

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Speciální chemicko-biologické obory
Studijní obor: Molekulární biologie a biochemie organismů



Barbora Kudrnovská

Nefarmakologické přístupy k léčbě mitochondriálních onemocnění
Non-pharmacological approaches towards treatments of mitochondrial disorders

Bakalářská práce

Vedoucí práce: RNDr. Tomáš Mráček, Ph.D.

Praha, 2021

Poděkování

Chtěla bych poděkovat svému školiteli RNDr. Tomáši Mráčkovi, Ph.D., za jeho pomoc při psaní této práce. Můj dík též patří mé rodině, která mě po celou dobu bakalářského studia velmi podporovala.

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 1.05.2021

Barbora Kudrnovská

Abstrakt

Mitochondriální onemocnění se vyznačují vysokou mírou genotypové i fenotypové heterogenity, jako celek se však řadí mezi jedny z nejčastějších vrozených metabolických poruch. Léčba těchto onemocnění je zatím velmi omezená, ačkoliv probíhá řada výzkumů nových terapeutických přístupů. Kromě farmakologických metod, existují i přístupy nefarmakologické, jako je zařazení určitých dietních režimů, fyzické aktivity či vystavení se hypoxii. Vzhledem ke spíše obecnému mechanismu působení tak mohou tyto metody nabídnout benefity širšímu spektru mitochondriálních pacientů, a to i přes odlišné primární defekty. Tato práce shrnuje dosavadní poznatky o využití cvičení, ketogenní diety a aplikaci hypoxie jako možných terapeutických přístupů v léčbě mitochondriálních onemocnění.

Klíčová slova: mitochondrie, mitochondriální onemocnění, terapie, cvičení, ketogenní dieta, hypoxie

Abstract

Mitochondrial diseases are characterized by a high degree of genotypic and phenotypic heterogeneity, but as a whole group, they represent one of the most common forms of inborn errors of metabolism. Treatment of these diseases is still very limited, despite massive body of ongoing research projects, which are focussed on new therapeutic approaches. Besides pharmacological methods, there are also non-pharmacological approaches such as certain diet regimens, physical activity or exposition to hypoxia. Due to their relatively generalized mechanism of action, these methods may offer benefits to a wider range of mitochondrial patients, despite different primary genetic defects. This work summarizes the existing knowledge about the use of exercise, ketogenic diet, and hypoxia application as possible therapeutic approaches towards the treatment of mitochondrial diseases.

Keywords: mitochondria, mitochondrial diseases, therapy, exercise, ketogenic diet, hypoxia

Seznam zkratek

A = adenin

AcAc = acetoacetát

ACAT = Ac-CoA acetyltransferáza

Ac-CoA = acetyl-CoA

ADP = adenosindifosfát

AMPK = adenosinmonofosfátem aktivovaná protein kináza

ATP = adenosintrifosfát

BDH = beta-hydroxybutyrátdehydrogenáza

C = cytosin

CoA = koenzym A

COX = cytochrom c oxidáza

ETC = elektron transportní řetězec

FA-CoA = acyl-CoA

FADH₂ = flavinadenindinukleotid

FFA = volná mastná kyselina

FOXO3 = forkhead box protein O3

FRDA = Freidreichova ataxie

FXN = frataxin

G = guanin

HEK 293 buněčná linie = buněčná linie odvozená z lidských embryonálních ledvinových buněk

HIF = hypoxií indukovaný transkripční faktor

HIIT = vysoce intenzivní intervalové cvičení

HMGCL = 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA lyáza

HMG-CoA = 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA

HMGCS = 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA syntáza

HT-29 buněčná linie = buněčná linie lidského kolorektálního adenokarcinomu

K562 buněčná linie = myelogenní leukemická buněčná linie

kcal = kilokalorie

KD = ketogenní dieta

LHON = z anglického Leber's hereditary optic neuropathy / Leberova hereditární neuropatie optiku

MCT = monokarboxylátový transportér

MELAS = z anglického mitochondrial encephalomyopathy, lactic acidosis and stroke like episodes / mitochondriální encefalomyopatie, laktátová acidóza a příhody podobné mrtvici

mtDNA = mitochondriální DNA

NADH/NAD⁺ = nikotinamidadeninukleotid

NCAM = molekuly adheze neurálních buněk

nDNA = jaderná DNA

Ndufs4 KO = Ndufs4 knockout

NRF = nukleární respirační faktor

OXCT = 3-oxoacyl-CoA transferáza

p38 MAPK = p38 mitogenem aktivovaná protein kináza

PEO = progresivní externí oftalmoplegie

PGC-1 = inducibilní koaktivátor 1 receptoru aktivovaného peroxizomálním proliferátorem

PH = prolyl hydroxyláza

POLG = mitochondriální DNA polymeráza gama

PPAR = receptor aktivovaný peroxizomálním proliferátorem

pVHL = von Hippel-Lindau protein

ROS = reaktivní formy kyslíku

rRNA = ribosomální RNA

SIRT = sirtuin

T = thymin

TCA = cyklus trikarboxylových kyselin

TFAM = mitochondriální transkripční faktor A

TMEM126B = transmembránový protein 126B

tRNA = transferová RNA

tRNA^{Leu} = tRNA pro leucin

tRNA^{Trp} = tRNA pro tryptofan

Ub = ubiquitin

UCP = rozpřahovací protein

VHL KO = von Hippel-Lindau knockout

VO_{2max} = maximální spotřeba kyslíku

βOHB = beta-hydroxybutyrát

βox = beta-oxidace mastných kyselin

Obsah

Úvod.....	1
1. Mitochondrie	2
2. Mitochondriální onemocnění.....	3
3. Cvičení.....	6
3.1 Otázka bezpečnosti cvičení u mitochondriálních pacientů.....	6
3.2 Molekulární a buněčné mechanismy	7
3.3 Vliv cvičení na mitochondriální pacienty.....	9
3.4 Cvičení, mitochondriální metabolismus a prevence stárnutí.....	10
3.4.1 Vliv fyzické aktivity na mtDNA mutátorový myší model	10
3.4.2 Mechanismus působení fyzické aktivity u mtDNA mutátorového myšího modelu	11
3.4.3 Vliv fyzické aktivity na funkci mitochondrií u seniorů.....	12
3.5 Shrnutí využití cvičení jako terapie pro mitochondriální defekty	12
4. Ketogenní dieta.....	13
4.1 Princip ketogenní diety.....	13
4.2 Složení ketogenní diety	15
4.3 Ketogenní dieta a epilepsie.....	16
4.4 Ketogenní dieta a defekty komplexu I.....	16
4.5 Další případy s pozitivní odezvou na ketogenní dietu.....	18
4.5.1 Progresivní externí oftalmoplegie	18
4.5.2 Mutace genu <i>BCS1L</i>	19
4.5.3 Mutace genu pro mitochondriální tRNA ^{Trp}	19
4.6 Shrnutí aplikace ketogenní diety u mitochondriálních pacientů	19
5. Hypoxie	20
5.1 Molekulární mechanismy adaptace na hypoxii	20
5.2 Hypoxie jako léčba mitochondriálních onemocnění	22
5.2.1 Pleiotropní efekt versus hypoxie	22
5.2.2 Myší model Leighova syndromu a hypoxie	22
5.2.3 Vliv hypoxie při defektech frataxinu.....	24
5.2.4 Alternativní cesty navození hypoxického programu	24
5.3 Reálné terapeutické možnosti využití hypoxie	24
5.4 Závěrečné shrnutí terapie hypoxií	25
Závěr.....	26
Reference.....	27

Úvod

Mitochondriální onemocnění představují jedny z nejčastějších vrozených metabolických defektů, které negativně ovlivňují život pacientů i jejich rodin. I přes veškerý pokrok v oblasti medicíny a farmakologie je léčba mitochondriálních onemocnění stále značně limitována a pacienti jsou tak často odkázáni pouze na velmi omezenou symptomatickou léčbou a psychologickou podporu v rámci patientských organizací. Vzhledem k různorodosti příčin i projevů těchto onemocnění neexistuje ani univerzálně užívaný jednotný postup léčby.

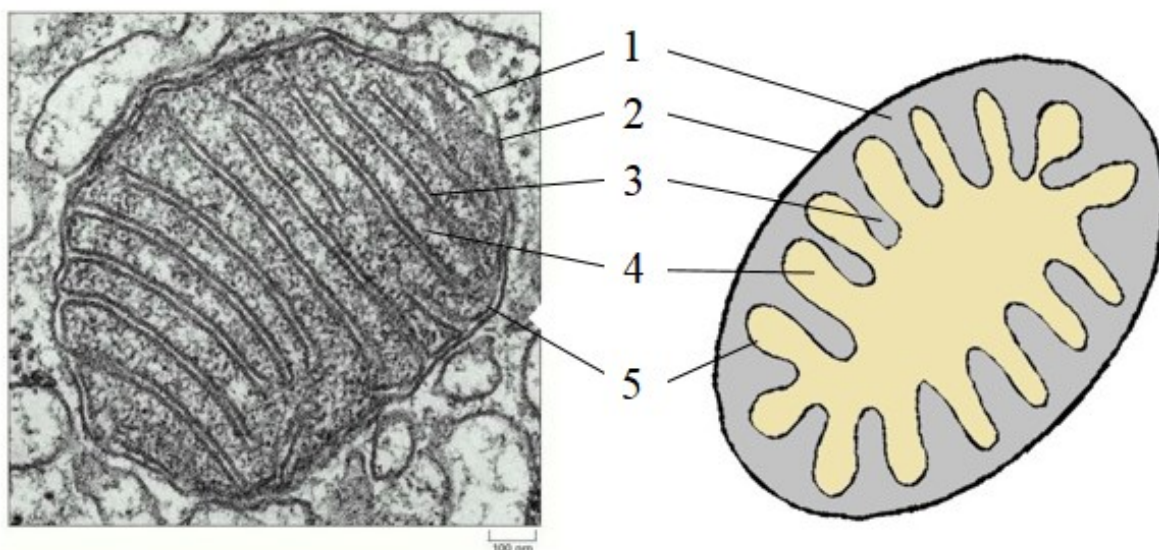
Hledání vhodných terapeutických metod je však na dobré cestě a hned několik přístupů je již v preklinickém a klinickém testování. Jedná se o terapie zahrnující farmakologii, transplantaci orgánů, editaci genomu či metabolické přístupy. I přes to ale ještě nějaký čas potrvá dokončení a vyhodnocení jednotlivých klinických studií, jejichž úspěšnými výsledky je podmíněno oficiální schválení dané metody a možnost využití v praxi. V mezidobí jsou tak možným přístupem právě některé nefarmakologické metody, které mají spíše obecný mechanismus působení, čímž mohou poskytnout benefity většímu procentu pacientů s rozdílnými primárními defekty.

Právě vzhledem k těmto okolnostem jsem se rozhodla zpracovat svou bakalářskou práci na téma nefarmakologických metod jako přístupů v léčbě mitochondriálních onemocnění. Zaměřila jsem se konkrétně na ketogenní dietu (KD), cvičení a hypoxii. Mým cílem bylo shrnout dosavadní poznatky o mechanismech, kterými tyto metody mohou mitochondriálním pacientům pomoci, jaké jsou výsledky těchto metod v preklinických i klinických studiích a jak reálně pacientům pomáhají, popřípadě jaké problémy se při zahrnutí těchto metod do terapeutických protokolů mohou objevit.

1. Mitochondrie

Dle endosymbiotické teorie vznikly mitochondrie v evoluci z prokaryotního organismu, obdobně jako chloroplasty. Původcem mitochondrií jsou α -proteobakterie, konkrétně jejich nejbližšími příbuznými se zdají být rodiny *Rickettsiaceae* a *Anaplasmataceae* (Wang & Wu, 2015). Jak mitochondrie, tak chloroplasty vykazují i přes lokalizaci uvnitř eukaryotické buňky některé autonomní vlastnosti, např. vlastní DNA či proteosyntetický aparát, a proto jsou označovány jako semiautonomní organely.

Strukturálně lze mitochondrie dělit na několik oddílů: vnější mitochondriální membrána, mezimembránový prostor, vnitřní mitochondriální membrána s kristami a matrix (obrázek 1). Mitochondrie tvoří velmi dynamickou strukturu díky neustálým fúzím, dělením a změnám buněčné lokalizace díky interakcím s molekulárními motory cytoskeletu (Bereiter-Hahn & Vöth, 1994).



Obrázek 1: Fotografie a zjednodušená struktura mitochondrie.

1 - mezimembránový prostor, 2 – vnější membrána, 3 – matrix, 4 – krista, 5 - vnitřní membrána

Převzato a upraveno (Alberts et al., 2002).

Mitochondrie jsou označovány jako buněčné elektrárny, jejichž úkolem je produkce ATP v procesu oxidační fosforylace. Oxidační fosforylace zahrnuje tvorbu protonového gradientu v mezimembránovém prostoru díky elektron transportnímu řetězci (ETC) probíhajícímu na komplexech vnitřní membrány. Tento gradient je následně využit enzymem ATP syntázou, též označovaným jako F_0F_1 ATPáza, k produkci ATP z ADP a anorganického fosfátu. Probíhají zde však i jiné biochemické procesy, jako je cyklus trikarboxylových kyselin

(TCA), beta-oxidace mastných kyselin (β ox), část cyklu kyseliny močové, tvorby hemu či syntéza železo-sírných center. Podstatnou úlohu hrají mitochondrie i při programované buněčné smrti a produkci reaktivních forem kyslíku (ROS).

