

Диагностическое значение показателя коэнзима Q₁₀ в крови у детей с митохондриальными заболеваниями

Е.А. Николаева, М.Н. Харабадзе, И.В. Золкина, Т.Е. Кулагина, Т.Н. Васина, С.Н. Ставцева, П.Б. Глаговский, И.С. Мамедов, П.В. Новиков

ОСП «Научно-исследовательский клинический институт педиатрии» ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова, Москва; Медицинский институт ГБОУ ВПО «Орловский государственный университет»; Медицинская лаборатория ООО «ХромсистемсЛаб», Москва

Diagnostic value of blood coenzyme Q₁₀ levels in children with mitochondrial diseases

E.A. Nikolaeva, M.N. Kharabadze, I.V. Zolkina, T.E. Kulagina, T.N. Vasina, S.N. Stavtseva, P.B. Glagovsky, I.S. Mamedov, P.V. Novikov

“Research Clinical Institute of Pediatrics, N.I. Pirogov Russian National Research Medical University”, Moscow; Medical Institute, “Orel State University”; ООО “ChromsystemsLab” Medical Laboratory, Moscow

С целью установления диагностической значимости изменения показателя коэнзима Q₁₀ проведено исследование его уровня в крови у 15 детей с митохондриальными заболеваниями (1-я группа). Группу сравнения составили 13 детей с нейродегенеративными заболеваниями (2-я группа). В контрольную группу вошли 29 здоровых детей аналогичного возраста. Средний уровень коэнзима Q₁₀ в 1-й группе детей (0,56±0,06 мкмоль/л) не отличался от значений контрольной группы. Однако у этих пациентов было значительно снижено отношение коэнзим Q₁₀/холестерин (0,10±0,01; p<0,001). У больных старшей возрастной подгруппы определялся достоверно более низкий уровень коэнзима Q₁₀, что, по-видимому, отражает прогрессирующий характер патологии. Отмечена тенденция к снижению с возрастом отношения коэнзим Q₁₀/холестерин. У детей 2-й группы выявлено более высокое содержание коэнзима Q₁₀ в крови (1,53±0,23 мкмоль/л; p<0,001), чем в 1-й группе, и повышение отношения коэнзим Q₁₀/холестерин (0,31±0,04 мкмоль/л; p<0,001). Рекомендуется продолжить исследования для установления обоснованности использования низких показателей коэнзима как дополнительного критерия дифференциальной диагностики митохондриальных болезней.

Ключевые слова: дети, митохондриальные болезни, нейродегенеративные болезни, коэнзим Q₁₀, холестерин, диагностика.

To establish the diagnostic value of a change in the indicator coenzyme Q₁₀, its blood levels were tested in 15 children with mitochondrial diseases (Group 1). A comparison group consisted of 13 children with neurodegenerative diseases (Group 2). A control group included 29 healthy children of the same age. In Group 1 patients, the mean coenzyme Q₁₀ level (0,56±0,06 μmol/l) did not differ from that in the control group. However, these patients had a considerably lower coenzyme Q₁₀/cholesterol ratio (0,10±0,01; p<0,001). The patients in the older age subgroup were found to have a significantly lower coenzyme Q₁₀ level, which seems to reflect the progressive nature of the abnormality. There was a trend for the coenzyme Q₁₀/cholesterol ratio to decline with age. Group 2 children had higher blood coenzyme Q₁₀ levels (1,53±0,23; p<0,001) than Group 1 and an increased Q₁₀/cholesterol ratio (0,31±0,04; p<0,001). It is advisable to continue the investigation to provide a rationale for using low coenzyme values as an additional criterion for the differential diagnosis of mitochondrial diseases.

Key words: children, mitochondrial diseases, neurodegenerative diseases, coenzyme Q₁₀, cholesterol, diagnosis.

Митохондриальные болезни – большая гетерогенная группа патологических состояний, в основе которых лежат генетически детерминированные расстройства клеточной биоэнергетики [1, 2]. Заболевания, как правило, проявляются тяжелыми нарушениями нервной, мышечной, сердечно-сосудистой, эндокринной систем, поражением органов

чувств. Диагностика и дифференциальная диагностика митохондриальных болезней затруднена, что связано с разнообразием и недостаточной специфичностью клинических признаков, сходством наблюдаемых симптомокомплексов с проявлениями заболеваний иного происхождения – нейродегенеративных, нервно-мышечных, болезней соединительной ткани.

