

线粒体呼吸链复合物 I 缺陷导致 幼儿肝内胆汁淤积症

吴桐菲 刘玉鹏 王 峤 李溪远 马艳艳 宋金青 杨艳玲

(北京大学第一医院儿科, 北京 100034)

[摘 要] 线粒体呼吸链复合物缺陷是导致儿童线粒体病的主要原因。本文就 1 例线粒体呼吸链复合物 I 缺陷导致的幼儿胆汁淤积症患者的临床经过、生化特点、线粒体呼吸链复合物活性分析及基因突变进行回顾性研究。患儿,男,自 1 岁 1 个月起腹泻,体重下降,伴无力、进行性黄疸、肝损害。经多种检查、尿液有机酸分析及血液氨基酸、酯酰肉碱谱分析未见特异性改变。外周血白细胞线粒体呼吸链复合物 I 活性降低,线粒体基因分析发现患儿及其母亲 tRNA 5821G > A 突变,证实患儿存在线粒体呼吸链复合物 I 缺陷。患儿疾病进展迅速,治疗无效,于 1 岁 5 个月时夭折。复合物 I 缺陷是线粒体呼吸链缺陷中最常见的类型,本研究首次诊断了 1 例线粒体呼吸链复合物 I 缺陷所导致的中国儿童患者,其临床表现为胆汁淤积症。线粒体肝病是导致儿童代谢性肝病的主要原因之一,生化分析、线粒体呼吸链复合物活性测定及基因分析是病因诊断的关键。

[中国当代儿科杂志,2012,14(4):241-246]

[关 键 词] 线粒体病;线粒体呼吸链;线粒体呼吸链复合物 I 缺陷;胆汁淤积症;突变;线粒体肝病;儿童

[中图分类号] R758 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1008-8830(2012)04-0241-06

Intrahepatic cholestasis due to mitochondrial respiratory chain complex I deficiency in a Chinese boy

WU Tong-Fei, LIU Yu-Peng, WANG Qiao, LI Xi-Yuan, MA Yan-Yan, SONG Jin-Qing, YANG Yan-Ling. Department of Pediatrics, Peking University First Hospital, Beijing 100034, China (Yang Y-L, Email: organic.acid@126.com)

Abstract: Mitochondrial respiratory chain deficiency is a common cause of mitochondrial disease in children. This study aimed to review the clinical, enzymatic and genetic characteristics of a Chinese boy with progressive intrahepatic cholestasis due to mitochondrial respiratory chain complex I deficiency. The boy developed diarrhea from the age of 13 months, followed by progressive body weight loss, jaundice and weakness. His urine organic acids, blood amino acids and acylcarnitines profiles were normal. Mitochondrial respiratory chain complexes I to V activities in peripheral leukocytes were measured using spectrophotometric assay. Complex I activity was reduced. 5821G > A mutation was indentified by gene sequencing on tRNA-cys of mitochondrial gene in the patient and his mother. Vitamin supplements, liver protection, antibiotics and plasma infusion were not effective in the patient. Unfortunately, the boy died at the age of 17 months. Mitochondrial respiratory chain complex I deficiency is the most common mitochondrial respiratory chain disorder. This was the first case of intrahepatic cholestasis due to complex I deficiency confirmed by mitochondrial respiratory chain enzyme activity assay and gene analysis in China. It was concluded that mitochondrial hepatopathy is one of major causes of metabolic hepatopathy. Biochemical assay, mitochondrial respiratory chain complex activities assay and genetic analysis are crucial for the etiological diagnosis of metabolic hepatopathy. [Chin J Contemp Pediatr, 2012, 14(4):241-246]

Key words: Mitochondrial disease; Mitochondrial respiratory chain; Mitochondrial respiratory chain complex I deficiency; Cholestasis; Mutation; Mitochondrial hepatopathy; Child

线粒体是人体重要的细胞器,提供机体所需 95% 的能量三磷酸腺苷(ATP),在新陈代谢和生物能量转换中处于中心地位^[1-2]。细胞线粒体呼吸链

复合物缺陷是导致线粒体病的一组主要病因,由于线粒体氧化磷酸化障碍,导致神经、肌肉、心脏、肝、肾等多脏器损害。近 50 余年来,国内外学者发现线

[收稿日期] 2011-12-05; [修回日期] 2011-12-30
[基金项目] 国家自然科学基金(No. 30872794); “十一五”国家科技支撑计划课题“严重功能异常疾患的早期诊断和干预治疗的研究”(No. 2006BAI05A07)。
[作者简介] 吴桐菲,女,博士研究生。
[通信作者] 杨艳玲,教授。