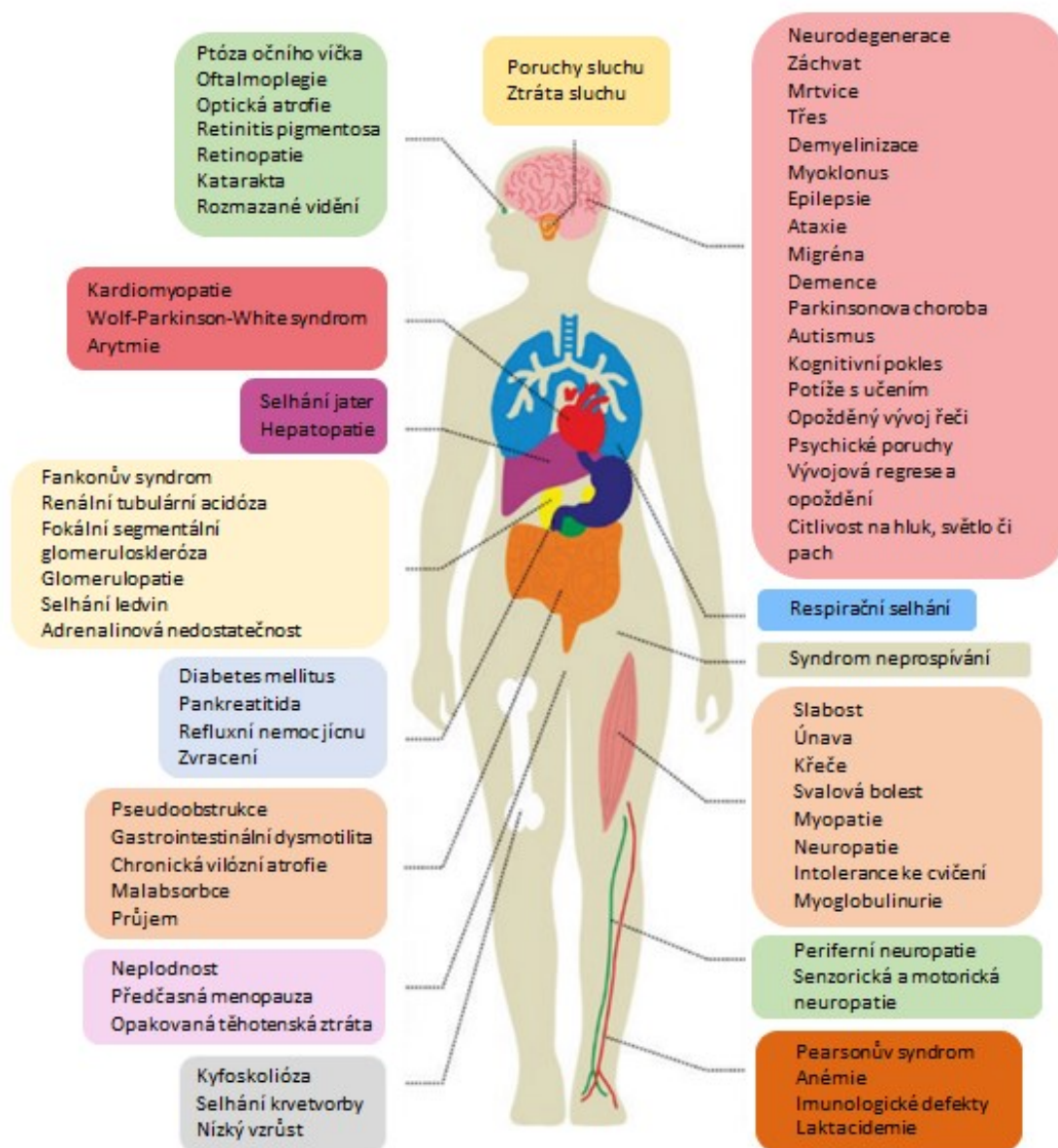
Mitochondriální DNA (mtDNA) u člověka obsahuje 16 569 párů bází a kóduje 2 rRNA, 22 tRNA a 13 proteinů pro některé podjednotky komplexů ETC (Anderson et al., 1981). Mitochondriální proteiny však nejsou kódovány pouze mtDNA, naprostá většina jich je kódována jadernou DNA (nDNA). Během evoluce totiž docházelo k přesouvání genů do jaderného genomu hostitelské buňky (Fukuda et al., 1985). Mitochondriální DNA se vyskytuje v podobě nukleoidu. Oproti nDNA, která je v lidském buněčném jádře obsažena pouze ve dvou kopiích, mitochondrie obsahují více nukleoidů, které navíc obsahují více kopií mtDNA (Sato & Kuroiwa, 1991). Jediná buňka tedy obsahuje velký počet kopií mtDNA, které ale nemusí být zcela totožné kvůli nejrůznějším mutacím (ať již zděděným nebo somatickým), v tom případě mluvíme o heteroplasmii (Lightowers et al., 1997).

2. Mitochondriální onemocnění

Mitochondriální onemocnění jsou velice různorodá, a to jak v mutacích, které je způsobují, tak i fenotypových projevech a jejich intenzitě. Obecně však spadají do metabolických onemocnění a jsou jedny z nejčastějších vrozených defektů metabolismu. Pokud se jedná o méně závažné defekty, nemusí se onemocnění projevit u jedince ihned v raném věku a k manifestaci může dojít až v dospělosti. Počet případů, u nichž se mitochondriální onemocnění projeví již v dětském věku, je odhadován na 5–15 ze 100 000. Ve většině případů umírají tito pacienti během prvních let života (Debray et al., 2007). Prevalence u dospělých je odhadována na 23 jedinců ze 100 000 (Schaefer et al., 2019).

Jelikož je pro správnou funkci mitochondrií zapotřebí nejen mitochondriální, ale i jaderný genom, dochází k rozšíření možných genů, které mohou být zasaženy mutací, na dva genomy, a tudíž i rozšíření možného typu dědičnosti na maternální, Mendelovskou a jejich kombinaci. Variabilita projevů je dána též tím, že buňka obsahuje mnoho kopií mtDNA, a tudíž poměr mezi divokými a mutovanými mtDNA hraje významnou roli v samotném projevu a následně jeho intenzitě v rámci jednotlivých orgánů. Stejná mutace se tedy u různých jedinců (a to i v rámci rodinných příslušníků) může projevovat odlišně (Macmillan et al., 1993). A naopak, různé mutace mohou způsobovat stejná onemocnění. Příkladem může být onemocnění LHON (z anglického Leber's hereditary optic neuropathy / Leberova hereditární neuropatie optiku), které je nejčastěji způsobováno mutacemi mtDNA na pozicích 3460G>A,

3700G>A, 10663T>C, ale i řadou dalších (Lott et al., 2013). Mutace, způsobující stejné onemocnění, navíc nemusí být pouze v jednom genomu, ale mohou se nacházet jak v mtDNA, tak i nDNA. To lze demonstrovat jak na výše zmíněném onemocnění LHON (Stenton et al., 2021), tak i na neurodegenerativním onemocnění Leighova syndromu, u kterého byla zjištěna spojitost s více než 75 možnými mutacemi napříč oběma genomy (Lake et al., 2016).



Obrázek 2: Klinické symptomy mitochondriálních onemocnění.

Převzato a upraveno (Kožaříková et al., 2020).

Defekty se mohou projevit téměř u všech orgánů, a to buď izolovaně nebo u více orgánů či tkání zároveň (Munnich & Rustin, 2001). Nejčastějšími a nejvíce postiženými orgány jsou ty,

kteří mají vysoké energetické nároky a jsou proto nejvíce zasaženy nedostatečnou tvorbou ATP. Spadají sem zejména svaly, srdce, mozek, játra či rohovka. Možné projevy mitochondriálních onemocnění spolu s postiženými orgány jsou ukázány na obrázku 2. Dysfunkce mitochondrií jsou mnohdy pozorovány i u některých onemocnění, které nejsou běžně s mitochondriemi spojovány. Často se jedná o neurodegenerativní onemocnění, jako je Alzheimerova choroba či Parkinsonova choroba (Coskun et al., 2012).

Vzhledem k technickému pokroku a snižujícím se nákladům se celogenomové sekvenování stalo téměř rutinním diagnostickým nástrojem schopným odhalit mitochondriální onemocnění i u pacientů nevykazujících jasné symptomy (Schon et al., 2020). Díky tomu je v dnešní době diagnostika mitochondriálních onemocnění na velmi vysoké úrovni. Pokroky v hledání úspěšných léčebných postupů však zaostávají a zatím existuje pouze minimum oficiálně schválených metod. Kvůli vysoké variabilitě mitochondriálních onemocnění nelze u všech pacientů postupovat jednotně a veškerá lékařská péče je tak tvořena pacientovi na míru. Vzhledem k omezenosti cílené léčby jsou pacientům podávány alespoň různé doplňky stravy, jako jsou vitamíny, kreatin, koenzym Q a další, jejichž směs je označována jako „mitochondriální koktejl“. Podávání L-argininu nebo citrulinu se obecně doporučuje jakožto prevence „stroke like“ epizod u pacientů s MELAS (z anglického mitochondrial encephalomyopathy, lactic acidosis and stroke like episodes / mitochondriální encefalomyopatie, laktátová acidóza a příhody podobné mrtvici). Shoda panuje i v zařazení fyzické aktivity u pacientů, kterým to jejich stav dovolí (Parikh et al., 2015). Cílená léčba se v tuto chvíli omezuje pouze na několik málo případů. Jedním je zařazení specifických kofaktorů u pacientů, jejichž onemocnění souvisí s jejich nedostatkem, dalším je lék s účinnou látkou idebedon pro léčbu LHON (Tinker et al., 2021). Dále je zde i metoda prevence pro onemocnění, která jsou způsobována mutacemi v mtDNA. Jedná se o metodu asistované reprodukce, schválené v roce 2015 ve Velké Británii, sloužící k zamezení přenosu mutantní mtDNA z matky na potomka pomocí náhrady matčiny mitochondrií mitochondriemi zdravé dárkyně (Cree & Loi, 2015). Kromě výše zmíněných je i řada dalších možných farmak a metod, které jsou však zatím pouze v preklinickém či klinickém testování. Některé z nich vykazují velmi uspokojivé výsledky, jako například genová terapie pro léčbu LHON, u které je již dokončena třetí fáze klinického testování (Moster et al., 2020). Terapeutické přístupy, ať už se jedná o ty v praxi využívané či zatím pouze v podobě preklinického a klinického testování tak zahrnují: farmakologii v podobě léčiv a suplementů, editaci genomu, transplantaci orgánů či mitochondriální transplantaci během asistované reprodukce

a nefarmakologické přístupy v podobě dietních programů, cvičení a hypoxie (Koňářiková et al., 2020). Právě nefarmakologické přístupy (zařazení fyzické aktivity či diety), které byt nejsou specificky cílené, ale zato jsou relativně snadno aplikovatelné, mohou v tuto chvíli nabídnout některým pacientům s mitochondriálním onemocněním zásadní benefity, minimálně do doby nalezení účinných farmak či rutinního nasazení genové terapie.

3. Cvičení

Svalové dysfunkce jsou u mitochondriálních pacientů časté, neboť dysfunkční mitochondrie nejsou schopny pokrýt vysoké energetické nároky svalů. U pacientů se tak setkáváme s mitochondriálními myopatiemi, intolerancí ke cvičení, svalovou únavou a slabostí (Taivassalo et al., 2003). V roce 2012 byla italským týmem na základě informací z italské národní databáze zaměřené na mitochondriální onemocnění popsána svalová slabost jako druhý nejčastější symptom. Intolerance ke cvičení pak byla na čtvrtém místě a byla evidována u 222 pacientů z celkového počtu 1100. Nutno podotknout, že u 108 pacientů byla intolerance ke cvičení jedním z prvních symptomů (Mancuso et al., 2012). Míra projevů spojených s dysfunkčním svalovým aparátem se mezi pacienty liší. U některých je projev mírnější a omezuje je pouze při fyzicky náročnějších aktivitách, naopak u jiných pacientů může vést i k potížím vykonávat běžné denní činnosti jako je chůze.

Vzhledem k tomu, že cvičení má pozitivní vliv na zvýšení aerobního metabolismu a množství mitochondrií jako takových (Holloszy, 1967, 1975), kladli si vědci otázku, zdali se podobné benefity jako u zdravých cvičenců uplatní i u pacientů s mitochondriálními onemocněními a dojde k alespoň částečnému zmírnění příznaků myopatií. V jedněch z prvních studií se nakonec ukázalo, že mitochondriální pacienti mohou z aerobní aktivity těžit obdobná pozitiva jako zdraví jedinci. I u pacientů bylo totiž pozorováno zlepšení v aerobní kapacitě, koncentraci laktátu v krvi a tepové frekvenci, a to jak v klidu, tak i po cvičení. Došlo též ke zvýšení tolerance ke cvičení a pacienti uvedli i subjektivně pozorované zlepšení kvality života (Taivassalo et al., 1996, 1998).

3.1 Otázka bezpečnosti cvičení u mitochondriálních pacientů

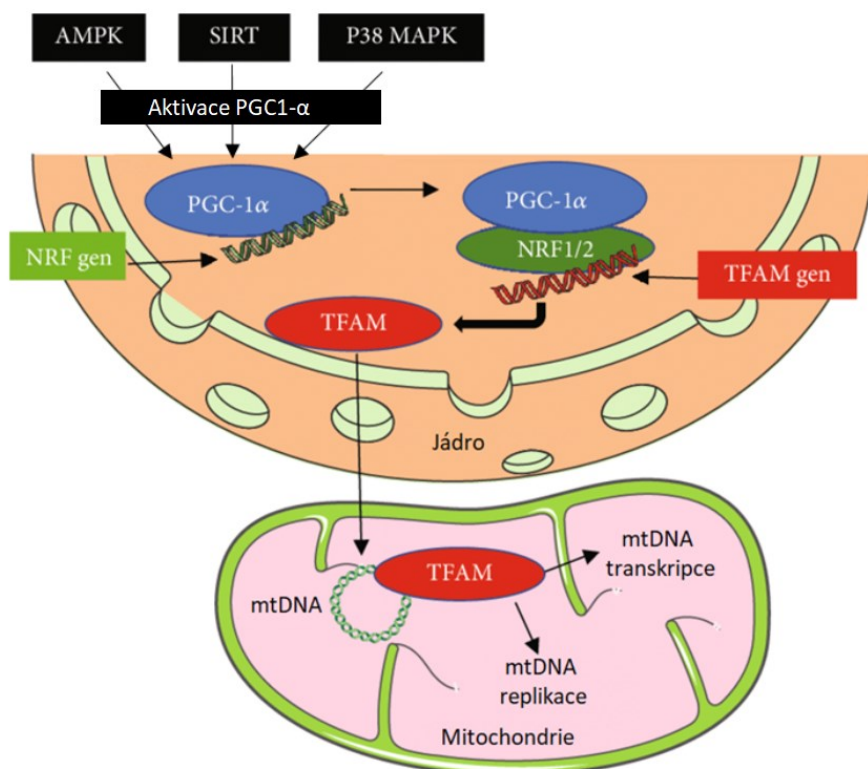
Na počátku 21. století však byly uveřejněny výsledky studie, která poukázala na možnost negativního dopadu cvičení na pacienty s mitochondriálním onemocněním. Ačkoliv bylo u většiny pacientů po 14 dnech dodržování tréninkového plánu zaznamenáno zlepšení ve schopnosti extrakce kyslíku do svalů a zlepšené oxidační kapacitě, nejspíše díky zlepšení činnosti respiračního řetězce, u šesti z devíti pacientů došlo ke zvýšení procenta mutované

vůči divoké mtDNA. U dvou pacientů byl nárůst 5 %, u tří 10 % a u jednoho téměř 50 %, ačkoliv po opakovaném provedení svalové biopsie bylo detekováno nižší procento, a to 37 % (Taivassalo et al., 2001). Tato informace proto vyvolala pochybnosti, zdali je cvičení pro pacienty s mitochondriálními poruchami bezpečné, a to zejména v dlouhodobém měřítku, pokud se zvýšení procentuálního zastoupení mutantní mtDNA projevilo již po 14 dnech.