© Коллектив авторов, 2015

Ros Vestn Perinatol Pediat 2015; 5:71–75

Адрес для корреспонденции: Николаева Екатерина Александровна – д.м.н., гл.н.с. отдела психоневрологии и наследственных заболеваний Научно-исследовательского клинического института педиатрии
Новиков Петр Васильевич – д.м.н., проф., рук. того же отдела
Харабадзе Малвина Нодариевна – к.м.н., зав. отделением психоневрологии и наследственных заболеваний с поражением ЦНС и нарушением психики у детей того же учреждения
Золкина Ирина Вячеславовна – к.б.н., в.н.с. научно-исследовательской лаборатории общей патологии того же учреждения
Кулагина Татьяна Евгеньевна – биотехнолог той же лаборатории
125412 Москва, ул. Талдомская, д. 2

Васина Тамара Николаевна – к.м.н., доц., зав. каф. «Педиатрия» Медицинского института Орловского государственного университета
Ставцева Светлана Николаевна – ст. преподаватель каф. «Педиатрия» Медицинского института Орловского государственного университета, врач-генетик Детской областной клинической больницы им. З.И. Круглой
302028 Орел, ул. Октябрьская, д. 25
Глаговский Павел Борисович – зав. клинко-диагностической лабораторией ООО «ХромсистемсЛаб»
117485, Москва, ул. Бултерова, д. 12
Мамедов Ильгар Салехович – к.м.н., директор Центра внедрения инновационных медицинских и фармацевтических технологий РНИМУ им. Н.И. Пирогова
117997 Москва, ул. Островитянова, д. 1

Для улучшения диагностики предложено использовать диагностические критерии, в том числе клинические, метаболические, молекулярно-генетические и др.

Метаболические нарушения, наблюдаемые у пациентов с митохондриальными заболеваниями, в основном проявляются гиперлактат- и гиперпируватацидемией, метаболическим ацидозом, кетозом, усиливающимся после приема углеводов, органической ацидурией с повышенной экскрецией метаболитов цикла Кребса, дикарбоновых кислот, 3-метилглютаконовой кислоты. В последние годы обращено внимание, что митохондриальные энцефаломиопатии нередко сочетаются с низким уровнем коэнзима Q_{10} в крови и мышечной ткани [3].

Коэнзим Q_{10} — биологически активное соединение из группы убихинонов, входит в состав биологических мембран, существует в окисленной (убихинон) и восстановленной (убихинол) формах [4, 5]. Коэнзим Q_{10} служит одним из основных компонентов электронно-транспортной цепи митохондрий; в форме убихинона выполняет роль переносчика электронов от комплекса I (НАДН-коэнзим Q-оксидоредуктаза) и от комплекса II (сукцинатдегидрогеназа) к комплексу III (коэнзим Q-цитохром с-оксидоредуктаза). При этом происходит образование восстановленной формы — убихинола [5, 6], который, являясь мощным антиоксидантом, оказывает протективное действие на биологические мембраны, регулирует их проницаемость, ингибирует пероксидацию липопротеидов плазмы крови, обеспечивает восстановление активности токоферола [7, 8].

В организме млекопитающих наибольшее количество коэнзима Q_{10} содержится в сердечной и скелетной мышцах. Будучи липофильным, в кровяном русле коэнзим Q_{10} находится в соединении с липопротеинами и холестерином. У здоровых лиц в сыворотке/плазме крови и в мышцах содержание убихинона широко варьирует. У взрослых его уровень в крови составляет 0,5–1,7 мкмоль/л. Относительно детей — сведения противоречивы [5, 8, 9].