粒体病致病基因涉及多个核基因和线粒体基因组,临床表现复杂多样,起病急缓不同,可以累及多个脏器和各个年龄人群,累计发病率高达1/5000^[3,4]。一些遗传代谢缺陷病在婴儿期或儿童期主要表现为肝脏损害。虽就单个代谢性肝病而言,发病率并不高,但其总体发病率却相当高,是婴儿和儿童疑难重症肝病的重要病因^[5]。近年来,随着酶学分析与基因分析技术的提高,国内外在线粒体肝病的诊断、治疗水平上亦取得了长足进步。本文就1例线粒体呼吸链复合物I缺陷所导致的肝内胆汁淤积症患儿的诊疗经过进行回顾,并结合文献综述线粒体呼吸链缺陷所导致的儿童代谢性肝病。

1 概述

1.1 病因、发病机制

线粒体呼吸链通过电子传递来产生人体所需能量,同时还与内质网、细胞膜一起参与调节细胞浆内游离钙的浓度^[3]。线粒体基因或线粒体呼吸链相关核基因突变均可导致线粒体呼吸链复合物的结构或功能异常,从而引起线粒体呼吸链功能障碍^[6-7]。

线粒体呼吸链复合物I又称CoQ还原酶(coenzyme Q reductase)或者复合物I电子传递链(complex I electron transport chain),在ATP的生成过程中起重要作用。复合物I由46个不同亚基组成,其中7个亚基受线粒体基因编码(*ND1*、*ND2*、*ND3*、*ND4*、*ND4L*、*ND5*、*ND6*),其余亚基由核基因编码,基因定位于1q23、11q13、6q16.1、5q12.1、5q11.1、5pter-p15.33、2q33-q34、Xq24^[8]。因此,呼吸链复合物I缺陷遗传方式复杂,可表现为常染色体隐性遗传、X连锁显性遗传和母系遗传^[9-11]。复合物I包含一个左旋构象,可溶性的外周臂伸向线粒体基质,不溶性的疏水臂埋入线粒体内膜^[12]。复合物I缺陷导致线粒体内膜质子电化学梯度异常,增加氧自由基产生,ATP合成障碍;同时,增加的氧自由基造成细胞膜脂质、蛋白质及DNA氧化,而复合物I本身又是氧自由基攻击的主要对象^[13]。

复合物I缺陷是导致线粒体病的一组主要原因,占有呼吸链缺陷疾病的1/3^[14-16]。10%~20%单独呼吸链复合物I缺陷为线粒体基因突变所致^[16],现已发现编码结构亚基和组装因子的16个核基因(其中包括3个组装因子编码基因)和7个线粒体基因的致病性突变^[17]。已报道的突变中mtDNA突变所致的呼吸链复合物I缺陷病约占20%^[18]。

当mtDNA发生突变而导致线粒体疾病时,每一

个器官都可能包含有由突变型和野生型mtDNA构成的混合体,突变型mtDNA的含量比例超过某个临界阈值水平时,该器官的线粒体呼吸链阈值效应才会表现出生物化学异常。在同一家族中的不同个体间,突变型mtDNA的比例可能变化很大,并且,线粒体功能缺陷存在显著的组织异质性,相同个体的各种器官和组织的能量代谢也不尽相同^[6]。

1.2 临床表现

复合物I缺陷常常导致多系统损害,最常累及能量需求大的器官,临床表现多样,包括脑、心脏、骨骼肌、肾、肝及眼病变等^[19-20]。肝脏如出现80%的突变,mtDNA还不会表现症状,但同样的比例在肌肉或脑组织中就会表现出病理症状^[21]。

线粒体疾病的肝脏表现复杂,可表现为婴幼儿进行性肝功能衰竭、肝肿大、胆汁淤积、肝酶升高、肝硬化、高乳酸血症、瑞氏综合征样发作,多数患者早期死亡^[22]。其中高乳酸血症是公认的线粒体病的特征,部分患儿持续存在高乳酸血症,一些患儿呈间歇性发作,也有的患儿无明显高乳酸血症^[22]。

1.3 诊断与鉴别诊断

儿童胆汁淤积症的病因诸多,包括感染性疾病、心血管疾病、多种遗传代谢性疾病(如希特林蛋白缺乏症、 $\alpha 1$ 抗胰蛋白酶缺乏、酪氨酸血症等)、内分泌疾病及先天性的胆道闭锁。对于胆汁淤积症的患儿,应进行详细的病史调查、体格检查、常规化验、病毒学检查及遗传代谢病筛查,必要时可采取肝活检协助诊断;另外,腹部超声波检查、腹腔镜、同位素扫描及放射影像学也有助于鉴别诊断。 $\alpha 1$ 抗胰蛋白酶活性测定是诊断 $\alpha 1$ 抗胰蛋白酶缺乏症的关键措施。希特林蛋白基因分析是鉴别希特林蛋白缺乏症的重要方法。同位素扫描、腹腔镜、肝活检等检查有助于鉴别先天性胆道闭锁症^[23-24]。