Následující výzkumy se tedy soustředily nejen na otázku zlepšení nejrůznějších pochodů, které cvičení pacientům nabízí, ale i na otázku bezpečnosti. Dnes je převažujícím konsensem, že cvičení je i pro mitochondriální pacienty bezpečné. Ačkoliv dochází díky cvičení ke zvýšení množství mtDNA, nebyly v dalších studiích pozorovány masivní změny v procentuálním zastoupení mutované a divoké mtDNA. Zaznamenány nebyly ani změny v hladině kreatin kinázy v plazmě či svalové morfologii, a to ani v delším časovém horizontu, kdy byly pacienti v jedné ze studií podrobeni tréninkům po celý jeden rok a další rok byli i nadále sledováni (Jeppesen et al., 2006, 2009; Taivassalo et al., 2006).

3.2 Molekulární a buněčné mechanismy

Molekulárním mechanismem zajišťujícím adaptaci svalů na cvičení se zdá být zejména aktivace jaderných transkripčních koaktivátorů z rodiny PGC-1 (inducibilní koaktivátor 1 receptoru aktivovaného peroxizomálním proliferátorem), které hrají významnou roli v biogenezi a funkci mitochondrií, a jejichž exprese ve svalech se díky cvičení výrazně zvyšuje (Baar et al., 2002; Ljubicic et al., 2010; Safdar et al., 2011). Za jednu z hlavních a nejvíce prozkoumaných drah lze považovat dráhu $PGC-1\alpha \rightarrow NRF \rightarrow TFAM$ (obrázek 3). PGC-1 α reguluje nejen svou vlastní transkripci, ale též transkripci řady dalších jaderných genů, včetně nukleárních respiračních faktorů NRF1 a NRF2, které regulují expresi jaderně kódovaných mitochondriálních proteinů. Jedním z nich je i mitochondriální transkripční faktor A (TFAM), který má v mitochondriích nezastupitelnou roli – je nezbytný pro transkripci a replikaci mtDNA, stejně jako pro její stabilizaci (Kang et al., 2007). Díky této dráze tak dochází ke zvýšené expresi jaderných i mitochondriálních genů podjednotek komplexů oxidační fosforylace i pomocných faktorů hrajících roli v jejich sestavení, genů pro proteiny účastnící se transkripce a replikace mtDNA, proteinů transportní dráhy mitochondrií, zvýšení některých cytosolických i mitochondriálních enzymů a antioxidantů (Iacovelli et al., 2016; Kelly & Scarpulla, 2004).



Obrázek 3: Regulace mitochondriální biogeneze dráhou PGC-1 α -NRF-TFAM.

AMPK = adenosinmonofosfátem aktivovaná protein kináza, SIRT = sirtuin, p38 MAPK = p38 mitogenem aktivovaná protein kináza, zbylé zkratky jsou uvedeny v textu

Převzato a upraveno (Quan et al., 2020).

Zvýšení exprese PGC-1 α pomocí cvičení mělo podobné účinky jako uměle zvýšená exprese PGC-1 α u myšičího modelu s dysfunkcí komplexu IV. V obou studiích se prokázaly obdobné pozitivní účinky v podobě zvýšené biogeneze mitochondrií a aerobního metabolismu vedoucí ke zmírnění projevů mitochondriální myopatie (Wenz et al., 2008, 2009). Z toho lze soudit, že míra indukce PGC-1 α vyvolaná cvičením, by měla být dostatečná i pro částečnou kompenzaci mitochondriálních dysfunkcí. Účinky PGC-1 α a PGC-1 β vedoucí ke zvýšení počtu mitochondrií a zlepšení mitochondriální respirace se potvrdily i na tkáňových kulturách fibroblastů pacientů s mitochondriálními dysfunkcemi (Srivastava et al., 2009).

U silového cvičení se však nabízí další možný mechanismus, a to ovlivnění míry heteroplasmie zvýšením procentuálního zastoupení divoké mtDNA (Taivassalo et al., 1999). Je známo, že silové cvičení způsobuje ve svalech drobná poškození, která jsou následně regenerována. V tomto procesu hrají významnou roli satelitní buňky. Ty jsou poškozením myofibril aktivovány, dochází k jejich dělení, diferenciaci a fúzi s myofibrilami (Schultz &

McCormick, 1994). Vzhledem k tomu, že satelitní buňky vykazují nižší míru mutantních mtDNA, po fúzi s myofibrilou tak pozitivně ovlivní míru heteroplasmie (Fu et al., 1996; Weber et al., 1997). Tímto způsobem pak mohou vznikat z COX-negativních COX-intermediální svalová vlákna. COX-negativní vlákna jsou vlákna s defektní mitochondriální respirací, která jsou detekována histochemickým testem aktivity komplexu IV. COX-intermediální vlákna vykazují aktivitu na pomezí mezi COX-pozitivními a COX-negativními vlákny. Odlišná aktivita souvisí právě s jejich odlišným genotypem, kdy oproti COX-negativním vláknům obsahují vyšší zastoupení divoké mtDNA (Murphy et al., 2012).

3.3 Vliv cvičení na mitochondriální pacienty

Efekt cvičení na pacienty s mitochondriálním onemocněním hodnotilo několik nezávislých studií. U pacientů se ve výsledku díky vytrvalostnímu (aerobnímu) cvičení zvýšila pracovní kapacita, schopnost extrahovat kyslík do svalů i jeho využití, a tím tedy i maximální spotřeba kyslíku (VO_{2max}). Detekována byla též zvýšená aktivita citrát syntázy i absolutní aktivita komplexů respiračního řetězce. Plazmatická hladina laktátu však zůstala beze změn. Výše zmíněné tedy naznačuje zlepšení oxidačních schopností svalů. Ačkoliv nebyly pozorovány signifikantní změny srdečního tepu, byla zde tendence spíše k jeho snížení. Zajímavý je však pohled pacientů na zlepšení kvality života díky terapii pohybem. I když se prokázala klinicky významná zlepšení, velká část pacientů žádné významné změny nezaznamenala. Pouze někteří pacienti uvedli subjektivní zlepšení kvality života, které opět kleslo po ukončení pravidelného provozování aerobní aktivity. Obdobně na tom byly i výše zmíněné pozitivní úpravy některých fyziologických hodnot, které cvičení přinášelo, neboť po ukončení pravidelného cvičení se začaly jejich hladiny vracet zpět na původní hodnoty (Bates et al., 2013; Jeppesen et al., 2006; Porcelli et al., 2016; Taivassalo et al., 2006).

Při silovém cvičení byla míra poškození svalových myofibril a následná regenerace za pomoci aktivovaných satelitních buněk detekována pomocí povrchové molekuly NCAM. Dále byla sledována změna v zastoupení jednotlivých svalových vláken. Ačkoliv se procento COX-pozitivních svalových vláken nezměnilo, došlo ke změně v procentuálním zastoupení COX-intermediálních a COX-negativních vláken ve prospěch COX-intermediálních vláken, což podporuje hypotézu o silovém tréninku a jeho vlivu na míru heteroplasmie. U pacientů bylo též po 12 týdnech progresivního silového tréninku zaznamenáno zvýšení síly, zlepšená svalová oxidační kapacita, stejně jako zvýšená schopnost extrakce kyslíku z krve do svalů (Murphy et al., 2008).

Další z možností, která se nabízí, je spojení aerobní a silové aktivity. Takový protokol byl testován na 12 pacientech, kteří prováděli po dobu 8 týdnů aerobní cvičení kombinované se silovým tréninkem celého těla celkem 4x týdně a k tomu navíc cvičení dýchacích svalů, které praktikovali dvakrát denně. Za zmínku stojí, že aerobní aktivita byla v této studii prováděna formou 20 minutového vysoce intenzivního intervalového cvičení, známého též jako HIIT, kdy se střídala minuta intenzivní aktivity s minutou odpočinku, kdežto u všech výše zmíněných studií byl trénink klasickou kontinuální formou. Ve výsledku došlo ke zlepšení VO_{2max} , vyšší schopnosti svalů přijmout a využít kyslík během cvičení. Kromě nárůstu svalové síly a hmoty došlo i ke snížení tělesného tuku. Pozitivní vliv mělo cvičení i na kosti vzhledem ke snížení rizika zlomeniny – zlepšením T-skóre stehenní kosti na základě výsledků z duální rentgenové absorpciometrie. U jednoho z pacientů došlo dokonce ke zlepšení diagnostikované osteoporózy na osteopenii. Kosti totiž mohou být u mitochondriálních pacientů negativně ovlivněny nejrůznějšími faktory, např. užívanými léky jako jsou glukokortikoidy a antikonvulziva, nízkou hmotností a podvýživou či sníženou pohybovou aktivitou (Gandhi et al., 2017). Respirační cvičení pak zvýšilo sílu dýchacích svalů i plicní ventilaci, což je dosti významné, jelikož u dospělých pacientů bývá respirační selhání jednou z nejčastějších příčin úmrtí (Barends et al., 2016). Pacienti též popsali subjektivní zlepšení v kvalitě života, což je podpořeno i zlepšenými výsledky testů chůze a chůze do schodů, které patří do standardní sady testů funkční kapacity jedinců v běžných denních aktivitách (Fiuza-Luces et al., 2018).

3.4 Cvičení, mitochondriální metabolismus a prevence stárnutí

Mitochondriální dysfunkce je spojena i s procesem stárnutí a s ním spojenými onemocněními. V průběhu života se totiž v mitochondriálním genomu střádají nejrůznější mutace (somatické mutace), kterých s věkem rapidně přibývá, neboť mutační frekvence je v mitochondriálním genomu podstatně vyšší oproti genomu jadernému (Linnane et al., 1989). Tyto defekty v mtDNA pak mohou ovlivnit funkci mitochondriálních enzymů, vést k dysfunkcím oxidační fosforylace, zvýšené produkce ROS a dalším poškozením (Edgar et al., 2009). S rostoucím věkem pak také v některých tkáních dochází k poklesu počtu kopií mtDNA (Short et al., 2005). I v tomto případě se sport ukázal jako efektivní metoda zpomalování těchto procesů.

3.4.1 Vliv fyzické aktivity na mtDNA mutátorový myší model

Řada studií se prováděla na mtDNA mutátorovém myším modelu s geneticky upravenou mitochondriální DNA polymerázou gama (POLG), která postrádá opravnou exonukleázovou aktivitu, čímž dochází k akumulaci somatických mutací v mtDNA. Tyto myši pak vykazují

fenotyp předčasného stárnutí s projevy velmi podobnými stárnutí lidskému, jako je ztráta hmotnosti, vypadávání srsti, kyfóza, osteoporóza a další (Kujoth et al., 2005; Trifunovic et al., 2004). Ukázalo se, že mtDNA mutátorové myši, které podstoupily vytrvalostní trénink třikrát týdně po dobu pěti měsíců, byly vzhledem téměř nerozlišitelné od kontrolní skupiny bez mutované POLG stejného věku. Kromě viditelných známek stárnutí se upravily i další tělesné funkce. Došlo ke zlepšení kondice, fyzického i motorického výkonu a vytrvalostní kapacita byla při testování dokonce vyšší než u kontrolní skupiny. Díky fyzické aktivitě došlo též k výraznému zpomalení úbytku tělesné hmotnosti, a to jak tukové tkáně, tak i svalové hmoty, ke kterému ve stáří často dochází. Pozitivní výsledky byly zaznamenány i ve snížení rozvoje mozkové atrofie, kardiomyopatie, poklesu funkce gonád či jako prevence před anémií a zvětšením sleziny. Díky sportovní aktivitě tedy příznaky předčasného stárnutí téměř vymizely a navíc došlo k prodloužení délky života oproti skupině bez pravidelné fyzické aktivity (Safdar et al., 2011).

Se stářím a s ním spojenými defekty v mitochondriálních funkcích mohou souviset i neurodegenerativní onemocnění jako Alzheimerova a Parkinsonova choroba (Mecocci et al., 1997; Rango & Bresolin, 2018). Jelikož sport, jak bylo již řečeno, má pozitivní vliv na zmírnění celkového fenotypu stárnutí a též na mozkovou atrofii, bylo nasnadě provést u mtDNA mutátorového myšního modelu i výzkum vlivu cvičení zaměřený přímo na mozkové pochody. Ukázalo se, že tyto myši mají v mozkové kůře snížené hladiny některých neurotransmiterů. Šlo o acetylcholin a excitační aminokyseliny glutamát a aspartát, jejichž hladiny však byly u sportující mtDNA mutátorové skupiny téměř srovnatelné s hladinami zdravých myší. Pokud se ovšem podíváme na data ohledně prekurzorů acetylcholinu, zjistíme, že ačkoliv se díky cvičení upravila hladina kyseliny pantothenové, což je nezbytný prekurzor pro tvorbu acetyl-CoA (Ac-CoA), hladina samotného Ac-CoA byla u cvičící skupiny naopak nižší než u skupiny bez fyzické aktivity, což je přesný opak, než bychom čekali. Jako vysvětlení jsou udávány dvě možnosti. Vyšší spotřeba Ac-CoA po cvičení nebo snížená produkce Ac-CoA u tohoto myšního modelu. Kromě neurotransmiterů mělo cvičení vliv i na normalizaci hladin některých antioxidantů a karnitinu (Clark-Matott et al., 2015).

