 12, 16, 22]. Остальные 70 полипептидов, включенные

Таблица

Структурно-функциональная характеристика комплексов дыхательной цепи [6,16]

Комплекс	Состав	Функция
I (НАДН - коэнзим Q- редуктаза)	25-28 полипептидов, 7 из которых кодируются мтДН	Транспорт электронов от НАДН $^{+}H^{+}$-продуцирующих субстратов на убихинон
II (Сукцинат-коэнзим Q - редуктаза)	5 ядернокодируемых пептидов	Перенос восстановительных эквивалентов от $ФАДН_2$ - продуцирующих субстратов на убихинон (коэнзим Q_{10})
III (Коэнзим Q - цитохром с-редуктаза)	11 субъединиц, 1 кодируется мт ДН	Транспорт электронов от восстановленного убихинона
IV	Цитохромы а, а3 и 13 протеиновых субъединиц, три из которых кодируются мтДН	Окончательный этап передачи электронов от восстановленного цитохрома с на молекулярный кислород. Поддержка активности протонного насоса.
V (АТФ- синтетаза)	Все субъединицы кодируются мтДН	Обеспечение обратного тока протонов во внутрь митохондриального матрикса, использование освободившейся энергии на синтез АТФ

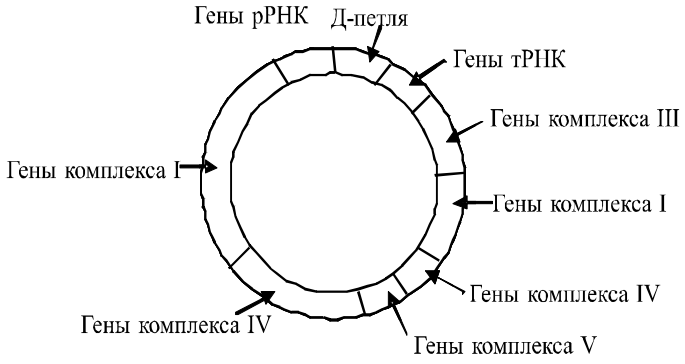

Рис. Упрощенная карта-схема мтДНК человека с указанием положения генов [12, 15]

в комплексы, кодируются ядерными генами, транспортируются в митохондрии и в них функционируют [6, 15, 16].

Молекулы мтДНК, помимо 13 структурных генов [2, 25], содержат гены 22 тРНК и 2 рРНК, принимающих участие в синтезе протеинов органелл [15], имеют регуляторные последовательности, которые располагаются в некодирующем (контрольном) регионе (КР) протяженностью 1122 пары мононуклеотидов [15]. В КР размещены промоторы для H и L цепей, а также точки инициации репликации тяжелой цепи [7, 15]. В составе контрольного района регистрируется D-петля (displacement loop) [15] - трехцепочечный участок длиной 710 пар мононуклеотидов [12, 15], обладающий гипервариабельностью нуклеиновых последовательностей [7]: высокоструктурированный участок, включающий консервативную центральную область (CCR, или домен II) и две периферические области (L - light, или CG - богатый домен и R - right, или AT - богатый регион). CCR проявляет высокую гомологию вследствие своей функциональной значимости и сильных ограничений при отборе, а периферические области характеризуются высокой скоростью нуклеиновых замен и изменениями числа копий [7].

Репликация мтДНК осуществляется с помощью мтДНК-полимеразы □(Twinkle - хеликазы) [15], которая состоит из двух субъединиц: каталитической, кодируемой геном POLG1, и дополнительной, зашифрованной в POLG2 [3, 11, 20].

Несмотря на автономность мтДНК, для ее функционирования необходимы белки, кодируемые ядерным геномом (38); синтезированные в цитоплазме протеины транспортируются в митохондрии, где активно работают [24]. Синтез гема, мочевины, цикл трикарбоновых кислот, □-окисление жирных кислот, окислительное декарбоксилирование пирувата, регуляция апоптоза - эти локализованные в митохондриях процессы осуществляются с участием белков, закодированных в генах ядерной ДНК [15, 16, 29]. Таким образом, функции митохондрий обеспечиваются совместным действием митохондриальных и ядерных генов ("митохондриальные гены"). К ним относят и POLG1 [11, 18, 20, 28], кодирующий митохондриальную ДНК-полимеразу, которая обладает и полимеразной, и эндонуклеазной активностью, следовательно участвует в процессах репликации и репарации мтДНК [11, 18, 20, 33].