肝脏对损害的反应形式非常有限,对于原因不明肝功能损害的患者在考虑碳水化合物、氨基酸、有机酸、脂肪酸代谢缺陷病及溶酶体病和其他获得性肝损害(例如感染、中毒和肿瘤等)的同时,还要注意线粒体病的可能^[25]。

酶活性测定是诊断线粒体复合物缺陷的关键技术,在正确的酶学诊断的前提下,能够提高基因诊断率^[26-27]。血液氨基酸、酯酰肉碱、脂肪酸分析及尿有机酸分析对于鉴别氨基酸、有机酸及脂肪酸代谢病至关重要,通过肝脏活检获得正确的病理诊断,对于患者的治疗亦具有指导价值^[5, 23-24]。

1.4 治疗

目前,对于线粒体肝病尚无有效的治疗方法,以

抗氧化剂、多种维生素及对症治疗为主^[8],一些国家通过肝移植挽救了部分患者。

药物治疗包括抗氧化剂(维生素 C、E)、电子受体、辅助因子(辅酶 Q10、艾地苯醌、维生素 B₁、维生素 B₂、维生素 K₃)、左卡尼汀、精氨酸等。贫血、营养不良、腹泻是线粒体肝病患者常见的合并症,多种维生素、脂肪乳、氨基酸、去乳糖配方奶等肠内外营养支持有助于改善患者的全身状况^[22],Kaji 等^[25]报道了针对复合物Ⅱ的药物结合高脂饮食治疗改善了线粒体肝病患者的症状。

已报道的线粒体肝病病例中肝移植患者存活率不到 50%,由于涉及多系统病变,移植前必须对可能受累的器官和系统(包括肝脏、心脏、肌肉、肠道、中枢神经系统和胰腺)进行彻底的评估^[22]。

2 病例报告

2.1 病史

患儿,男,1 岁 4 个月,因进行性黄疸、肝损害 2 个月来院就诊。患儿为第 1 胎,足月顺产出生,1 岁前健康,体格及智力运动发育正常,1 岁时体重 11.5 kg。1 岁 1 个月起出现腹泻,体重迅速下降,伴乏力,活动减少,无发热、抽搐及智力倒退。1 岁 2 个月时出现清晨昏迷,肢体抖动,当地医院检查血糖显著降低(0.1 mmol/L),伴有代谢性酸中毒、肝功能异常(ALT 75 IU/L,γ-GT 184 IU/L),给予静脉点滴葡萄糖电解质溶液,3 d 后血糖恢复正常,病情好转。1 岁 3 个月后喂养困难,食量明显减少,体重降至 8.3 kg,并出现皮肤和巩膜黄染,肝损害加重(ALT 103 IU/L,AST 127 IU/L),血清乳酸升高(6.4 mmol/L),血钾降低(3.01 mmol/L),顽固性代谢性酸中毒,心电图显示 ST-T 段改变,甲肝、乙肝、丙肝、巨细胞包涵体病毒等病毒感染指标正常。1 岁 4 个月时来我院就诊,考虑“代谢性肝病”的可能,入院进行病因检查与治疗。

2.2 体格检查

头围 46 cm,体重 7 kg,严重营养不良貌,面色苍黄,神志不清,全身皮肤黏膜黄染,眼窝略凹陷,巩膜黄染,两侧腹股沟可见陈旧性瘀斑,皮下脂肪消失,四肢末端冰冷。口腔黏膜可见白色凝乳样物,不易拭去。肝脏右肋下 4 cm,剑突下 5 cm,质地硬,脾肋下未及,四肢肌张力减低。