Как показали исследования, низкий уровень коэнзима Q_{10} в плазме и тканях определяется при приеме ряда лекарственных препаратов (например, статинов), а также при некоторых заболеваниях, в основном у лиц старшего возраста — болезнях Паркинсона и Альцгеймера, атеросклерозе, болезнях сердечно-сосудистой системы, сахарном диабете и др. При наследственных заболеваниях у детей выделены формы первичного дефицита коэнзима Q_{10} , обусловленные дефектами его биосинтеза (мутации генов *PDSS1*, *PDSS2*, *CoQ2*, *CoQ6*, *CoQ9*, *ADCK3*). Эти заболевания входят в группу митохондриальной патологии. Кроме того, недостаточность коэнзима Q_{10} , признанная вторичной, выявлена у пациентов с мевалоновой ацидемией (ген *MVK*), глутаровой ацидемией 2-го типа (ген *ETFDH*), атаксией-окулоmotorной апраксией 1-го типа (ген *ARTX*), сердечно-кожно-лицевым синдромом (ген *BRAF*), атаксией Фридрейха (ген *FXN*), миодистрофией Дю-

шенна (ген *DMD*) и митохондриальными болезнями, генез которых не связан с нарушениями биосинтеза коэнзима Q_{10} в крови и мышцах у части больных с митохондриальной патологией, ассоциированной с мутациями и делецией митохондриальной ДНК сообщили S. Zierz и соавт. (1989) [26], T. Matsuoka и соавт. (1991) [15, 16] и ряд других авторов [17–20].

Для выявления дефицита коэнзима Q_{10} используют определение его уровня в биологических жидкостях (плазме или сыворотке крови), фибробластах и мышечной ткани. Однако на содержание этого вещества в крови влияет поступление липидов с пищей и сывороточный уровень холестерина, в связи с этим предложено определять отношение показателя коэнзима Q_{10} к уровню холестерина [8, 10].

Цель исследования: определение содержания коэнзима Q_{10} в крови у детей с митохондриальными заболеваниями и установление диагностической значимости данного показателя.

Характеристика детей и методы исследования

В специализированном генетическом отделении НИКИ педиатрии проведено комплексное обследование 15 детей (1-я группа) в возрасте от 1 года до 16 лет (средний возраст $8,5 \pm 1,4$ года) с митохондриальными заболеваниями. Соотношение мальчики: девочки — 2:13. У 9 детей заболевания были обусловлены делециями или точковыми мутациями митохондриальной ДНК: у 3 пациентов диагностирован синдром Кернса—Сейра (крупная делеция митохондриальной ДНК), у 2 — митохондриальная энцефаломиопатия с пирамидно-экстрапирамидным синдромом (ген *ND1*), у 2 — митохондриальная энцефаломиопатия с кардиомиопатией (ген *MTTK*), у 1 — синдром MELAS (ген *MTTL1*), у 1 — синдром Ли (ген *ND3*). У 6 детей диагностированы митохондриальные болезни ядерного происхождения: у 3 — лейкоэнцефалопатия с поражением ствола мозга, спинного мозга и повышенным уровнем лактата в мозговой ткани (ген *DARS2*), у 2 — синдром Ли (ген *SURF1*), у 1 — митохондриальная энцефаломиопатия с резкой задержкой физического развития (ген *NDUFB9*).

Группу сравнения (2-я группа) составили 13 детей в возрасте от 1 года до 15 лет (средний возраст $6,4 \pm 1,3$ года) с нейродегенеративными заболеваниями, в том числе с нейрональным цероидлипидозом, сфинголипидозом, эпилепсией, прогрессирующей атаксией. Соотношение мальчики: девочки — 4:9. В контрольную группу (3-я группа) вошли 29 здоровых детей в возрасте от 1 года до 16 лет (средний возраст $7,4 \pm 0,8$ года), проходивших плановое обследование в Центре здоровья Детской областной клинической больницы им. З.И. Круглой г. Орла (получено информированное согласие родителей). Соотношение мальчики: девочки — 16:13. Средний возраст детей трех групп статистически достоверно не различался.

Обследование больных первых двух групп включало комплекс клинических (анализ родословной, неврологическое, кардиологическое обследование и др.) и биохимических методов. У всех детей определяли уровень коэнзима Q₁₀ в плазме крови методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с детектированием в УФ-диапазоне (хроматограф Shimadzu Nexera LC-30) и содержание холестерина в крови фотометрическим методом (анализатор Konelab Prime 60i) с последующим вычислением отношения коэнзим Q₁₀/холестерин. ДНК-диагностика заболеваний была проведена в лаборатории болезней обмена веществ (рук. — д.м.н., проф. Е.Ю. Захарова) МГНЦ РАМН.