Кроме того геномы высших организмов содержат нетранскрибируемые обычно последовательности - дубликаты мтДНК (названы NUMT - псевдогены) [10, 22, 23]; их одно- и двух цепочечные молекулы (независимо от размера, мембранного потенциала) могут импортироваться в митохондрии, где способны реплицироваться, транскрибироваться [13, 31]. Обнаружено и обратное явление - перенос подобных фрагментов мтДНК в ядро [22]. Их выход чаще связан с повреждением митохондриальных мембран, а включение происходит в процессе репарации двухнитевых разрывов ядерной ДНК, которые могут возникать эндогенно или под влиянием экзогенных агентов [26, 32, 34, 40].

При возникновении аномалии в звеньях мтДНК, используется индукция компенсаторного синтеза мтДНК и активация биогенеза митохондрий, которые регулируются группой ядерных генов [1].

Исследования генома данных органелл выявили его совершенно уникальные способности. Первое шокирующее сообщение пришло более 30 лет назад, когда было обнаружено, что в них нередки отклонения от универсального генетического кода. В последние годы описаны 16 его вариантов [21, 30]. Наиболее часто стоп-кодоны используются для кодирования определенных аминокислотных остатков [8]. В то же время в митохондриях человека аргининовые триплеты AGA и AGG выполняют роль бессмысленных кодонов [8].

Другой необычной чертой этого генома является особенность узнавания антикодонов тРНК: одна ее молекула способна определить сразу четыре разных триплета. Подобное свойство уменьшает значимость третьего мононуклеотида в кодоне и приводит к тому, что тРНК требуется меньшее число тРНК. Всего 22 подобных соединения достаточно для опознания всех триплетов, тогда как в цитоплазме клеток находят более 60 вариантов тРНК [12].

Следует заметить, что все митохондриальные полирибонуклеотиды построены несколько иначе, чем их цитоплазматические аналоги: они короче (не более 80 мононуклеотидов), вторичную структуру тРНК не всегда можно сравнить с "клеверным листом" [15].

Митохондрии содержат очень маленькие рибосомы (при ультрацентрифугировании коэффициент седиментации едва достигает 55S). При этом большие рРНК имеют меньшие размеры, а малые вообще отсутствуют. Не обнаруживаются и некоторые белковые компоненты рибосом [15]. Последовательности мРНК также уменьшены по длине, они утратили 5`- концевой кэп-участок, часть полиаденилатного "хвоста" [15].

Таким образом, наличие генетического аппарата в митохондриях позволяет им выполнять множество функций, основной из которых является окислительное фосфорилирование. Синтез АТФ подобным спо-

собом обеспечивается биохимическими циклами клеточного дыхания [8, 16]. Кроме того, митохондрии способствуют реализации таких феноменов, как:

1. обратная зависимость пролиферации и дифференцировки клеток;
2. относительно легкая и частая малигнизация эмбриональных и стволовых клеток, содержащих малое количество митохондрий;
3. реверсия таких клеток к нормальному фенотипу.

Они причастны к различным клеточным патологиям, в частности - к возрастным (атеросклерозу, гипертонической болезни, сахарному диабету, болезни Альцгеймера) [9], что значительно повышает интерес к классу наследственных заболеваний человека, обусловленных биохимическими дефектами в системе окислительного фосфорилирования [9, 17, 19, 31, 39].