2.3 实验室检查

血液、尿液常规及生化分析显示患儿存在严重

肝功能损害、高胆红素血症、低蛋白血症、凝血功能异常、代谢性酸中毒、高乳酸血症,合并感染、贫血、营养不良、肾损害,血脂、电解质正常。见表 1~2。

表 1 患儿血液及尿液化验结果

检查项目		测定值	异常	正常参考值	单位	
血常规	白细胞	12.48	↑	4 ~ 10	×10 ⁹ /L	
	红细胞	0.8	↓	4 ~ 5.5	×10 ¹² /L	
	血红蛋白	81	↓	120 ~ 160	g/L	
	血小板	10	↓	100 ~ 300	×10 ⁹ /L	
	C 反应蛋白	51	↑	0 ~ 8	mg/L	
凝血功能	凝血酶原时间	75	↑	9.8 ~ 12.8	s	
	凝血酶原活动度	7	↓	80 ~ 130	%	
	纤维蛋白原定量	0.5	↓	2.0 ~ 4.0	g/L	
	纤维蛋白降解产物	21.9	↑	<5	g/mL	
	凝血酶时间	23.9	↑	10.3 ~ 16.6	s	
其他血液检查	D-二聚体定量	0.9	↑	≤0.3	mg/L	
	血氨	205	↑	0 ~ 75	mol/L	
	空腹胰岛素	22.8	↑	2.6 ~ 11	mU/L	
	铜蓝蛋白	0.12	↓	0.22 ~ 0.58	g/L	
	乳酸	6.4	↑	0.5 ~ 2	mmol/L	
	酸碱度	7.18	↓	7.35 ~ 7.45		
	碳酸氢根	9.6	↓	22 ~ 27	mmol/L	
	碱剩余	-14.8	↓	±2.3	mmol/L	
	尿液	尿红细胞	250	↑	<10	个/L
	尿沉渣红细胞	满视野	↑	<3	个/HPF	
尿糖	56.0	↑	<3	mmol/L		
	尿微量转铁蛋白	2.62	↑	0 ~ 2.4	mg/L	
	尿微量白蛋白	32.6	↑	0 ~ 30	mg/L	
	尿 β2-微球蛋白	1.9	↑	0 ~ 0.2	mg/L	

正位片示两肺感染,右侧稍重。腹部超声示肝大,弥漫性病变,腹腔积液。心脏超声未见异常。血液氨基酸、酯酰肉碱谱分析未见异常(串联质谱法),不支持氨基酸、有机酸及脂肪酸代谢病。尿液有机酸分析显示乳酸增高(气相色谱质谱联用分析),3-羟基丁酸浓度增高,提示酮症。线粒体呼吸链复合物活性分析^[26-27]发现患儿复合物Ⅰ活性降低,为 20.1 nmol/min·mg 线粒体总蛋白(正常参考值 33.4~69.8 nmol/min·mg 线粒体总蛋白),复合物Ⅰ与内参酶枸橼酸合成酶活力比值为 17.7%(正常参考值为 26.6%~96.9%)。其余复合物Ⅱ~Ⅴ活性正常。基因分析示患儿与其母亲线粒体基因存在 G5821A 突变,位于 tRNA-cys(图 1)。父亲未携带相同突变。

2.4 治疗与转归

患儿入院后接受对症治疗,低流量吸氧,静脉补液,纠正低血糖、酸中毒和电解质紊乱,输注红细胞、血小板悬液及血浆,补充多种维生素,保肝、抗感染治疗,并给予白蛋白和丙种球蛋白支持治疗,肝功能一度好转,但患儿代谢性酸中毒及全身状态进行性加重,全身状况进行性衰竭。入院第 12 天时患儿神志丧失,口腔、鼻腔出血,伴有心率、呼吸下降,清理呼吸

道后行气管插管,气囊加压给氧,并进行心脏按压等急救治疗无效,于1岁5个月时夭折。

表 2 患儿入院后血液生化指标的动态变化

检查项目	入院后日数								正常参考值	单位
	当日	第3天	第5天	第6天	第7天	第9天	第10天	第12天		
谷丙转氨酶	98.0	39.0	60.0	46.0	53.0	44.0	42.0	49.0	0~40	U/L
谷草转氨酶	197.0	67.0	93.0	—	79.0	82.0	125.0	90.0	0~40	U/L
γ-谷氨酰转肽酶	121.0	—	34.0	—	89.0	46.0	28.0	23.0	8~50	U/L
总胆红素	357.2	128.7	235.9	253.2	271.6	296.8	326.1	357.2	4.3~22.5	mol/L
直接胆红素	189.0	67.4	113.5	117.2	139.0	123.9	166.4	189.0	0~8.84	mol/L
总胆汁酸	365.0	—	—	—	—	342.6	—	—	0~10	mol/L
白蛋白	22.7	37.0	33.3	32.5	30.0	37.6	31.7	32.2	35~55	g/L
总蛋白	—	48.9	49.0	44.3	46.9	41.0	46.8	49.1	60~80	g/L
前白蛋白	10.0	—	124.0	—	112.0	41.0	104.0	32.0	160~400	mg/L
血糖	2.4	4.6	6.0	5.2	3.7	6.1	2.3	2.8	3.9~6.1	mmol/L
肌酐	31.0	30.0	21.0	17.0	20.0	19.0	21.0	19.0	44.2~115	mol/L
乳酸脱氢酶	370.0	277.0	379.0	—	349.0	363.0	292.0	170.0	114~240	U/L
肌酸激酶	593.0	216.0	131.0	—	59.0	33.0	26.0	20.0	25~195	U/L
肌酸激酶同工酶	82.0	51.0	40.0	—	26.0	29.0	22.0	8.0	0~25	U/L
血清肌红蛋白定量	506.4	—	15.8	—	19.9	14.0	22.4	14.4	0.1~90	ng/mL
血清肌钙蛋白T	2.0	—	0.2	—	0.3	0.1	0.2	0.2	0.1~1.7	ng/mL