Статистическую обработку полученных количественных данных осуществляли на персональном компьютере с применением методов вариационной статистики и корреляционного анализа. Использовали стандартные пакеты статистических программ Statistica, Excel 7,0. Определение статистической значимости проводили по *t*-критерию Стьюдента, различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

Содержание коэнзима Q₁₀ в крови у детей 1-й группы, страдавших митохондриальными болезнями, составило $0,56 \pm 0,06$ мкмоль/л и не отличалось от показателя в контрольной группе, но было достоверно ниже ($p < 0,01$), чем у детей 2-й группы с нейродегенеративными заболеваниями (табл. 1). У детей 2-й группы данный показатель ($1,53 \pm 0,23$ мкмоль/л) существенно превышал таковой у здоровых детей ($p < 0,01$).

Уровень холестерина в крови у больных 1-й и 2-й групп был достоверно выше, чем у здоровых ($p < 0,01$). Отношение коэнзим Q₁₀/холестерин было резко нарушено по сравнению с таковым у здоровых детей (см. табл. 1). При митохондриальных заболеваниях выявлено значимое снижение указанного параметра ($0,10 \pm 0,01$; $p < 0,001$), при нейродегенеративных заболеваниях — существенное повышение ($0,31 \pm 0,04$; $p < 0,002$).

Для проведения анализа исследуемых показателей у детей разного возраста в каждой группе были выделены подгруппы детей в возрасте 1–5 и 6–16 лет (табл. 2). У здоровых детей (3-я группа) связанных с возрастом различий выявлено не было.

У больных старшего возраста, страдавших мито-

хондриальными заболеваниями, содержание коэнзима Q₁₀ в крови было достоверно ниже, чем в младшей подгруппе ($p < 0,05$), и достоверно отличалось от его уровня у детей того же возраста 2-й ($p < 0,001$) и 3-й ($p < 0,05$) групп. Кроме того, отмечена тенденция к более низкому уровню холестерина и более низкому отношению коэнзим Q₁₀/холестерин у больных старшего возраста. Исследование корреляционных взаимосвязей показало отрицательную корреляционную зависимость содержания в крови коэнзима Q₁₀ и холестерина от возраста у детей этой группы ($r = -0,52$ и $r = -0,45$ соответственно; $p < 0,05$).

В группе детей с нейродегенеративными заболеваниями наблюдалась противоположная тенденция к более высоким показателям коэнзима Q₁₀, холестерина и их соотношения у пациентов старшей подгруппы (см. табл. 2). Эти возрастные различия недостоверны, по-видимому, в связи с небольшим количеством обследованных. Установлена положительная корреляция уровня коэнзима Q₁₀ и холестерина в крови ($r = 0,66$; $p < 0,05$), кроме того, указанные параметры положительно коррелировали с возрастом больных ($r = 0,37$ и $r = 0,41$ соответственно; $p < 0,05$).

Сравнение изученных показателей у детей с митохондриальными заболеваниями, обусловленными мутациями митохондриальной ($n = 9$) и ядерной ($n = 6$) ДНК, не выявило различий. По возрасту эти подгруппы достоверно не различались.

Обсуждение

Как показали проведенные исследования, средний уровень коэнзима Q₁₀ в группе детей с митохондриальными заболеваниями не отличался от значений контрольной группы. Однако этим пациентам было свойственно более высокое содержание холестерина и, как следствие, было значительно снижено отношение коэнзим Q₁₀/холестерин. У больных старшей возрастной подгруппы определялся достоверно более низкий уровень коэнзима Q₁₀, что, на наш взгляд, отражает прогрессирующий характер патологии. Отмечена тенденция (без достоверного различия) к снижению с возрастом отношения коэнзим Q₁₀/холестерин.