ЛИТЕРАТУРА

1. Газиев А.И. Повреждения митохондриального генома и пути его сохранения / А.И. Газиев, Г.О. Шайхаев // Генетика - 2008. - № 44. - С. 611-618.
2. Газиев А.И. Ядерно-митохондриальные псевдогены / А.И. Газиев, Г.О. Шайхаев // Молекулярная биология. - 2010. - Т. 44, №3.- С. 405-413.
3. Ген митохондриальной □-полимеразы (POLG1): частота и анализ сцепления двух однонуклеотидных замен (SNP) в популяциях народов Сибири / С.В. Буйкин, М.В. Голубенко, В.В. Погребенкова [и др.] // Молекулярная биология. - 2006. - Т. 40, № 6. - С. 1081-1083.
4. Доля мутантной внеклеточной митохондриальной ДНК повышается у больных раком легких после радиотерапии / И.Ю. Стрелкова, С.А. Абдуллаев, Т.П. Снегирева [и др.] // Биомедицинская химия. - 2010. - Т. 56, № 4. - С. 517-525.
5. Емельянов В.В. Предполагаемое митохондриальное происхождение немитохондриального АТФ/АДФ - переносчика / В.В.Емельянов // Молекулярная биология. - 2007. - Т. 41, № 1. - С. 59-70.
6. Ершова С.А. Дисфункция митохондрий при нефропатиях у детей. Обзор литературы / С.А. Ершова // Нефрология и диализ. - 2003. - Т. 5, № 4 - С. 1-14.
7. Корниенко И.В. Закономерности появления одиночных нуклеотидных замен в гипервариабельных участках контрольного региона митохондриальной ДНК человека / И.В. Корниенко, Д.И. Водоложский // Молекулярная биология. - 2010. - Т. 44. - С. 439-446.
8. Лекомцев С.А. Вариантные генетические коды и терминация трансляции / С.А.Лекомцев // Молекулярная биология. - 2007. - Т. 41, № 6. - С. 964-972.
9. Лю Б.Н. Роль митохондрий в развитии и регуляции уровня окислительного стресса в норме, при клеточных патологиях и реверсии опухолевых клеток / Лю М.Б., Лю Б.Н., Б.И. Исмаилов // Успехи современной биологии. - 2006. - Т. 126, № 4. - С. 388-398.
10. Малярчук Б.А. "Холодные" точки гипервариабельного сегмента 1 митохондриальной ДНК человека / Б.А. Малярчук // Молекулярная биология. - 2008. - Т. 42, № 2. - С. 454-458.
11. Малярчук Б.А Нестабильность микросателлитного CAG - повтора в двух группах гаплотипов гена митохондриальной □ДНК- полимеразы человека / Б.А. Малярчук, М.А. Перкова, М.В. Деденко // Молекулярная биология. - 2009. - Т. 43, № 4. - С. 623-627.
12. Митохондриальный геном и митохондриальные болезни человека / Р.И. Сукерник, О.А. Дербенева, Е.Б. Стариковская [и др.] // Генетика. - 2002. - Т. 38, № 2. - С. 1-10.
13. Направленный импорт макромолекул в митохондрии / П.А. Каменский, Е.Н. Виноградова, И.А. Крашенинников [и др.] // Молекулулярная биология. - 2007. - Т. 41, № 2. - С. 216 - 233.
14. Персонализированная медицина и лечение редких болезней - новая парадигма современной медицины / А.А. Соколов, М.Н. Гусева, А.А. Ацапкина [и др.] //

Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. - 2010. - Т. 9, № 3. - С. 6 -12.
15. Сологуб М.Ю. Транскрипция и ее регуляция в митохондриях млекопитающих и человека / М.Ю. Сологуб, С.Н. Кочетков, Д.Е. Темяков // Молекулярная биология. - 2009. - Т. 43, № 2. - С. 215-229.
16. Тодоров И.Н. Митохондрии: окислительный стресс и мутации митохондриальной ДНК в развитии патологий, процесс старения и апоптоза / И.Н. Тодоров // Российский химический журнал. - 2007. - Т. LI, № 1. - С. 93 - 106.
17. Analysis of European mtDNA for recombination // J.L. Elson, R.M. Andrews, P.F. Chinnery [et al.] // Am. J. Hum. Genet. - 2001.- № 68. - P. 145 - 153.
18. Assotiation of the polymorphism of the CAG repeat in the mitochongrial DNA polymerase gamma gene (POLG) with testicular germ-cell cancer / M.J. Blomberg, H. Leffers, J.H. Petterson [et al.] // Ann. Oncol. - 2008. - № 19. - P. 1910-1914.
19. Balaban R.S. Mitochondria, oxidants, and aging / R.S. Balaban, S. Nemoto, T. Finkel / / Cell. - 2005. - № 120. - P. 483-495.
20. CAG repeat length variation in the polymerase gamma (POLG) gene: effect of semen quality / G. H. Westerveld, L. Kaaj, J. Visser [et al.] // Mol. Hum. Reprod. - 2008. - № 14. - p. 245-249.
21. Driving change: the evolution of alternative genetic codes / M.A. Santos, G. Mouza, S.E. Massey [et al.] // Trends Genet. - 2004. - № 20.- P. 95-102.
22. Falkenberg M. DNA replication and transcription in mammalia mitochondria / M. Falkenberg, N. G. Larsson, C.M. Gustafsson // Annu. Rev. Biochem. - 2007. -№ 76. - P. 679-699.
23. Gerstein M. The role life of pseudogenes / M. Gerstein, D. Zheng // Sci Am. - 2006. - № 295. - P. 48-55.
24. Grossman L. Mitochondrial genetics and human disease / L.Grossman, E. Shonbridge // Bio-Essays. - 1996. - № 18. - P. 983 - 991.
25. Guy L. Genometric analysis of the organization of circular chromosomes a universal pressure determines the direction of ribosomal RNA genes transcription relative to chromosome replication / L. Guy, C.A. Roten // Gene. - 2004. - № 29. - P. 45-52.
26. Kim I. Selective degradation of mitochondria by mitophagy / I. Kim, S. Rodriguez-Enriquez, J.J. Lemasters // Arch. Biochem. Biophys. - 2007. - № 462. - P. 245-253.
27. Low frequency of mtDNA point mutations in patients with PEO associated with POLG1 mutations / G. Kollberg, M. Jansson, A. Perez-Bercoff [et al.] // Eur. J. Hum. Genet. - 2005. - № 13. - P. 463-469.
28. Low variability of the POLG (CAG)n repeat in North Euroasian populations / B.A. Malyarchuk, M. Papuga, T. Grzybowski [et al.] // Hum. Biol. - 2005. - № 77. - P. 355-365.
29. Luft R. The development of mitochondrial medicine / R. Luft // Proc. Nat. Acad. Sci USA. - 1999. - V. 91, № 19. - P. 8731 - 8738.
30. Mitochondrial genome variation and the origin of modern humans / M. Ingman, H. Kaessmann, S. Paabo [et al.] / Nature. - 2000. - V. 408. - P. 708-713.
31. Natural competence of mammalian mitochondria allows the molecular investigation of mitochondrial gene expression / M. Koulintchenko, R.J. Temperley, P.A. Mason [et al.] // Hum. Mol. Genet. - 2006. - № 15. - P.143 - 154.
32. Ortutay C. PseudoGeneQuest-Service for identification of different pseudogene type in the human genome / C. Ortutay, M. Vihinen / / BMC Bioinformations. - 2008. - № 9. - P. 299 -308.
33. Premature ageing in mice expressing defective mitochondrial DNA polymerase / A. Trifunovic, A. Wredenberg, M. Falkenberg [at al.] // Nature. - 2004. - № 429. - P. 417-423.
34. Pseudofam: the pseudogene families database / H.K. Lame, E. Khurana, G. Fang [et al.] // Nucleic Acids Res. - 2009. - № 37. - P. D738 -D743.
35. The role of selection in the evolution of human mitochondrial genomes / T. Kivisild, P. Shem, D. Wall [et al.] // Genetics. - 2006. - № 172. - P. 373 - 387.
36. Stanley W.C. Myocardial substrate metabolism in the normal and failing heart / W.C. Stanley, F.A. Rechirt, G.D. Lopaschuk //

Phisiol. Rev. - 2005. - № 85. - P. 1093-1129.
37. Stolk P. "Rare essentials": drugs for rare disease as essential medicines / P. Stolk, M. JC. Willemen, G.M. Leufkens // Bull. World Health Organ. - 2006. - № 86, № 9. - P. 746 - 751.
38. Stuart J.A. Mitochondrial DNA maintenance and bioenergetics / J.A. Stuart, M.F. Braun // Biochem. Biophys. Acta. - 2006. - № 1757. - P. 79-89.
39. Wallace D.C. A mitochondrial paradigm of metabolic and degenerative diseases, aging and cancer: a dawn for evolutionary medicine / D.C. Wallace // Annu. Rev. Genet. - 2005.- № 39. - P. 359-407.
40. Zhang J. Mitophagy in mammalian cells: the reticulocyte model / J. Zhang, M. Kundu, P.A. Ney // Metods Enzymol. - 2009. - № 452. - P. 227 - 245.