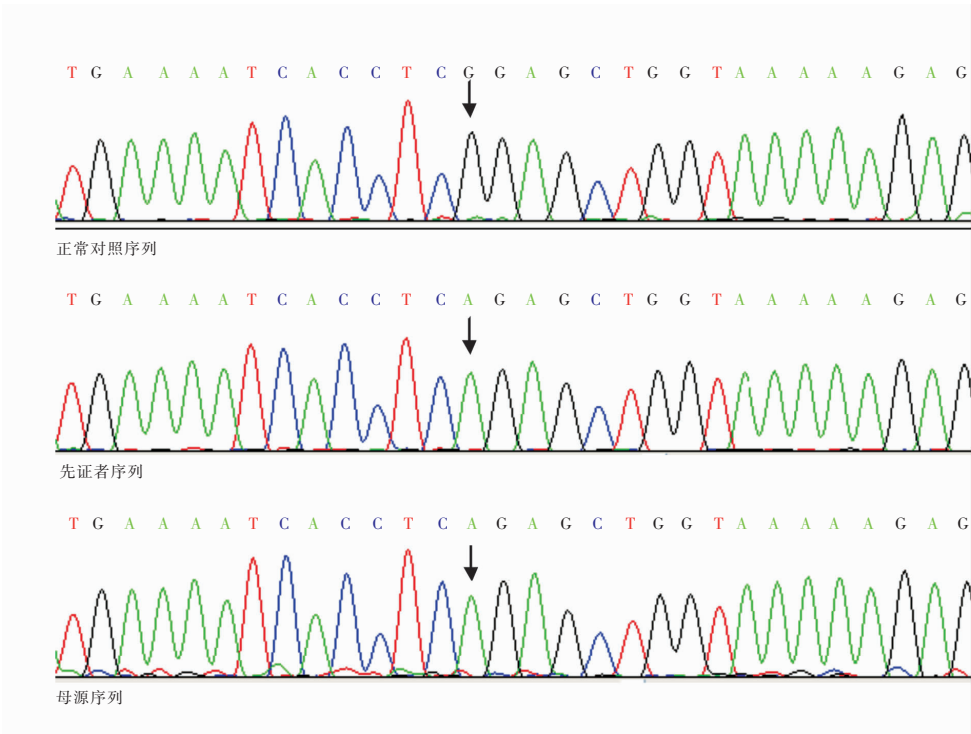


图 1 患儿及其母亲线粒体基因测序图 患儿及其母亲 tRNA 5821G > A 突变。箭头所指为突变位点。

3 讨论

线粒体肝病病因及临床表现复杂,原发性线粒体肝病为线粒体功能缺陷导致的肝病,继发性线粒体肝病为非线粒体蛋白基因缺失或者获得性的损伤导致的线粒体继发性受累^[3, 24-25]。希特林蛋白是一种线粒体溶质载体蛋白,其缺乏就以肝内胆汁淤积

症为突出的临床表现^[24]。线粒体功能障碍不仅破坏肝内脂肪的动态平衡,过量产生的活性氧是导致肝细胞致命性损伤的另一个重要因素^[25],而线粒体呼吸链(主要是复合物 I 和 III)是活性氧的一个重要的亚细胞来源^[28-29]。瑞典一项基于人口的线粒体脑肌肉病的研究显示,20% 的病例存在肝脏受累^[30],另一项研究调查了三级医疗中心的 1041 例儿童,其中 234 例