3.4.2 Mechanismus působení fyzické aktivity u mtDNA mutátorového myšního modelu

Otázkou však zůstává, díky jakému molekulárnímu mechanismu dochází ke zlepšení fenotypu myší s mutantní POLG pomocí aerobní aktivity. Odpovědí je, že sport je zjevně schopen modulovat počet vznikajících mutací v mitochondriálním genomu, a to i bez správné funkce POLG, a také téměř zabránit snižování počtu kopií mtDNA (Safdar et al., 2011). Hlavním

hráčem se ukázal být tumor supresorový protein p53, který hraje roli v mnoha různých buněčných pochodech, včetně ovlivnění mitochondriální biogeneze a funkce (Saleem et al., 2009). U mtDNA mutátorových myší bylo pozorováno hromadění proteinu p53 v jádře a pouze malá frakce se nacházela v mitochondriích. Naopak u skupiny, která byla podrobena pěti měsícům vytrvalostního cvičení, byla většina proteinu p53 detekována v mitochondriích. Tato změna lokalizace je zde klíčová, neboť právě protein p53 stojí za snížením vzniku mutací v mtDNA, zejména díky interakci s POLG (Safdar et al., 2016). Při interakci s upravenou POLG postrádající 3'→5' exonukleázovou aktivitu, která umožňuje opravovat chyby vznikající během replikace, je totiž protein p53 schopen tento defekt vykompenzovat, neboť sám exonukleázovou aktivitou disponuje (Bakhanashvili, 2001). Kromě přímé role v opravě mutací v mtDNA byl též pozorován vliv p53 na množství PGC-1 α . Při akumulaci proteinu p53 v jádře docházelo k jeho vazbě na promotorovou oblast genu pro PGC-1 α a snížení míry jeho exprese. Změna lokalizace proteinu p53, tak vedla ke zvýšení exprese PGC-1 α , což mělo též pozitivní dopad na mitochondriální stav (Safdar et al., 2016). Protein p53 však může být i pozitivním regulátorem exprese PGC-1 α (Aquilano et al., 2013), z čehož vyplývá, že ovlivnění exprese PGC-1 α proteinem p53 je závislé na daném kontextu.

3.4.3 Vliv fyzické aktivity na funkci mitochondrií u seniorů

Vedle myšího modelu je zde samozřejmě řada studií dokládající pozitivní vliv cvičení na mitochondriální stav u starších lidí. Aktivní senioři mají tendenci k vyšší expresi PGC-1 α , mají více mitochondrií, vyšší kapacitu oxidační fosforylace, stejně jako více komplexů I, IV a ATP syntázy oproti svým méně fyzicky aktivním vrstevníkům. Cvičení je pak schopno tento efekt navodit i u méně aktivních seniorů a to za relativně krátkou dobu. Za 4 měsíce došlo ke zvýšení exprese PGC-1 α , NRF2 i TFAM, markantnímu nárůstu mitochondriální denzity, zvýšení množství komplexů III, IV i ATP syntázy a tendence ke zvýšení byla zaznamenána i u komplexu I (Broskey et al., 2014). Efekt na zvýšení množství komplexu IV byl dokonce pozorován za ještě kratší dobu - v jedné studii již po 12 týdnech (Konopka et al., 2010), v další za 14 týdnů (Parise et al., 2005).

3.5 Shrnutí využití cvičení jako terapie pro mitochondriální defekty

Ačkoliv je cvičení dostupnou a levnou metodou, pacienti se mu musí pravidelně věnovat, což nemusí být vzhledem k možným pocitům nepohodlí a časové náročnosti vždy snadné. I přes to, že se fyzická aktivita jeví jako bezpečnou metodou, je vhodné, aby pacienti s mitochondriálními dysfunkcemi, kteří se pro její zařazení jako terapie rozhodnou, vše dobře

prokonzultovali se svým lékařem. Jako nejefektivnější se zdá být kombinace vytrvalostního a silového tréninku. Studií zabývajících se vytrvalostním cvičením je k dnešnímu datu relativně dostatek, výzkumů v oblasti silového či kombinovaného tréninku u mitochondriálních pacientů je pouze několik a zaslouží si tak více pozornosti v budoucím výzkumu. Kromě využití u primárních mitochondriálních onemocnění je sport vhodný i pro zpomalení projevů stárnutí, díky podpoření správné funkce mitochondrií i ve stáří.

4. Ketogenní dieta

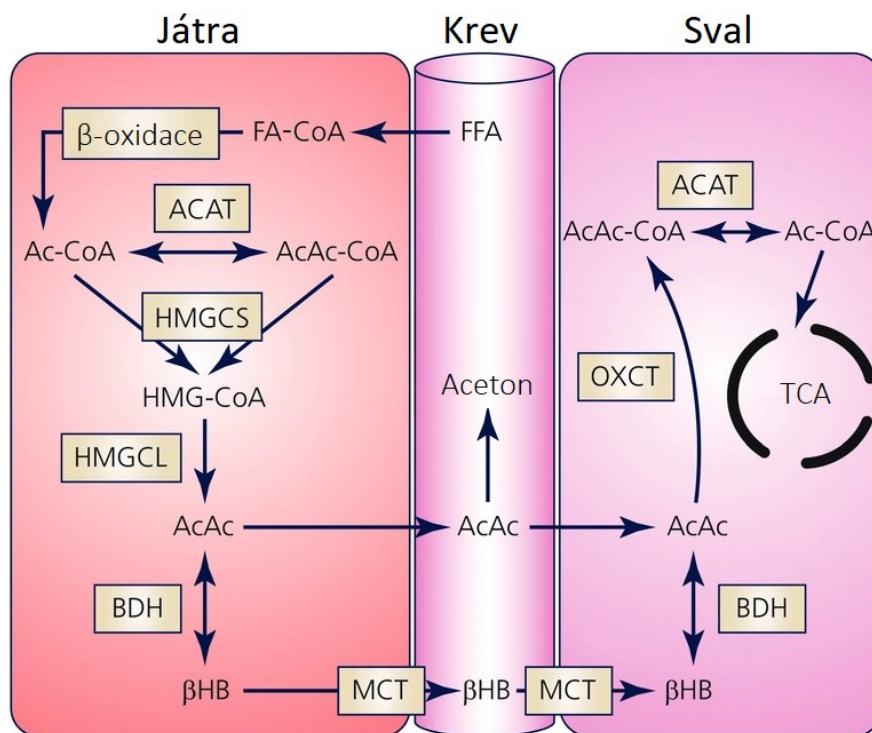
Mezi nejčastěji využívané dietní přístupy pro modulaci průběhu mitochondriálních onemocnění patří ketogenní dieta. Ta je známa přes více než 100 let a v povědomí lidí je spojována zejména s léčbou epilepsie a obezity. Vedle pacientů s epilepsií (Henderson et al., 2006) a obezitou (Dashti et al., 2004) se však její pozitivní vliv ukázal i u dalších onemocnění, jako jsou právě mitochondriální onemocnění, neurodegenerativní a psychiatrická onemocnění (Kraeuter et al., 2020), rakovina (Weber et al., 2020) a další. Kromě pozitiv však KD může vyústit v široké spektrum vedlejších účinků. Některými z nich jsou hyperlipidémie, tvorba ledvinových kamenů, gastrointestinální potíže, riziko osteopénie / osteoporózy či deficit některých vitamínů, minerálů a stopových prvků (Bergqvist, 2012).

Historie ketogenní diety souvisí s léčbou epilepsie. Před nástupem KD bylo používáno pro redukování epileptických záchvatů hladovění, jehož efekt byl připisován změně nastavení energetického metabolismu směrem k produkci a využití ketolátek. Hladovění je však dlouhodobě neudržitelné, a proto bylo cílem nastolit jinou metodu, která vyvolá stejnou změnu energetického metabolismu jako hladovění. Tak vznikla ketogenní dieta, která se následně ukázala jako velmi efektivní a využívá se dodnes, zejména u jedinců rezistentních vůči antiepileptickým lékům (Wheless, 2008).

4.1 Princip ketogenní diety

Tvorba ketolátek, acetoacetátu (AcAc), acetonu a beta-hydroxybutyrátu (β OHB), probíhá v matrix jaterních mitochondrií. Substrátem pro ketogenezi je Ac-CoA, vznikající beta-oxidací mastných kyselin. β OHB a AcAc jsou pak uvolněny do krve a transportovány k dalším orgánům, jako je mozek, srdce a svaly, k využití jako energetické substráty. V akceptorových orgánech pak v mitochondriální matrix ketolýzou vzniká Ac-CoA, který následně vstupuje do TCA, odkud vystupují redukované koenzymy, které jsou využity v ETC a následně dochází k produkci ATP díky ATP syntáze (obrázek 4) (Puchalska & Crawford,

2017). Vedle terminální oxidace a produkce ATP mohou být ketony použity i k syntéze sterolů a lipogenezi (Endemann et al., 1982).



Obrázek 4: Schéma metabolismu ketoláték.

FFA = volná mastná kyselina, FA-CoA = acyl-CoA, ACAT = Ac-CoA acetyltransferáza, HMGCS = 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA syntáza, HMG-CoA = 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA, HMGCL = 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA lyáza, BDH = beta-hydroxybutyrátdehydrogenáza, MCT = monokarboxylátový transportér, OXCT = 3-oxoacyl-CoA transferáza, zbylé zkratky jsou uvedeny v textu

Převzato a upraveno (Evans et al., 2017).

Ketogenní dieta však nemění pouze primární energetický zdroj z glukózy na ketolátky, ale ovlivňuje řadu dalších proměnných. Pokud se zaměříme konkrétně na mitochondrie, tak KD podporuje jejich biogenezi, ovlivňuje expresi proteinů hrajících roli v mitochondriální dynamice, zlepšuje produkci proteinů účastnících se βox, TCA či oxidační fosforylace a taktéž ovlivňuje schopnost buňky odolávat oxidačnímu stresu. Výše zmíněné efekty jsou souhrou mnoha faktorů, které jsou pomocí KD ovlivněny. Jedná se zejména o PPAR, PGC-1, FOXO3 či rozpráhovací proteiny (UCP) (Draznin et al., 2012; Hasan-Olive et al., 2019; Srivastava et al., 2012; Sullivan et al., 2004; Turner et al., 2007). Jak bylo již zmíněno v kapitole o cvičení, PGC-1 je nejen hlavním transkripčním regulátorem mitochondriální

biogeneze, ale reguluje též expresi řady antioxidantů. Roli v modulaci reakce buňky na oxidační stres zvýšenou expresí antioxidantů má spolu s PGC-1 i FOXO3 (Olmos et al., 2009; Sundaresan et al., 2009), který navíc indukuje autofagii poškozených mitochondrií během oxidačního stresu (Tseng et al., 2013). Rozpřahovací proteiny též pomáhají snížit oxidační stres redukcí produkce ROS v ETC (Skulachev, 1996) a jejich aktivace může být podpořena právě i díky PGC-1, např. dráhou PGC1 α -SIRT3-UCP2 (Hasan-Olive et al., 2019). S oxidačním stresem, který může být vyvolán ketogenní dietou podobně jako sportem díky zvýšené respiraci, je tak spojena i mitohormeze. Její myšlenkou je, že mírné zvýšení produkce ROS vede k následné adaptaci a lepší ochraně vůči oxidačnímu stresu, neboť ROS mohou fungovat i jako signalizační molekuly a aktivovat řadu drah spojených s mechanismy chránícími buňky před oxidačním stresem (Miller et al., 2018; Ristow & Zarse, 2010). Jedním z příkladů této signalizace může být aktivace PGC-1 pomocí H₂O₂ (Irrcher et al., 2009).

4.2 Složení ketogenní diety

Existují různá složení ketogenní diety, obecně se jedná o stravu obsahující vysoké množství tuků a naopak nízké množství sacharidů, někdy i proteinů a výjimkou nebývá ani kalorická restrikce. Ze studie zaměřené na účinky KD na zmírnění epileptických záchvatů se však ukázalo, že čím přísnější dieta, tzn. čím vyšší procento tuku obsahovala, tím lepších výsledků bylo dosaženo (Seo et al., 2007). Pokud bychom použili klasické nastavení 4 : 1 neboli 4 g tuku na 1 g sacharidu a proteinu, s kalorickým zastoupením 90 % tuku, 7 % bílkovin a 3 % sacharidů u dospělé ženy, u níž je doporučený denní příjem kalorií 2000 kcal, zastoupení by bylo ekvivalentní zhruba 200 ml oleje, 125 g masa z kuřecích prsou bez tuku a 15 g cukru.

Jelikož se jedná o velmi striktní a na potraviny i jejich množství omezenou dietu, byly vytvořeny i její méně restriktivní modifikace. Relativně široce využívaná modifikovaná Atkinsonova dieta taktéž dbá na vysoké zastoupení tuků ve stravě, neomezuje však příjem kalorií ani bílkovin. Sacharidy jsou v prvním měsíci dovoleny v množství 10 g za den, u dospělých 15 g za den. Následně jsou sacharidy navyšovány o 5 g za měsíc až na maximálních 30 g za den. V porovnání s nastavením KD 4 : 1 je zde poměr cca 1 : 1 (gramy tukové složky vůči gramům složek netukových), v kalorickém zastoupení tak představují tuky cca 65 % (Kossoff & Dorward, 2008). Dieta s nízkým glykemickým indexem povoluje vyšší zastoupení sacharidů než klasická KD, glykemický index však v tomto případě musí být nižší než 50. Zastoupení jednotlivých makronutrientů v celkovém energetickém příjmu je cca 60 % tuků, 30 % bílkovin a 10 % sacharidů (Muzykewicz et al., 2009).