У детей с нейродегенеративными заболеваниями, не связанными с первичной митохондриальной дисфункцией, уровень холестерина (как и в 1-й группе) превышал показатели у здоровых детей. Результаты остальных исследований резко отличались от та-

Таблица 1. Показатели коэнзима Q₁₀ и холестерина ($M \pm m$) в крови у обследованных детей

| Группа детей | Коэнзим Q ₁₀ , мкмоль/л | Холестерин, ммоль/л | Коэнзим Q ₁₀ /холестерин |
|----------------------|------------------------------------|---------------------|-------------------------------------|
| 1-я группа, $n = 15$ | $0,56 \pm 0,06$ | $5,8 \pm 0,38$ | $0,10 \pm 0,01$ |
| 2-я группа, $n = 13$ | $1,53 \pm 0,23$ | $4,8 \pm 0,31$ | $0,31 \pm 0,04$ |
| 3-я группа, $n = 29$ | $0,67 \pm 0,04$ | $3,5 \pm 0,12$ | $0,19 \pm 0,01$ |
| P_{1-2} | $< 0,001$ | — | $< 0,001$ |
| P_{1-3} | — | $< 0,001$ | $< 0,001$ |
| P_{2-3} | $< 0,001$ | $< 0,001$ | $< 0,002$ |

Таблица 2. Показатели коэнзима Q₁₀ и холестерина (M±m) в крови у детей разных возрастных групп

| Группа детей | Коэнзим Q ₁₀ , мкмоль/л | Холестерин, ммоль/л | Коэнзим Q ₁₀ /холестерин |
|------------------------|------------------------------------|---------------------|-------------------------------------|
| 1-я группа, n=15 | | | |
| Возраст 1–5 лет, n=5 | | 6,5±0,86 | 0,12±0,02 |
| p _{1–2} | 0,74±0,14* | <0,05 | <0,001 |
| p _{1–3} | | <0,001 | <0,05 |
| Возраст 6–16 лет, n=10 | 0,47±0,04 | 5,5±0,38 | 0,09±0,01 |
| p _{1–2} | <0,001 | | <0,001 |
| p _{1–3} | <0,05 | <0,001 | <0,001 |
| 2-я группа, n=13 | | | |
| Возраст 1–5 лет, n=7 | 1,18±0,26 | 4,4±0,44 | 0,26±0,03 |
| p _{2–3} | <0,001 | <0,05 | <0,05 |
| Возраст 6–16 лет, n=6 | 1,93±0,37 | 5,3±0,38 | 0,37±0,07 |
| p _{2–3} | <0,001 | <0,001 | <0,05 |
| 3-я группа, n=33 | | | |
| Возраст 1–5 лет, n=17 | 0,64±0,04 | 3,5±0,16 | 0,19±0,02 |
| Возраст 6–16 лет, n=16 | 0,69±0,07 | 3,6±0,18 | 0,20±0,02 |

Примечание. * – Достоверное отличие от старшей возрастной группы (p<0,05).

ковых у больных с митохондриальной патологией. Выявлено более высокое содержание коэнзима Q₁₀ в крови и повышение отношения коэнзим Q₁₀/холестерин, причем с возрастом эти изменения нарастают.

Полученные данные мы рассматриваем как предварительные в связи с небольшим количеством обследованных пациентов. Тем не менее результаты указывают на недостаточность коэнзима Q₁₀ у детей с митохондриальной патологией и подчеркивают различие звеньев патогенеза первичных митохондриальных болезней и нейродегенеративных заболеваний, имеющих иное происхождение. Клинические проявления этих заболеваний имеют большое сходство, что обуславливает трудности при дифференциальной диагностике. Окончательный диагноз формулируют на основании результатов молекулярно-генетического анализа, для целенаправленного проведения которого требуется установление предварительного диагноза.