线粒体呼吸链缺陷的儿童中有 22 例(10%)发生肝功能损害,且 10 例于新生儿期出现肝病^[22]。Vries 等^[31]报道了 8 例线粒体呼吸链复合物缺乏的患儿,其中 5 例存在严重的肝功能损害,大多数是线粒体呼吸链复合物 I 和 III 的缺陷,也有合并复合物 II 和 IV 缺陷。Sheers 等^[32]报道了线粒体呼吸链缺陷引起的两例儿童患者,表现为新生儿胆汁淤积及进行性肝硬化,最后发展为肝细胞性肝癌。澳洲、日本曾对重症乳儿肝炎综合征患者进行线粒体病调查,发现多种不同类型的线粒体呼吸链缺陷及线粒体基因异常均可导致肝脏的损害^[33]。

呼吸链复合物 I 是线粒体呼吸链上第 1 个蛋白复合物,在维持线粒体功能方面起中枢作用^[4],也是线粒体呼吸链中最大、最复杂的酶^[34]。目前没有完全揭示出复合物 I 氧化还原反应的具体机制,但在许多疾病中扮演重要角色,是许多线粒体疾病发生的重要原因^[35]。在新生儿肝衰竭、线粒体 DNA 缺乏症与 Alpers-Huttenlocher 综合征等线粒体肝病患儿肝或肌肉的线粒体中均可发现复合物 I 的缺乏^[3,22]。日本 Arakawa 等^[36]报告了复合物 I 缺陷导致的肝病,引起 Reye 综合征。

本文患儿以腹泻起病,进行性肝损害、胆汁淤积症为主要表现,合并多种代谢紊乱,为能量代谢衰竭的结果,符合线粒体病的特征。血液氨基酸、酯酰肉碱谱分析未见特殊改变,外周血白细胞线粒体呼吸链复合物活性测定显示复合物 I 降低,线粒体基因分析证实患儿与其母亲线粒体基因突变位点为 G5821A,位于线粒体 DNA 编码的 tRNA。然而,其母亲并未出现任何临床症状,可能是组织内突变型线粒体 DNA 的含量尚未导致功能损伤。线粒体 tRNA 的主要功能是参与体内呼吸链氧化磷酸化 13 个酶亚基的合成,G5821A 突变可能影响了线粒体呼吸链复合物 I 的某个亚基,导致复合物 I 活性缺陷。G5821A 并非线粒体基因热点突变,国内外均很少报道,曾在线粒体基因 1555A > G 突变引起的耳聋研究中涉及^[37-38]。本研究提示 G5821A 突变也可导致严重肝损害、胆汁淤积症。Murayama 等^[39]曾调查了 131 例线粒体呼吸链缺陷的患者,其中 25 例存在不同程度的肝损害,21 例以肝损害为主要表现,1 例由于复合物 I 缺陷引起腹泻,伴进行性肝功能衰竭,临床经过类似本研究所报道的病例。线粒体是重要的供能来源,腹泻与小肠细胞膜的钠/质子交换功能障碍有关,钠/质子交换直接或间接地需要 ATP 的驱动。另外,严重肝损害的患者多存在乳糖不耐受,也是引起腹泻的原因之一。

线粒体呼吸链酶学分析是诊断线粒体病的关键技术,与骨骼肌、脏器、皮肤等组织相比,外周血白细胞中线粒体蛋白含量较低,技术难度较大,但容易获得,适于儿童临床检测。据国外报道,在外周血淋巴细胞被检出酶复合物活性缺陷的线粒体病患者中,有 91% 的患者骨骼肌酶复合物活性缺陷^[40],提示外周血酶活性测定能较好地反映骨骼肌酶复合物活性,本例患者通过外周血白细胞线粒体呼吸链酶活性分析获得了病因诊断。

综上,线粒体呼吸链复合物缺陷患者的临床表现多种多样,儿童线粒体肝病缺乏特异性,可表现为婴儿肝炎综合征、胆汁淤积症,相同疾病的患儿个体差异很大,对于原因不明的、用获得性疾病难以解释的肝损害,尤其是病程呈进行性、合并多脏器损害、代谢紊乱、高乳酸血症的患儿,应考虑线粒体病的可能,参考临床表现、血清生化检查、病理等多因素,在排除氨基酸、有机酸及脂肪酸代谢性疾病后,考虑线粒体病的可能性。线粒体呼吸链酶活性分析和基因检测是关键技术,争取早期、正确的病因诊断,以指导治疗和遗传咨询。

[参 考 文 献]