4.3 Ketogenní dieta a epilepsie

Nejhojnějším a neznámějším terapeutickým využitím ketogenní diety je bezpochyby léčba epileptických záchvatů, které nejsou výjimkou ani u pacientů s mitochondriálním onemocněním (Lim & Thomas, 2020). Právě proto je nejvíce prozkoumanou oblastí aplikace KD u pacientů s mitochondriálními defekty mírnění těchto záchvatů. Z výzkumů vyplývá, že KD je schopna v této oblasti pomoci jak dětským, tak i dospělým pacientům, a to s různými mitochondriálními defekty, do nichž spadají defekty pyruvát dehydrogenázového komplexu (Barnerias et al., 2010; Sofou et al., 2017), komplexů respiračního řetězce (Kang et al., 2006, 2007; Lee et al., 2008) i mutacemi v genu pro POLG (Joshi et al., 2009; Martikainen et al., 2012). Na základě výsledků výše zmíněných studií lze konstatovat, že KD u valné většiny pacientů zmírnila frekvenci záchvatů a u některých pacientů došlo dokonce k jejich úplnému vymizení. Díky KD tak bylo u těchto pacientů možné úplně vyřadit nebo alespoň výrazně omezit podávání antiepileptik. Kromě zlepšení v oblasti záchvatů byl v některých z těchto studií detekován pozitivní vliv KD i na další klinické projevy. Ketogenní dieta tak u některých pacientů zmírnila ataxii, zlepšila kognitivní či behaviorální funkce, popřípadě vedla ke zlepšení spánku. Spolu s KD byly však pacientům často podávány i další terapeuticky významné látky, ať už jednotlivě nebo v podobě mitochondriálních koktejlů, popřípadě i antikonvulziva. Tato informace by tak mohla vyvolat otázku, zdali se o výše zmíněné benefity opravdu zasloužila KD. Účinnost KD jako takové však lze demonstrovat i na případech kdy došlo k jejímu přerušení či nedůslednému dodržování, což vedlo k opětovnému zhoršení zdravotního stavu (Joshi et al., 2009; Sofou et al., 2017). I u pacientky, která po vysazení KD nadále užívala mitochondriální koktejl, došlo ke zhoršení záchvatů. Po opětovném nasazení KD se však počet záchvatů opět snížil (Seo et al., 2010). Nutno zmínit, že většina pacientů snášela KD bez větších problémů, případně se daly vedlejší účinky vykompenzovat doplňkovou léčbou. V některých případech, jako například při přetrvávající acidóze, však musela být KD přerušena.

4.4 Ketogenní dieta a defekty komplexu I

Defekty komplexu I jsou časté u syndromu MELAS, které ve valné většině souvisí s mutací mitochondriálního genu pro tRNA^{Leu} (Ciafaloni et al., 1992; Koga et al., 1988). Možný mechanismus účinku KD se tak zkoumal na lidských MELAS cybridních buňkách s mutací v mtDNA na pozici 3243A>G v téměř homoplasmickém zastoupení. U těchto buněk bylo pozorováno výrazné snížení mitochondriální respirace a aktivity komplexu I, jehož skládání v holoenzym bylo mutací ovlivněno a docházelo k akumulaci meziprojektu sestavování.

Aktivity komplexů II a IV nebyly významně změněny vzhledem ke kontrolním buňkám, ačkoliv aktivita komplexu II byla u mutantních buněk o něco vyšší. V důsledku dysfunkce mitochondriálního oxidačního metabolismu jsou buňky v produkci ATP více závislé na glykolýze. To bylo potvrzeno zvýšeným příjmem glukózy, zvýšením cytosolického poměru NADH/NAD⁺ a zároveň téměř dvojnásobnou mírou produkce laktátu, který je tvořen z pyruvátu v rámci reoxidace buněčného NADH. Pokud však byly mutantní buňky v médiu obsahujícím ketolátky se sníženým množstvím glukózy, došlo po 4 týdnech k zásadnímu zlepšení výše zmíněných hodnot. Ketolátky vedly ke zvýšení mitochondriální respirace a vyšší oxidaci pyruvátu v mitochondriích, pro což svědčí snížený cytosolický poměr NADH/NAD⁺ i nezvyšující se produkce laktátu. Ke snížení poměru NADH/NAD⁺ došlo též v mitochondriích. Uvedené skutečnosti naznačují zvýšení aktivity mitochondriálního komplexu I. Nutno podotknout, že tohoto zlepšení nebylo dosaženo ihned - zatímco po 14 dnech v médiu s ketolátkami nebyl rozdíl v aktivitě komplexu I signifikantní, po 28 dnech došlo k markantnímu zvýšení. Nativní elektroforetické techniky navíc ukázaly, že po kultivaci s ketolátkami byl komplex I přítomen jako plně složený holoenzym. Mechanismus stojící za těmito pozitivními účinky nejspíše tkví ve schopnosti ketolátek zvyšovat množství kopií mtDNA beze změny v zastoupení mutantní nálože (Frey et al., 2017). Z výsledků tedy vyplývá, že by KD mohla být efektivní strategií pro zlepšení funkce mitochondrií u MELAS, popřípadě dalších onemocnění souvisejících s defektem komplexu I.

U pacientů s LHON jsou jedny z častých mutací v mtDNA na pozicích 3460G>A, 11778G>A a 14484T>C, spojeny s defekty v komplexu I a většinou se vyskytují v homoplasmickém zastoupení. I když pacient nese tyto mutace ve 100% zastoupení, nemusí se onemocnění projevit. Jedním z rozdílů mezi asymptomatickými přenašeči a pacienty trpícími LHON se ukázalo být právě množství mtDNA, kdy u asymptomatických přenašečů bylo pozorováno výrazně více kopií mtDNA (Bianco et al., 2016). Ovlivnění množství mtDNA by tak mohlo být možným nástrojem, jak pomoci pacientům nesoucím homoplasmické mutace vedoucí k LHON. Zvýšit množství mtDNA se podařilo u homoplasmických LHON cybridních buněk pěstováním v médiu obsahujícím AcAc a βOHB bez glukózy, což naznačuje, že by KD mohla pomoci i v tomto případě. Návrh možného mechanismu, proč vyšší množství mtDNA vede ke zlepšení, byť dochází k expresi stále stejně defektního proteinu, je ten, že protein může být alespoň částečně aktivní, a proto zvýšení jeho množství může být přínosné (Emperador et al., 2019).

Kromě zvýšení množství mtDNA byla na dalších buněčných modelech mitochondriálních onemocnění pozorována změna heteroplasmie, indukovaná pomocí média simulujícího KD. Snížení procentuálního zastoupení mutantních mtDNA a zvýšení divoké mtDNA pak vedlo ke zvýšené produkci, sestavení i aktivitě předtím postižených komplexů respiračního řetězce. Pozorování změny heteroplasmie na MELAS cybridních buňkách (Desquiret-Dumas et al., 2012), LHON cybridních buňkách (Emperador et al., 2019) i u buněk obsahujících delecii v mtDNA od pacienta s Kearny–Sayrovým syndromem (Santra et al., 2004), též podporuje možné využití KD u mitochondriálních pacientů.

4.5 Další případy s pozitivní odezvou na ketogenní dietu

4.5.1 Progresivní externí oftalmoplegie

Na základě studie, v níž KD u myšičího „deletor“ modelu mitochondriální myopatie s mutantní *twinkle* mtDNA helikázou, kdy v průběhu života myši dochází k akumulaci delecí v mtDNA (Tyynismaa et al., 2005), dokázala zpomalit nástup tohoto onemocnění, a to bez vedlejších účinků (Ahola-Erkkilä et al., 2010), byla provedena pilotní studie na pěti lidských pacientech trpících mitochondriální myopatií s progresivní externí oftalmoplegií (PEO) v důsledku různých genetických mutací. U mitochondriálních pacientů jsou některé studie tvořeny dle klinických projevů navzdory různým kauzálním mutacím, a proto mohla vzniknout i tato studie na PEO inspirována pozitivními efekty u „deletor“ myši. Dalším podpořením pro provedení této studie by mohl být i dřívější případ, kdy s velkou pravděpodobností KD pomohla zvrátit oftalmoplegii u chlapce s Leighovým syndromem (Laugel et al., 2007). Pilotní studie však musela být předčasně ukončena vzhledem k tomu, že již po několika dnech na modifikované Atkinsonově dietě pociťovali všichni pacienti svalovou bolest a pálení dolních končetin, které s postupem času gradovalo a rozšiřovalo se do dalších částí těla. Tyto symptomy po přechodu zpět na původní stravu brzy vymizely. Analýza vzorků svalů získaných biopsií před a po aplikaci diety odhalila, že u pacientů došlo k selektivní degeneraci svalových vláken s akumulací mitochondrií v důsledku defektního respiračního řetězce (neboli „red-ragged“ vláken), a to bez známek aktivace regeneračních procesů. Po 2,5 letech však pacienti vykazovali mírně zvýšenou sílu a výkon. Mechanismus stojící za tímto zlepšením je ovšem pouze odhadován, neboť další biopsie provedeny nebyly. Autoři přisoudili zlepšení sníženému zastoupení poškozených vláken jejich selektivní degenerací a aktivací pozdější regenerace pomocí satelitních buněk (Ahola et al., 2016).

4.5.2 Mutace genu *BCS1L*

Zajímavou je i případová studie pacientky s mutací v genu *BCS1L* (protein BCS1L se podílí na sestavení komplexu III), trpící alopecií a ztrátou sluchu, u níž byla aplikována modifikovaná Atkinsonova dieta. Její rodiče se však již po 4 měsících rozhodli pro ukončení diety, a to i přes výrazné zlepšení růstu vlasů. Podnětem k přerušení léčby byl nelepšící se sluch a touha dívky po sacharidech, což poukazuje na problematičnost takto striktní diety dodržet, zejména u dětí. Po ukončení léčby dívka opět o vlasy přišla (Della-Marina et al., 2020). Ačkoliv v tomto případě nebyly zkoumány žádné další podrobnosti, otázkou zůstává, zdali by dieta byla schopna při dřívějším nasazení nebo při dlouhodobějším užívání upravit i dívčin sluch.

Podrobnější studie vlivu KD u mutace v *BCS1L* genu byla provedena již dříve, ovšem pouze na myším modelu. Výrazným fenotypovým projevem je u těchto myší mitochondriální hepatopatie, jejíž rozvoj byl podáváním KD podstatně zmírněn. U jaterních mitochondrií došlo k normalizaci jejich morfologie, zvýšení množství plně sestaveného komplexu III i jeho aktivity, a to až o 50 % (Purhonen et al., 2017).

4.5.3 Mutace genu pro mitochondriální tRNA^{Trp}

Další z pozitivních efektů KD prezentovala nedávná studie u tříleté pacientky s mutací v genu pro mitochondriální tRNA^{Trp} a sníženými aktivitami komplexů I a IV. Ketogenní dieta byla v tomto případě primárně nasazena pro zlepšení neurologického stavu, kromě toho však došlo i k normalizaci tloušťky stěny srdeční komory, která před tím vykazovala známky hypertrofie (Deberles et al., 2020). Jelikož se kardiomyopatie projevují u 20–40 % dětí trpícími mitochondriálním onemocněním, z čehož nejčastějším typem je právě hypertrofická kardiomyopatie (El-Hattab & Scaglia, 2016), fakt, že by ketogenní dieta mohla pomoci i v oblasti kardiomyopatií v kontextu mitochondriálních onemocnění je velmi povzbuzující.

4.6 Shrnutí aplikace ketogenní diety u mitochondriálních pacientů

Ačkoliv KD nabízí určitá zlepšení i některým pacientům s mitochondriálním onemocněním, nelze ji aplikovat generalizovaně. Evidentní je její nevhodnost u pacientů s defekty v metabolických drahách souvisejícími s metabolismem ketonů a tuků. Naopak účinnou metodou by mohla být KD u pacientů, u nichž by změna energetického metabolismu z glukózy na beta-oxidaci mastných kyselin a ketolátky měla z logiky věci vykompenzovat, alespoň z části, primární defekt. Takovými onemocněními mohou být defekty pyruvát dehydrogenázového komplexu, kdy díky KD nebude pro tvorbu Ac-CoA nutný pyruvát,

popřípadě u defektů komplexu I, kdy dochází k jeho částečnému obejití přes komplex II díky zvýšenému poměru $\text{FADH}_2/\text{NADH}$ (Roef et al., 2002). Zlepšení by však KD mohla poskytnout i ostatním mitochondriálním pacientům vzhledem k podpoře biogeneze mitochondrií, zvýšené schopnosti regulovat oxidační stres a možné indukci snížení míry heteroplasmie.

Dnes je KD nejvíce uplatňována u mitochondriálních pacientů trpících epileptickými záchvaty. V dalších případech vzhledem k malému počtu průkazných dat a studií by mělo být nasazení diety pečlivě zváženo lékařem. Vždy je nutné posoudit celkový stav a historii pacienta, následně jej pravidelně monitorovat a jakékoliv náznaky vedlejších účinků ihned řešit.

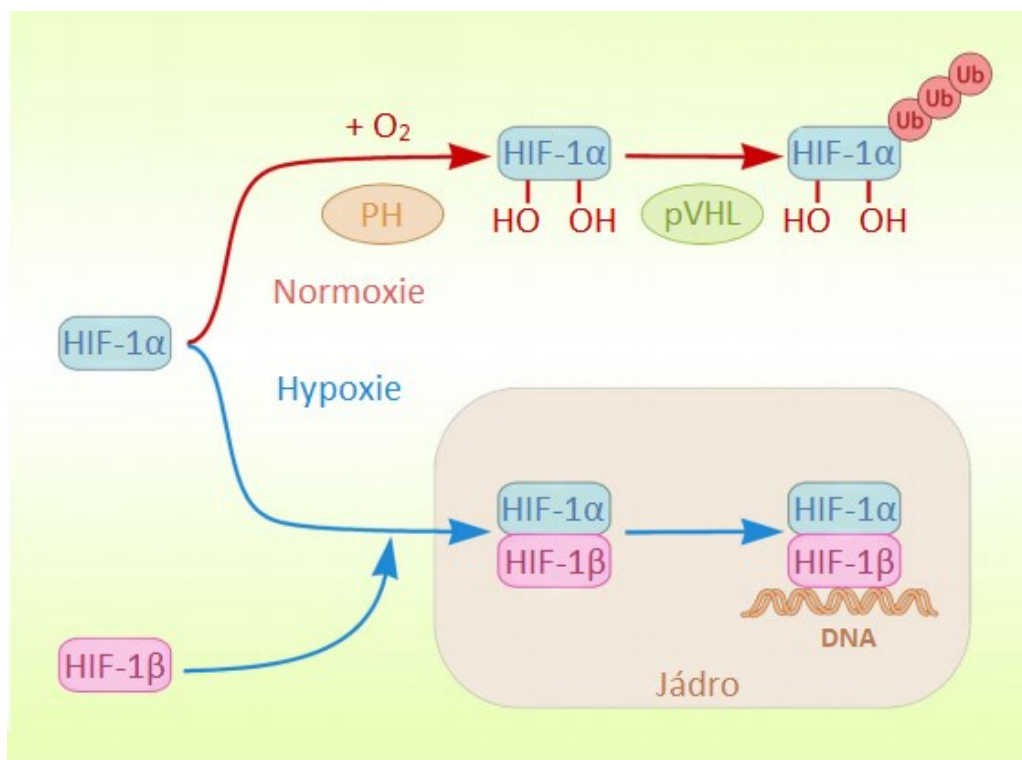
5. Hypoxie

Hypoxie je stav, kdy tkáně nedostávají potřebné množství kyslíku, aby zajistily svou správnou fyziologickou funkci. Normoxie je naopak fyziologická koncentrace kyslíku. Tento termín se obvykle používá relativně k obecnému procentuálnímu zastoupení kyslíku ve vzduchu (20–21 % O_2), díky kterému je pak zajištěna i dostatečná koncentrace kyslíku ve tkáních. Je však třeba mít na paměti, že reálná koncentrace kyslíku se v různých tkáních těla liší. V průměru je koncentrace kyslíku ve tkáních přibližně 5 %, což je mnohem méně nežli procento kyslíku v atmosféře (McKeown, 2014). Hypoxie je pak tedy stav, kdy je procento kyslíku nižší. Tento nedostatek kyslíku může být akutní či chronický a může dokonce vyvrcholit i ve smrtelné příhody jako je infarkt či mozková mrtvice.