ЛИТЕРАТУРА

- Goldstein A.C., Bhatia P., Vento J.M. Mitochondrial Disease in Childhood: Nuclear Encoded. *Neurotherapeutics* 2013; 10: 2: 212–226.
- Saneto R., Sedensky M.M. Mitochondrial Disease in Childhood: mtDNA Encoded. *Neurotherapeutics* 2013; 10: 2: 199–211.
- Garrido-Maraver J., Cordero M.D., Oropesa-Ávila M. et al. Coenzyme Q₁₀ Therapy. *Mol Syndromol* 2014; 5: 3–4: 187–197.
- Ernster L., Dallner G. Biochemical, physiological and medical aspects of ubiquinone function. *Biochim Biophys Acta* 1995; 1271: 195–204.
- Crane F.L. Biochemical functions of coenzyme Q₁₀. *J Am Coll Nutr* 2001; 20: 6: 591–598.
- Quinzii C.V., Hirano M., DiMauro S. CoQ₁₀ deficiency diseases in adults. *Mitochondrion* 2007; 7: Suppl: 122–126.
- Frei B., Kim M., Ames B.N. Ubiquinol-10 is an elective lipid-soluble antioxidant at physiological concentrations. *Proc Natl Acad Sci* 1990; 87: 4879–4883.
- Molyneux S.L., Yong J.M., Florkowski C.M. et al. Coenzyme Q₁₀: is there a clinical role and a case for measurement? *Clin Biochem Rev* 2008; 29: 71–82.
- Menke T., Niklowitz P., Schlüter B. et al. Plasma levels and redox status of coenzyme Q₁₀ in infants and children. *Biofactors* 2004; 20: 173–181.
- Hargreaves I.P. Coenzyme Q₁₀ in phenylketonuria and mevalonic aciduria. *Mitochondrion* 2007; 7: (1): 175–180.
- Quinzii C.V., DiMauro S., Hirano M. Human coenzyme Q₁₀ deficiency. *Neurochem Res* 2007; 32: 723–727.
- Artuch R., Salviati L., Jackson S. et al. Coenzyme Q₁₀: Deficiencies in Neuromuscular Diseases. *Adv Exp Med Biol* 2009; 652: 117–128.
- Emmanuele V., López L.C., Berardo A. et al. Heterogeneity of coenzyme Q₁₀ deficiency: Patient Study and Literature Review. *Arch Neurol* 2012; 69: 8: 978–983.
- Николаева Е.А., Мамедов И.С. Дефицит коэнзима Q₁₀

Для этой цели используют диагностические критерии, учитывающие клинические, метаболические и другие данные. Возможно, одним из таких критериев могут служить показатели коэнзима Q₁₀ в крови.

Заключение

В патогенезе митохондриальных заболеваний, несомненно, играет роль недостаточность коэнзима Q₁₀. Для определения значения выявленных нарушений для лечения больных детей препаратами убихинона, установления обоснованности использования показателей коэнзима как дополнительного критерия дифференциальной диагностики митохондриальных болезней рекомендуется продолжить исследования в группе пациентов разного возраста, страдающих митохондриальными заболеваниями, вызванными дефектами ядерной и митохондриальной ДНК.

- у детей: клиничко-генетические варианты, диагностика и лечение. Рос вестн перинатол и педиат 2012; 2: 77–83.
15. Zierz S., Jahns G., Jerusalem F. Coenzyme Q in serum and muscle of 5 patients with Kearns-Sayre syndrome and 12 patients with ophthalmoplegia plus. *J Neurol* 1989; 236: 2: 97–101.
 16. Matsuoka T., Maeda H., Goto Y., Nonaka I. Muscle coenzyme Q₁₀ in mitochondrial encephalomyopathies. *Neuromuscul Disord* 1991; 1: 6: 443–447.
 17. Montero R., Artuch R., Briones P. et al. Muscle coenzyme Q₁₀ concentrations in patients with probable and definite diagnosis of respiratory chain disorders. *Biofactors* 2005; 25: 1-4: 109–115.
 18. Miles M.V., Miles L., Tang P.H. et al. Systematic evaluation of muscle coenzyme Q₁₀ content in children with mitochondrial respiratory chain enzyme deficiencies. *Mitochondrion* 2008; 8: 170–180.
 19. Sacconi S., Trevisson E., Salviati L. et al. Coenzyme Q₁₀ is frequently reduced in muscle of patients with mitochondrial myopathy. *Neuromuscul Disord* 2010; 20: 44–48.
 20. Montero R., Grazina M. López-Gallardo E. et al. Coenzyme Q₁₀ deficiency in mitochondrial DNA depletion syndromes. *Mitochondrion* 2013; 13: 4: 337–341.

Поступила 24.06.15