- [1] Bras M, Queenan B, Susin SA. Programmed cell death via mitochondria; different modes of dying [J]. *Biochemistry (Mose)*, 2005, 70 (2): 231-239.
- [2] Tsujimoto Y. Cell death regulation by the Bcl-2 protein family in the mitochondria [J]. *J Cell Physiol*, 2003, 195 (2): 158-167.
- [3] 张雪梅,丁惠国. 线粒体损伤与肝脏疾病 [J]. *中国实用内科杂志*, 2009, 29 (增 2): 144-145.
- [4] 黄敏,赵玲玲. 呼吸链酶复合体 I 研究进展 [J]. *广东医学*, 2011, 32 (5): 662-664.
- [5] 周华,方峰,徐三清,董永绥,李革. 儿童代谢性肝沉积病肝组织病理和超微病理特征及其诊断意义 [J]. *中国实用儿科杂志*, 2007, 22 (5): 370-372.
- [6] 吴超群. 线粒体遗传性疾病 [J]. *中国优生优育*, 2007, 13 (4): 169-172.
- [7] Skladal D, Halliday J, Thornburn DR. Minimum birth prevalence of mitochondrial respiratory chain disorders in children [J]. *Brain*, 2003, 126 (Pt 8): 1905-1912.
- [8] 魏晓琼,孔庆鹏,张尧,杨艳玲,常杏芝,戚豫,等. 线粒体基因 13513G > A 突变导致呼吸链酶复合物 I 缺陷 Leigh 综合征 [J]. *中国当代儿科杂志*, 2009, 11 (5): 333-336.
- [9] Saraste M. Oxidative phosphorylation at the fin de siècle [J]. *Science*, 1999, 283 (5407): 1488-1493.
- [10] Schultz BE, Chan SI. Structures and proton-pumping strategies of mitochondrial respiratory enzymes [J]. *Annu Rev Biophys Biomol Struct*, 2001, 30: 23-65.
- [11] Wikström M. Two protons are pumped from the mitochondrial matrix per electron transferred between NADH and ubiquinone [J]. *FEBS Lett*, 1984, 169 (2): 300-304.
- [12] Grigorieff N. Structure of the respiratory NADH: ubiquinone oxidoreductase (complex I) [J]. *Curr Opin Struct Biol*, 1999, 9