5.1 Molekulární mechanismy adaptace na hypoxii

Naše tělo má však mechanismy, kterými se s hypoxií snaží vypořádat. Centrální roli zde hraje hypoxií indukovaný transkripční faktor (HIF). Aktivní formu HIF-1 představuje heterodimer proteinů HIF-1 α a HIF-1 β . Pouze ten je schopen vazby na DNA a aktivace exprese genů nezbytných pro přenastavení buněčného metabolismu v reakci na hypoxii. Podjednotky HIF-1 jsou v buňce konstitutivně exprimovány, ale za dostatečné tenze O_2 v buňce dochází k degradaci HIF-1 α čímž je vznik aktivního HIF heterodimeru blokován. Za normoxie totiž dochází k hydroxylaci HIF-1 α pomocí enzymu prolyl hydroxylázy (PH). Takto hydroxylovaný HIF-1 α je rozeznáván von Hippel-Lindau proteinem (pVHL), který je součástí ubiquitin ligázy. Ubiquitinovaný (Ub) HIF-1 α je následně v proteozomu degradován. Za hypoxie však k hydroxylaci HIF-1 α nedochází, což zabraňuje jeho degradaci a umožňuje

sestavení HIF-1 a expresi HIF-1 aktivovaných genů (obrázek 5) (Kaelin & Ratcliffe, 2008). Příkladem takového genu je gen pro kinázu pyruvát dehydrogenázy. Tento enzym je důležitý pro inhibici pyruvát dehydrogenázového komplexu a zamezení přeměny pyruvátu na Ac-CoA, který by byl následně směřován do TCA cyklu. Konverzí z aerobního na anaerobní metabolismus (glykolýzu) si buňka zachová alespoň částečnou schopnost produkovat ATP a sníží riziko nadměrné produkce ROS v ETC. (Kim et al., 2006). Dalším z prokázaných efektů HIF-1 je například změna v podjednotkovém složení komplexu IV respiračního řetězce, konkrétně v podjednotce COX4. Během hypoxie totiž dochází k aktivaci transkripce izoformy COX4-2 a naopak obvyklá izoforma COX4-1 je aktivně odbourávána díky zvýšené expresi mitochondriální proteázy LON (Fukuda et al., 2007). Změna podjednotky COX4-2 za COX4-1 ovlivňuje afinitu enzymu ke kyslíku – konkrétně enzym s COX4-2 podjednotkou má vyšší hodnotu p_{50} . Tato změna tak hraje podstatnou roli v regulaci aktivity COX a funkce elektron transportního řetězce v hypoxických podmínkách (Pajuelo Reguera et al., 2020).



Obrázek 5: Vliv normoxie a hypoxie na transkripční faktor HIF-1.

Převzato a upraveno (Huang et al., 2020).

5.2 Hypoxie jako léčba mitochondriálních onemocnění

Hypoxie se v nedávné době dostala do povědomí jako možnost léčby mitochondriálních onemocnění. Jelikož se jedná o relativně nový přístup, je výzkum omezen na preklinické studie. Ty byly doposud provedeny na buněčných liniích (včetně lidských) a na modelových organismech (myš, danio pruhoané), výsledky stran možného pozitivního efektu však vypadají velice nadějně.

5.2.1 Pleiotropní efekt versus hypoxie

Bylo pozorováno, že častým jevem při poruchách respiračního řetězce je ovlivnění hned několika komplexů jediným mutovaným protein-kódujícím genem, jedná se o tzv. pleiotropní efekt. Z mnoha studií se ukázalo, že komplex I je silně závislý na komplexech III a IV, neboť v případech dysfunkcí komplexu III a IV došlo k výraznému zhoršení sestavení a stability komplexu I. Stejně tak může docházet ke snížení množství komplexu IV při defektech komplexu III, v opačném směru tento efekt pozorován nebyl (Acín-Pérez et al., 2004; Diaz et al., 2006; Li et al., 2007). Výzkum však ukázal, že hypoxie je schopna tento pleiotropní efekt týkající se komplexu I zvrátit. Mechanismus byl zkoumán na fibroblastech s defekty v komplexu III a komplexu IV. Ačkoliv se dříve přikládala významná role ve stabilizaci HIF-1 α při hypoxii ROS, v této studii nebyla zvýšená hladina ROS pozorována. V obou případech autoři uzavřeli, že nízké procento kyslíku zajišťuje stabilizaci HIF-1 α i bez ROS a následně díky tomu dochází ke zvýšení množství komplexu I (Saldana-Caboverde et al., 2020). Toto tvrzení však nelze aplikovat vždy, jelikož zjevně závisí na typu buněk a jejich aktivovaných signálních kaskádách. Dřívější výzkum na lidské leukemické monocytární buněčné linii totiž naopak popisuje pokles komplexu I během chronické hypoxie, kvůli na HIF-1 α závislé destabilizaci proteinu TMEM126B, který hraje roli v sestavení komplexu I (Fuhrmann et al., 2018).

5.2.2 Myší model Leighova syndromu a hypoxie

Řada výzkumů zabývajících se účinky různých koncentrací kyslíku se zaměřila na Leighův syndrom. Tento syndrom může být způsobován mutacemi v genu *NDUFS4*, který kóduje podjednotku respiračního komplexu I. Navození obdobných symptomů u myši lze docílit delecí genu *Ndufs4* (Ndufs4 KO). Pomocí tohoto myšího modelu pak byly zkoumány změny fenotypu při rozdílných koncentracích kyslíku: normoxie (21 % O₂), hypoxie (11 % O₂) a hyperoxie (55 % O₂). Pro experiment byly použity myši staré 30 dní, neboť symptomy se u myši začínají projevovat právě v tomto věku. U skupiny Ndufs4 KO, která byla vystavena chronické hypoxii, došlo k výraznému omezení projevů onemocnění a zlepšení celkového

zdravotního stavu oproti skupině v normoxii. Přírůstek hmotnosti byl téměř srovnatelný se skupinou kontrolních myší vystavených hypoxii a nedocházelo ani k poklesům tělesné teploty. Míra dožití byla u skupiny *Ndufs4* KO vystavené hypoxii až 170 dní oproti skupině v normoxii, kde se žádná z myší nedožila více než 75 dnů. Další zlepšení bylo zaznamenáno i v neurologickém chování a pohybové aktivitě. To, že by hypoxie pozitivně ovlivnila funkci komplexu I u *Ndufs4* KO, se nepotvrdilo, ba naopak hodnoty aktivit byly obdobně nízké jako u skupiny vystavené normoxii. Další otázkou bylo, jaký vliv bude mít na myši s defektním komplexem I hyperoxie. Zde se prokázalo, že chronické vystavení vysokému procentu kyslíku má vážné negativní následky. Jedinci ze skupiny *Ndufs4* KO vystaveni 55 % O₂ se dožili pouhých 32–41 dnů. Mezi zdravými skupinami umístěnými do hyperoxie a normoxie se žádné výrazné fenotypové odlišnosti neprokázaly (Jain et al., 2016).

Koncentrace kyslíku 11 % představuje relativně fyziologické podmínky (přibližně odpovídá výpravě na Mont Blanc, neboť s rostoucí nadmořskou výškou klesá atmosférický tlak a tím i tlak kyslíku). Nevíme však, jak by na tyto markantní změny reagovali pacienti s mitochondriálními dysfunkcemi. Proto byla provedena navazující studie, kdy byly *Ndufs4* KO myši vystaveny pouze nízké míře hypoxie (17 % O₂). Výsledky však byly obdobné jako u skupiny v normoxii – pokles koncentrace kyslíku na 17 % tedy nebyl dostatečně efektivní, aby u myší zabránil rozvoji onemocnění a ani nevedl k prodloužení délky dožití (Ferrari et al., 2017).

Na stejném myším modelu se též prokázaly pozitivní účinky hypoxie na regulaci okysličení krve, a to díky obnově hypoxické plicní vazokonstrikce, která je u *Ndufs4* KO myší defektní (Schleifer et al., 2019). Dalším nečekaným objevem bylo, že hypoxie (11 % O₂) je schopná u myší zvrátit projevy již pokročilého Leighova syndromu, a to až v takovém rozsahu, že došlo ke zmenšení mozkových lézí vzniklých v důsledku onemocnění (Ferrari et al., 2017).

Hypoxický buněčný program je obvykle výhradně spojen s HIF-1. Ukázalo se však, že zásadním mechanismem, díky kterému je hypoxie schopna u myší téměř zvrátit Leighův syndrom, je stabilizace hladin kyslíku v mozku, a to nezávisle na stabilizaci HIF-1 α . Při dysfunkci genu *Ndufs4* se totiž ukazuje, že koncentrace kyslíku v mozku je oproti zdravým jedincům vyšší, což nejspíše vede i ke zvýšené produkci ROS. Dle experimentu stačily pouhé 3 týdny na to, aby se parciální tlak kyslíku u *Ndufs4* KO myší na terapii hypoxií dostal na obdobnou hladinu jako u zdravých myší v normoxii (Jain et al., 2019).

5.2.3 Vliv hypoxie při defektech frataxinu

Pozitivní účinky hypoxie byly též pozorovány u defektů frataxinu (FXN), což je mitochondriální protein hrající roli v biosyntéze železo-sírných center a jehož mutace zapříčiňuje onemocnění zvané Freidreichova ataxie (FRDA). Na několika lidských buněčných liniích se ukázalo, že hypoxie je schopna aktivovat syntézu železo-sírných center nezávisle na FXN. Výzkum byl dále prováděn na myším modelu FRDA s obdobnými symptomy jako mají lidské pacienty. Opět se ukázalo, že myši vystavené chronické hypoxii (11 % O₂) vykazovaly zmírnění neurologických projevů, konkrétně ataxie. Míra přežití však nebyla ovlivněna, jelikož hypoxie neměla vliv na progresi srdečních patologií (Ast et al., 2019).

5.2.4 Alternativní cesty navození hypoxického programu

Umělé navození aktivace hypoxického transkripčního programu v buňce bylo testováno na lidské buněčné linii K562. Simulace hypoxie byla provedena vytvořením von Hippel-Lindau knockout buněk (VHL KO), jelikož bez pVHL nedochází k degradaci HIF- α 1, což vede k expresi genů spojených s hypoxií. Následně se testovalo, jak budou buňky reagovat na inhibici některých komplexů ETC. Bylo pozorováno, že VHL KO buňky vykazují oproti kontrole vyšší rezistenci vůči inhibici komplexu III antimycinem a komplexu V oligomycinem. V dalším experimentu byly použity buněčné linie HT-29, HEK 293T a K562, v nichž byly blokovány komplexy I, III či IV, což vedlo k výrazně defektnímu buněčnému růstu. V případech kdy byl aplikován inhibitor PH (FG-4592), a tím simulován stav jako při hypoxii, byl tento defekt téměř zanedbatelný. Pozitivní účinek FG-4592 byl též prokázán u embryí daniá pruhovaného s defekty ETC, kdy oproti kontrolní skupině byla míra přežití téměř dvojnásobná (Jain et al., 2016).

5.3 Reálné terapeutické možnosti využití hypoxie

Pro docílení toho, aby pacienti byli v podmínkách odpovídajících hypoxii, je třeba je napojit na hypoxický generátor. Tím však dochází k omezení jejich mobility. Jako možnost se tedy nabízelo vyzkoušet, zda by se dala aplikovat přerušovaná hypoxie, kdy by pacienti byli napojeni na hypoxický generátor pouze po určitou část dne, např. během spánku. Ovšem při pokusech na Ndufs4 KO myších vystavených přerušované hypoxii, konkrétně 11 % O₂ po dobu 10 hodin během spánku, nebyly pozorovány žádné pozitivní účinky a výsledky byly obdobné jako u myší, které byly po celou dobu vystavené normoxii. Naopak přerušovaná hypoxie vedla k ještě vyššímu poklesu tělesné hmotnosti nežli nepřerušovaná normoxie (Ferrari et al., 2017).

Další možností by mohlo být navození hypoxického programu pomocí malých molekul, jakožto farmakologické řešení nefarmakologické terapie. Tato metoda by byla ovšem účinná pouze pro dráhy závislé na HIF-1. Inhibitory pVHL či PH jsou již předmětem výzkumu, ačkoliv primárním zaměřením testování těchto molekul je léčba anémie, ischemie či rakoviny (Buckley et al., 2012; Rabinowitz, 2013). Příkladem může být výše zmíněný FG-4592, který je ve III fázi klinického testování pro léčbu anémie související s chronickým onemocněním ledvin. V nejnovějším přehledném článku (Zhang et al., 2020) jsou shrnuty výsledky několika studií, které potvrzují, že léčba pomocí inhibitorů PH vykazuje zlepšení anémie u pacientů s onemocněním ledvin i zlepšení metabolismu železa. Důležitým faktem je, že při léčbě nebyly pozorovány významné vedlejší účinky a léčivo má relativně jednoduchou aplikaci (orální podání). To by mělo být jedním ze stimulů, proč dát tomuto přístupu šanci i v léčbě mitochondriálních onemocnění a provést více výzkumů v této oblasti.