- (4): 476-483.
- [13] Lenaz G, Fato R, Genova ML, Bergamini C, Bianchi C, Biondi A. Mitochondrial Complex I: structural and functional aspects [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2006, 1757 (9-10): 1406-1420.
- [14] Von Kleist-Retzow JC, Cormier-Daire V, de Lonlay P, Parfait B, Chretien D, Rustin P, et al. A high rate (20%-30%) of parental consanguinity in cytochrome-oxidase deficiency [J]. *Am J Hum Genet*, 1998, 63 (2): 428-435.
- [15] Kirby DM, Crawford M, Cleary MA, Dahl HH, Dennett X, Thorburn DR. Respiratory chain complex I deficiency: an underdiagnosed energy generation disorder [J]. *Neurology*, 1999, 52 (6): 1255-1264.
- [16] Calvo SE, Tucker EJ, Compton AG, Kirby DM, Crawford G, Burt NP, et al. High-throughput, pooled sequencing identifies mutations in *NUBPL* and *FOXRED1* in human complex I deficiency [J]. *Nat Genet*, 2010, 42 (10): 851-858.
- [17] Fernández-Vizcarra E, Tiranti V, Zeviani M. Assembly of the oxidative phosphorylation system in humans: what we have learned by studying its defects [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2009, 1793 (1): 200-211.
- [18] Kirby DM, McFarland R, Ohtake A, Dunning C, Ryan MT, Wilson C, et al. Mutations of the mitochondrial *ND1* gene as a cause of MELAS [J]. *J Med Genet*, 2004, 41 (10): 784-789.
- [19] Pitkänen S, Raha S, Robinson BH. Diagnosis of complex I deficiency in patients with lactic acidemia using skin fibroblast cultures [J]. *Biochem Mol Med*, 1996, 59 (2): 134-137.
- [20] Lebon S, Chol M, Benit P, Mugnier C, Chretien D, Giurgea I, et al. Recurrent de novo mitochondrial DNA mutations in respiratory chain deficiency [J]. *J Med Genet*, 2003, 40 (12): 896-899.
- [21] 宋晓冬, 田伟. 线粒体疾病及其分子遗传学研究进展 [J]. *滨州医学院报*, 1999, 22 (5): 533-534.
- [22] 刘丽艳, 王建设. 线粒体缺陷所致肝脏疾病 [J]. *肝脏*, 2008, 13 (1): 68-74.
- [23] 施诚仁. 新生儿胆汁淤积症 [J]. *临床儿科杂志*, 2001, 19 (4): 214-216.
- [24] 宋元宗, 郝虎, 牛饲美晴, 柳国胜, 肖昕, 佐伯武顿, 等. 疑难病研究——citrin 缺陷导致的新生儿肝内胆汁淤积症 [J]. *中国当代儿科杂志*, 2006, 8 (2): 125-128.
- [25] Kaji S, Murayama K, Nagata I, Nagasaka H, Takayanagi M, Ohtake A, et al. Fluctuating liver function in siblings with *MPV17* mutations and possible improvement associated with dietary and pharmaceutical treatments targeting respiratory chain complex II [J]. *Mol Genet Metab*, 2009, 97 (4): 292-296.
- [26] Ma YY, Zhang XL, Wu TF, Liu YP, Wang Q, Zhang Y, et al. Analysis of the mitochondrial complex I-V enzyme activities of peripheral leukocytes in oxidative phosphorylation disorders [J]. *J Child Neurol*, 2011, 26 (8): 974-979.
- [27] 马艳艳, 吴桐菲, 刘玉鹏, 王峤, 宋金青, 肖江喜, 等. 线粒体呼吸链复合物 II 缺陷所致 Leigh 综合征 [J]. *中国当代儿科杂志*, 2011, 13 (7): 569-572.
- [28] Begrich K, Igoudjil A, Pessayre D, Fromenty B. Mitochondrial dysfunction in NASH: causes, consequences and possible means to prevent it [J]. *Mitochondrion*, 2006, 6 (1): 1-28.
- [29] Oliveira CP, da Costa Gayotto LC, Tatai C, Della Bina BI, Janiszewski M, Lima ES, et al. Oxidative stress in the pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease, in rats fed with a choline-deficient diet [J]. *J Cell Mol Med*, 2002, 6 (3): 399-406.
- [30] Darin N, Oldfors A, Moslemi AR, Holme E, Tulinius M. The incidence of mitochondrial encephalomyopathies in childhood: clinical features and morphological, biochemical, and DNA abnormalities [J]. *Ann Neurol*, 2001, 49 (3): 377-383.
- [31] de Vries MC, Rodenburg RJ, Morava E, van Kaauwen EP, ter Laak H, Mullaart RA, et al. Multiple oxidative phosphorylation deficiencies in severe childhood multi-system disorders due to polymerase gamma (*POLG1*) mutations [J]. *Eur J Pediatr*, 2007, 166 (3): 229-234.
- [32] Sheers I, Bachy V, Stephenne X, Sokal EM. Risk of hepatocellular carcinoma in liver mitochondrial respiratory chain disorders [J]. *J Pediatr*, 2005, 146 (3): 414-417.
- [33] Kotarsky H, Karikoski R, Mörgelin M, Marjavaara S, Bergman P, Zhang DL, et al. Characterization of complex III deficiency and liver dysfunction in GRACILE syndrome caused by a *BCS1L* mutation [J]. *Mitochondrion*, 2010, 10 (5): 497-509.
- [34] Distelmaier F, Koopman WJ, van den Heuvel LP, Rodenburg RJ, Mayatepek E, Willems PH, et al. Mitochondrial complex I deficiency: from organelle dysfunction to clinical disease [J]. *Brain*, 2009, 132 (Pt 4): 833-842.
- [35] Hirst J. Towards the molecular mechanism of respiratory complex I [J]. *Biochem J*, 2009, 425 (2): 327-339.
- [36] Arakawa C, Endo A, Kohira R, Fujita Y, Fuchigami T, Mugishima H, et al. Liver-specific mitochondrial respiratory chain complex I deficiency in fatal influenza encephalopathy [J]. *Brain Dev*, 2012, 34 (2): 115-117.
- [37] Lu J, Qian Y, Li Z, Yang A, Zhu Y, Li R, et al. Mitochondrial haplotypes may modulate the phenotypic manifestation of the deafness-associated 12S rRNA 1555A > G mutation [J]. *Mitochondrion*, 2010, 10 (1): 69-81.
- [38] Bai Y, Wang Z, Dai W, Li Q, Chen G, Cong N, et al. A six-generation Chinese family in haplogroup B4C1C exhibits high penetrance of 1555A > G-induced hearing loss [J]. *BMC Med Genet*, 2010, 11: 129.
- [39] Murayama K, Nagasaka H, Tsuruoka T, Omata Y, Horie H, Tregoning S, et al. Intractable secretory diarrhea in a Japanese boy with mitochondrial respiratory chain complex I deficiency [J]. *Eur J Pediatr*, 2009, 168 (3): 297-302.
- [40] Chretien D, Rustin P, Bourgeron T, Rötig A, Saudubray JM, Munnich A. Reference charts for respiratory chain activities in human tissues [J]. *Clin Chim Acta*, 1994, 228 (1): 53-70.

(本文编辑:王庆红)