5.4 Závěrečné shrnutí terapie hypoxií

Ačkoliv reakce mitochondriálních pacientů na hypoxii zatím není známa a navození chronické hypoxie přes neustálé připojení na přístroje může být pro život značně omezující, výsledky na buněčných liniích a modelových organismech se zdají být nad očekávání pozitivní. Stejně jako u dříve diskutovaných přístupů ani léčba pomocí hypoxie určitě není vhodná pro všechny mitochondriální defekty. Proto by její aplikace musela být důkladně zvážena, jelikož při nesprávném nastavení by mohly být následky velmi závažné. Terapie hypoxií je však zatím uvedení do praxe velmi vzdálená a zůstává pouze u preklinických studií.

Závěr

Vzhledem k vysoké variabilitě a vzácnému výskytu jednotlivých mitochondriálních onemocnění vyžaduje léčba vysoce individuální přístup a měla by reflektovat i příčinu daného onemocnění. Ačkoliv představa, že bude vynalezen univerzální lék schopný pomoci všem pacientům s mitochondriálními onemocněními, je velmi nepravděpodobná, řada léků zaměřených na léčbu některých mitochondriálních onemocnění je již v preklinickém či klinickém testování. Ze 49 klinických studií jich zatím 10 postoupilo až do třetí fáze klinického testování (Weissig, 2020). Ukončením testování to však nekončí a je nutné ještě schválení dané metody pro oficiální uvedení do praxe, které může trvat 1–2 roky. Od vstupu do klinického testování po úspěšné schválení tedy může uběhnout téměř 10 let. Pacienti však tolik času mnohdy nemají.

V tomto ohledu lze tedy využít k alespoň částečnému zmírnění projevů onemocnění nefarmakologické přístupy jako je sport či ketogenní dieta, které jsou již v dnešní době některým pacientům s mitochondriálními onemocněními doporučovány. Vzhledem k jejich spíše obecnému mechanismu účinku mohou být využívány širším spektrem pacientů do doby, než bude vynalezena specifická léčba přímo pro jejich onemocnění. Byť se jedná o metody, které vyžadují každodenní úsilí v podobě pravidelného cvičení či striktní diety, dalších metod zatím bohužel mnoho není. Ani tyto metody však nejsou vhodné pro všechny mitochondriální pacienty a jejich jakákoliv aplikace by měla být vždy pod dohledem lékaře.

I hypoxie se řadí mezi nefarmakologické metody, a ačkoliv doposud neproběhly žádné studie na lidských pacientech, výzkumy na buněčných i zvířecích modelech vypadají velmi povzbudivě. Její aplikace však může činit problém, jelikož by pacient musel být neustále připojen na hypoxický generátor. Zatím ani odpověď na otázku, jak budou na hypoxii mitochondriální pacienti reagovat, není jasná. Může se tedy stát, že pacienti nebudou tuto léčbu dobře snášet nebo naopak budou profitovat (oproti myším) i z přerušované hypoxie, což by bylo pro pacienty jistě snesitelnější.

Kromě aplikace u pacientů jsou však tyto metody ideální pro pozorování zapojených signalizačních drah a molekul, vedoucích ke zlepšení v oblasti mitochondriálních defektů. Farmaceutický průmysl už jen musí najít způsob, jak tyto dráhy mimikovat pomocí farmak, což se již v některých případech děje, viz výše zmíněné inhibitory pVHL či PH. Díky tomu se tak možná jednou nejen mitochondriální pacienti dočkají sportu, ketogenní diety či hypoxie v pilulce.

Reference

- Acín-Pérez, R., Bayona-Bafaluy, M. P., Fernández-Silva, P., Moreno-Loshuertos, R., Pérez-Martos, A., Bruno, C., Moraes, C. T., & Enríquez, J. A. (2004). Respiratory complex III is required to maintain complex I in mammalian mitochondria. *Molecular Cell*, *13*(6), 805–815. [https://doi.org/10.1016/S1097-2765\(04\)00124-8](https://doi.org/10.1016/S1097-2765(04)00124-8)
- Ahola-Erkilä, S., Carroll, C. J., Peltola-Mjösund, K., Tulkki, V., Mattila, I., Seppänen-Laakso, T., Orešič, M., Tyyntismä, H., & Suomalainen, A. (2010). Ketogenic diet slows down mitochondrial myopathy progression in mice. *Human Molecular Genetics*, *19*(10), 1974–1984. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddq076>
- Ahola, S., Auranen, M., Isohanni, P., Niemisalo, S., Urho, N., Buzkova, J., Velagapudi, V., Lundbom, N., Hakkarainen, A., Muurinen, T., Piirilä, P., Pietiläinen, K. H., & Suomalainen, A. (2016). Modified Atkins diet induces subacute selective ragged-red-fiber lysis in mitochondrial myopathy patients. *EMBO Molecular Medicine*, *8*(11), 1234–1247. <https://doi.org/10.15252/emmm.201606592>
- Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., & Walter, P. (2002). The mitochondrion. V *Molecular Biology of the Cell*. (4. vydání). New York: Garland Science, fig. 14-7. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26894/>
- Anderson, S., Bankier, A. T., Barrell, B. G., de Bruijn, M. H., Coulson, A. R., Drouin, J., Eperon, I. C., Nierlich, D. P., Roe, B. A., Sanger, F., Schreier, P. H., Smith, A. J., Staden, R., & Young, I. G. (1981). Sequence and organization of the human mitochondrial genome. *Nature*, *290*(5806), 457–465. <https://doi.org/10.1038/290457a0>
- Aquilano, K., Baldelli, S., Pagliei, B., Cannata, S. M., Rotilio, G., & Ciriolo, M. R. (2013). P53 orchestrates the PGC-1 α -mediated antioxidant response upon mild redox and metabolic imbalance. *Antioxidants and Redox Signaling*, *18*(4), 386–399. <https://doi.org/10.1089/ars.2012.4615>
- Ast, T., Meisel, J. D., Patra, S., Wang, H., Grange, R. M. H., Kim, S. H., Calvo, S. E., Orefice, L. L., Nagashima, F., Ichinose, F., Zapol, W. M., Ruvkun, G., Barondeau, D. P., & Mootha, V. K. (2019). Hypoxia Rescues Frataxin Loss by Restoring Iron Sulfur Cluster Biogenesis. *Cell*, *177*(6), 1507-1521.e16. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.03.045>
- Baar, K., Wende, A. R., Jones, T. E., Marison, M., Nolte, L. A., Chen, M., Kelly, D. P., & Holloszy, J. O. (2002). Adaptations of skeletal muscle to exercise: rapid increase in the transcriptional coactivator PGC-1. *The FASEB Journal*, *16*(14), 1879–1886. <https://doi.org/10.1096/fj.02-0367com>
- Bakhanashvili, M. (2001). Exonucleolytic proofreading by p53 protein. *European Journal of Biochemistry*, *268*(7), 2047–2054. <https://doi.org/10.1046/j.1432-1327.2001.02075.x>
- Barends, M., Verschuren, L., Morava, E., Nesbitt, V., Turnbull, D., & McFarland, R. (2016). Causes of death in adults with mitochondrial disease. *JIMD Reports*. https://doi.org/10.1007/8904_2015_449
- Barnerias, C., Saudubray, J. M., Touati, G., De Lonlay, P., Dulac, O., Ponsot, G., Marsac, C., Brivet, M., & Desguerre, I. (2010). Pyruvate dehydrogenase complex deficiency: Four neurological phenotypes with differing pathogenesis. *Developmental Medicine and Child Neurology*, *52*(2). <https://doi.org/10.1111/j.1469-8749.2009.03541.x>

- Bates, M. G. D., Newman, J. H., Jakovljevic, D. G., Hollingsworth, K. G., Alston, C. L., Zaleski, P., Klawe, J. J., Blamire, A. M., Macgowan, G. A., Keavney, B. D., Bourke, J. P., Schaefer, A., McFarland, R., Newton, J. L., Turnbull, D. M., Taylor, R. W., Trenell, M. I., & Gorman, G. S. (2013). Defining cardiac adaptations and safety of endurance training in patients with m.3243A>G-related mitochondrial disease. *International Journal of Cardiology*, *168*(4), 3599–3608. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2013.05.062>
- Bereiter-Hahn, J., & Vöth, M. (1994). Dynamics of mitochondria in living cells: Shape changes, dislocations, fusion, and fission of mitochondria. *Microscopy Research and Technique*, *27*(3), 198–219. <https://doi.org/10.1002/jemt.1070270303>
- Bergqvist, A. G. C. (2012). Long-term monitoring of the ketogenic diet: Do's and Don'ts. *Epilepsy Research*, *100*(3), 261–266. <https://doi.org/10.1016/j.epilepsyres.2011.05.020>
- Bianco, A., Martínez-Romero, I., Bisceglia, L., D'Agruma, L., Favia, P., Ruiz-Pesini, E., Guerriero, S., Montoya, J., & Petruzzella, V. (2016). Mitochondrial DNA copy number differentiates the leber's hereditary optic neuropathy affected individuals from the unaffected mutation carriers. *Brain*, *139*(1), e1. <https://doi.org/10.1093/brain/awv216>
- Broskey, N. T., Greggio, C., Boss, A., Boutant, M., Dwyer, A., Schlueter, L., Hans, D., Gremion, G., Kreis, R., Boesch, C., Canto, C., & Amati, F. (2014). Skeletal muscle mitochondria in the elderly: Effects of physical fitness and exercise training. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, *99*(5), 1852–1861. <https://doi.org/10.1210/jc.2013-3983>
- Buckley, D. L., Van Molle, I., Gareiss, P. C., Tae, H. S., Michel, J., Noblin, D. J., Jorgensen, W. L., Ciulli, A., & Crews, C. M. (2012). Targeting the von Hippel-Lindau E3 ubiquitin ligase using small molecules to disrupt the VHL/HIF-1 α interaction. *Journal of the American Chemical Society*, *134*(10), 4465–4468. <https://doi.org/10.1021/ja209924v>
- Ciafaloni, E., Ricci, E., Shanske, S., Moraes, C. T., Silvestri, G., Hirano, M., Simonetti, S., Angelini, C., Donati, M. A., Garcia, C., Martinuzzi, A., Mosewich, R., Servidei, S., Zammarchi, E., Bonilla, E., DeVivo, D. C., Rowland, L. P., Schon, E. A., & DiMauro, S. (1992). MELAS: Clinical features, biochemistry, and molecular genetics. *Annals of Neurology*, *31*(4), 391–398. <https://doi.org/10.1002/ana.410310408>
- Clark-Matott, J., Saleem, A., Dai, Y., Shurubor, Y., Ma, X., Safdar, A., Beal, M. F., Tarnopolsky, M., & Simon, D. K. (2015). Metabolomic analysis of exercise effects in the POLG mitochondrial DNA mutator mouse brain. *Neurobiology of Aging*. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2015.07.020>
- Coskun, P., Wyrembak, J., Schriener, S. E., Chen, H. W., Marciniack, C., Laferla, F., & Wallace, D. C. (2012). A mitochondrial etiology of Alzheimer and Parkinson disease. *Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects*, *1820*(5), 553–564. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2011.08.008>
- Cree, L., & Loi, P. (2015). Mitochondrial replacement: From basic research to assisted reproductive technology portfolio tool-technicalities and possible risks. *Molecular Human Reproduction*, *21*(1), 3–10. <https://doi.org/10.1093/molehr/gau082>
- Dashti, H. M., Mathew, T. C., Hussein, T., Asfar, S. K., Behbahani, A., Khoursheed, M. A., Al-Sayer, H. M., Bo-Abbas, Y. Y., & Al-Zaid, N. S. (2004). Long-term effects of a ketogenic diet in obese patients. *Experimental and Clinical Cardiology*, *9*(3), 200–205. <http://www.embase.com/search/results?subaction=viewrecord&from=export&id=L3960>

- Deberles, E., Maragnes, P., Penniello-Valette, M. J., Allouche, S., & Joubert, M. (2020). Reversal of Cardiac Hypertrophy With a Ketogenic Diet in a Child With Mitochondrial Disease and Hypertrophic Cardiomyopathy. *Canadian Journal of Cardiology*, *36*(10), 1690.e1-1690.e3. <https://doi.org/10.1016/j.cjca.2020.04.024>
- Debray, F. G., Lambert, M., Chevalier, I., Robitaille, Y., Decarie, J. C., Shoubridge, E. A., Robinson, B. H., & Mitchell, G. A. (2007). Long-term outcome and clinical spectrum of 73 pediatric patients with mitochondrial diseases. *Pediatrics*, *119*(4), 722–733. <https://doi.org/10.1542/peds.2006-1866>
- Della-Marina, A., Leiendecker, B., Roesch, S., & Wortmann, S. B. (2020). Ketogenic diet for treating alopecia in bcs11-related mitochondrial disease Bjornstad syndrome. *JIMD Reports*, *53*(1), 10–11. <https://doi.org/10.1002/jmd2.12109>
- Desquiret-Dumas, V., Gueguen, N., Barth, M., Chevrollier, A., Hancock, S., Wallace, D. C., Amati-Bonneau, P., Henrion, D., Bonneau, D., Reynier, P., & Procaccio, V. (2012). Metabolically induced heteroplasmy shifting and l-arginine treatment reduce the energetic defect in a neuronal-like model of MELAS. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease*. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2012.01.010>
- Diaz, F., Fukui, H., Garcia, S., & Moraes, C. T. (2006). Cytochrome c Oxidase Is Required for the Assembly/Stability of Respiratory Complex I in Mouse Fibroblasts. *Molecular and Cellular Biology*, *26*(13), 4872–4881. <https://doi.org/10.1128/mcb.01767-05>
- Draznin, B., Wang, C., Adochio, R., Leitner, J. W., & Cornier, M. A. (2012). Effect of dietary macronutrient composition on AMPK and SIRT1 expression and activity in human skeletal muscle. *Hormone and Metabolic Research*, *44*(9), 650–655. <https://doi.org/10.1055/s-0032-1312656>
- Edgar, D., Shabalina, I., Camara, Y., Wredenberg, A., Calvaruso, M. A., Nijtmans, L., Nedergaard, J., Cannon, B., Larsson, N. G., & Trifunovic, A. (2009). Random Point Mutations with Major Effects on Protein-Coding Genes Are the Driving Force behind Premature Aging in mtDNA Mutator Mice. *Cell Metabolism*, *10*(2), 131–138. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2009.06.010>
- El-Hattab, A. W., & Scaglia, F. (2016). Mitochondrial Cardiomyopathies. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*, *3*. <https://doi.org/10.3389/fcvm.2016.00025>
- Emperador, S., López-Gallardo, E., Hernández-Ainsa, C., Habbane, M., Montoya, J., Bayona-Bafaluy, M. P., & Ruiz-Pesini, E. (2019). Ketogenic treatment reduces the percentage of a LHON heteroplasmic mutation and increases mtDNA amount of a LHON homoplasmic mutation. *Orphanet Journal of Rare Diseases*, *14*(1), 4–9. <https://doi.org/10.1186/s13023-019-1128-z>
- Endemann, G., Goetz, P. G., Edmond, J., & Brunengraber, H. (1982). Lipogenesis from ketone bodies in the isolated perfused rat liver. Evidence for the cytosolic activation of acetoacetate. *Journal of Biological Chemistry*, *257*(7), 3434–3440. [https://doi.org/10.1016/s0021-9258\(18\)34796-3](https://doi.org/10.1016/s0021-9258(18)34796-3)
- Evans, M., Cogan, K. E., & Egan, B. (2017). Metabolism of ketone bodies during exercise and training: physiological basis for exogenous supplementation. *Journal of Physiology*, *595*(9), 2857–2871. <https://doi.org/10.1113/JP273185>

- Ferrari, M., Jain, I. H., Goldberger, O., Rezoagli, E., Thoonen, R., Chen, K. H., Sosnovik, D. E., Scherrer-Crosbie, M., Mootha, V. K., & Zapol, W. M. (2017). Hypoxia treatment reverses neurodegenerative disease in a mouse model of Leigh syndrome. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *114*(21), 4241–4250. <https://doi.org/10.1073/pnas.1621511114>
- Fiuza-Luces, C., Díez-Bermejo, J., Fernández-De La Torre, M., Rodríguez-Romo, G., Sanz-Ayán, P., Delmiro, A., Munguía-Izquierdo, D., Rodríguez-Gómez, I., Ara, I., Domínguez-González, C., Arenas, J., Martín, M. A., Lucia, A., & Morán, M. (2018). Health Benefits of an Innovative Exercise Program for Mitochondrial Disorders. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, *50*(6), 1142–1151. <https://doi.org/10.1249/MSS.0000000000001546>
- Frey, S., Geffroy, G., Desquiret-Dumas, V., Gueguen, N., Bris, C., Belal, S., Amati-Bonneau, P., Chevrollier, A., Barth, M., Henrion, D., Lenaers, G., Bonneau, D., Reynier, P., & Procaccio, V. (2017). The addition of ketone bodies alleviates mitochondrial dysfunction by restoring complex I assembly in a MELAS cellular model. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease*, *1863*(1), 284–291. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2016.10.028>
- Fu, K., Hartlen, R., Johns, T., Genge, A., Karpati, G., & Shoubridge, E. A. (1996). A novel heteroplasmic tRNA(leu(CUN)) mtDNA point mutation in a sporadic patient with mitochondrial encephalomyopathy segregates rapidly in skeletal muscle and suggests an approach to therapy. *Human Molecular Genetics*. <https://doi.org/10.1093/hmg/5.11.1835>
- Fuhrmann, D. C., Wittig, I., Dröse, S., Schmid, T., Dehne, N., & Brüne, B. (2018). Degradation of the mitochondrial complex I assembly factor TMEM126B under chronic hypoxia. *Cellular and Molecular Life Sciences*, *75*(16), 3051–3067. <https://doi.org/10.1007/s00018-018-2779-y>
- Fukuda, M., Wakasugi, S., Tsuzuki, T., Nomiya, H., Shimada, K., & Miyata, T. (1985). Mitochondrial DNA-like sequences in the human nuclear genome. Characterization and implications in the evolution of mitochondrial DNA. *Journal of Molecular Biology*, *186*(2), 257–266. [https://doi.org/10.1016/0022-2836\(85\)90102-0](https://doi.org/10.1016/0022-2836(85)90102-0)
- Fukuda, R., Zhang, H., Kim, J. whan, Shimoda, L., Dang, C. V., & Semenza, G. L. L. (2007). HIF-1 Regulates Cytochrome Oxidase Subunits to Optimize Efficiency of Respiration in Hypoxic Cells. *Cell*, *129*(1), 111–122. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.01.047>
- Gandhi, S. S., Muresku, C., McCormick, E. M., Falk, M. J., & McCormack, S. E. (2017). Risk factors for poor bone health in primary mitochondrial disease. *Journal of Inherited Metabolic Disease*, *40*(5), 673–683. <https://doi.org/10.1007/s10545-017-0046-2>
- Hasan-Olive, M. M., Lauritzen, K. H., Ali, M., Rasmussen, L. J., Storm-Mathisen, J., & Bergersen, L. H. (2019). A Ketogenic Diet Improves Mitochondrial Biogenesis and Bioenergetics via the PGC1 α -SIRT3-UCP2 Axis. *Neurochemical Research*, *44*(1), 22–37. <https://doi.org/10.1007/s11064-018-2588-6>
- Henderson, C. B., Filloux, F. M., Alder, S. C., Lyon, J. L., & Caplin, D. A. (2006). Efficacy of the ketogenic diet as a treatment option for epilepsy: Meta-analysis. *Journal of Child Neurology*, *21*(3), 193–198. <https://doi.org/10.2310/7010.2006.00044>
- Holloszy, J. O. (1967). Biochemical adaptations in muscle. Effects of exercise on mitochondrial oxygen uptake and respiratory enzyme activity in skeletal muscle. *Journal*

of Biological Chemistry, 242(9), 2278–2282. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)96046-1](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)96046-1)

- Holloszy, J. O. (1975). Adaptation of skeletal muscle to endurance exercise. *Medicine and science in sports*, 7, 155–164.
- Huang, M., Yang, L., Peng, X., Wei, S., Fan, Q., Yang, S., Li, X., Li, B., Jin, H., Wu, B., Liu, J., & Li, H. (2020). Autonomous glucose metabolic reprogramming of tumour cells under hypoxia: Opportunities for targeted therapy. *Journal of Experimental and Clinical Cancer Research*, 39(1), 1–13. <https://doi.org/10.1186/s13046-020-01698-5>
- Iacovelli, J., Rowe, G. C., Khadka, A., Diaz-Aguilar, D., Spencer, C., Arany, Z., & Saint-Geniez, M. (2016). PGC-1 α induces human RPE oxidative metabolism and antioxidant capacity. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, 57(3), 1038–1051. <https://doi.org/10.1167/iovs.15-17758>
- Irrcher, I., Ljubicic, V., & Hood, D. A. (2009). Interactions between ROS and AMP kinase activity in the regulation of PGC-1 α transcription in skeletal muscle cells. *American Journal of Physiology - Cell Physiology*, 296(1), 116–123. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00267.2007>
- Jain, I. H., Zazzeron, L., Goldberger, O., Marutani, E., Wojtkiewicz, G. R., Ast, T., Wang, H., Schleifer, G., Stepanova, A., Brepoels, K., Schoonjans, L., Carmeliet, P., Galkin, A., Ichinose, F., Zapol, W. M., & Mootha, V. K. (2019). Leigh Syndrome Mouse Model Can Be Rescued by Interventions that Normalize Brain Hyperoxia, but Not HIF Activation. *Cell Metabolism*, 30(4), 824–832.e3. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2019.07.006>
- Jain, I. H., Zazzeron, L., Goli, R., Alexa, K., Schatzman-Bone, S., Dhillon, H., Goldberger, O., Peng, J., Shalem, O., Sanjana, N. E., Zhang, F., Goessling, W., Zapol, W. M., & Mootha, V. K. (2016). Hypoxia as a therapy for mitochondrial disease. *Science*, 352(6281), 54–61. <https://doi.org/10.1126/science.aad9642>
- Jeppesen, T. D., Dunø, M., Schwartz, M., Krag, T., Rafiq, J., Wibrand, F., & Vissing, J. (2009). Short- and long-term effects of endurance training in patients with mitochondrial myopathy. *European Journal of Neurology*, 16(12), 1336–1339. <https://doi.org/10.1111/j.1468-1331.2009.02660.x>
- Jeppesen, T. D., Schwartz, M., Olsen, D. B., Wibrand, F., Krag, T., Dunø, M., Hauerslev, S., & Vissing, J. (2006). Aerobic training is safe and improves exercise capacity in patients with mitochondrial myopathy. *Brain*, 129(12), 3402–3412. <https://doi.org/10.1093/brain/awl149>
- Joshi, C. N., Greenberg, C. R., Mhanni, A. A., & Salman, M. S. (2009). Ketogenic Diet in Alpers-Huttenlocher Syndrome. *Pediatric Neurology*, 40(4), 314–316. <https://doi.org/10.1016/j.pediatrneurol.2008.10.023>
- Kaelin, W. G., & Ratcliffe, P. J. (2008). Oxygen Sensing by Metazoans: The Central Role of the HIF Hydroxylase Pathway. *Molecular Cell*, 30(4), 393–402. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2008.04.009>
- Kang, D., Kim, S. H., & Hamasaki, N. (2007). Mitochondrial transcription factor A (TFAM): Roles in maintenance of mtDNA and cellular functions. *Mitochondrion*, 7(1–2), 39–44. <https://doi.org/10.1016/j.mito.2006.11.017>
- Kang, H. C., Kim, H. D., Lee, Y. M., & Han, S. H. (2006). Landau-Kleffner Syndrome with

- Mitochondrial Respiratory Chain-Complex I Deficiency. *Pediatric Neurology*, 35(2), 158–161. <https://doi.org/10.1016/j.pediatrneurol.2006.01.012>
- Kang, H. C., Lee, Y. M., Kim, H. D., Lee, J. S., & Slama, A. (2007). Safe and effective use of the ketogenic diet in children with epilepsy and mitochondrial respiratory chain complex defects. *Epilepsia*, 48(1), 82–88. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2006.00906.x>
- Kelly, D. P., & Scarpulla, R. C. (2004). Transcriptional regulatory circuits controlling mitochondrial biogenesis and function. *Genes and Development*, 18(4), 357–368. <https://doi.org/10.1101/gad.1177604>
- Kim, J. W., Tchernyshyov, I., Semenza, G. L., & Dang, C. V. (2006). HIF-1-mediated expression of pyruvate dehydrogenase kinase: A metabolic switch required for cellular adaptation to hypoxia. *Cell Metabolism*, 3(3), 177–185. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2006.02.002>
- Koga, Y., Nonaka, I., Kobayashi, M., Tojyo, M., & Nihei, K. (1988). Findings in muscle in complex I (NADH coenzyme Q reductase) deficiency. *Annals of Neurology*. <https://doi.org/10.1002/ana.410240609>
- Koňářiková, E., Marković, A., Korandová, Z., Houštěk, J., & Mráček, T. (2020). Current progress in the therapeutic options for mitochondrial disorders. *Physiological Research*, 69(6), 967–994. <https://doi.org/10.33549/physiolres.934529>
- Konopka, A. R., Douglass, M. D., Kaminsky, L. A., Jemiolo, B., Trappe, T. A., Trappe, S., & Harber, M. P. (2010). Molecular adaptations to aerobic exercise training in skeletal muscle of older women. *Journals of Gerontology - Series A Biological Sciences and Medical Sciences*, 65 A(11), 1201–1207. <https://doi.org/10.1093/gerona/glq109>
- Kossoff, E. H., & Dorward, J. L. (2008). The modified Atkins diet. *Epilepsia*, 49 suppl. 8, 37–41. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2008.01831.x>
- Kraeuter, A. K., Phillips, R., & Sarnyai, Z. (2020). Ketogenic therapy in neurodegenerative and psychiatric disorders: From mice to men. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 101, 109913. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2020.109913>
- Kujoth, G. C., Hiona, A., Pugh, T. D., Someya, S., Panzer, K., Wohlgemuth, S. E., Hofer, T., Seo, A. Y., Sullivan, R., Jobling, W. A., Morrow, J. D., Van Remmen, H., Sedivy, J. M., Yamasoba, T., Tanokura, M., Weindruch, R., Leeuwenburgh, C., & Prolla, T. A. (2005). Mitochondrial DNA mutations, oxidative stress, and apoptosis in mammalian aging. *Science*, 309(5733), 481–484. <https://doi.org/10.1126/science.1112125>
- Lake, N. J., Compton, A. G., Rahman, S., & Thorburn, D. R. (2016). Leigh syndrome: One disorder, more than 75 monogenic causes. *Annals of Neurology*, 79(2), 190–203. <https://doi.org/10.1002/ana.24551>
- Laugel, V., This-Bernd, V., Cormier-Daire, V., Speeg-Schatz, C., de Saint-Martin, A., & Fischbach, M. (2007). Early-Onset Ophthalmoplegia in Leigh-Like Syndrome Due to NDUFV1 Mutations. *Pediatric Neurology*, 36(1), 54–57. <https://doi.org/10.1016/j.pediatrneurol.2006.08.007>
- Lee, Y. M., Kang, H. C., Lee, J. S., Kim, S. H., Kim, E. Y., Lee, S. K., Slama, A., & Kim, H. D. (2008). Mitochondrial respiratory chain defects: Underlying etiology in various epileptic conditions. *Epilepsia*, 49(4), 685–690. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2007.01522.x>

- Li, Y., D'Aurelio, M., Deng, J. H., Park, J. S., Manfredi, G., Hu, P., Lu, J., & Bai, Y. (2007). An assembled complex IV maintains the stability and activity of complex I in mammalian mitochondria. *Journal of Biological Chemistry*, *282*(24), 17557–17562. <https://doi.org/10.1074/jbc.M701056200>
- Lightowlers, R. N., Chinnery, P. F., Turnbull, D. M., Howell, N., & Turnbuu, D. M. (1997). Mammalian mitochondrial genetics: Heredity, heteroplasmy and disease. *Trends in Genetics*, *13*(11), 450–455. [https://doi.org/10.1016/S0168-9525\(97\)01266-3](https://doi.org/10.1016/S0168-9525(97)01266-3)
- Lim, A., & Thomas, R. H. (2020). The mitochondrial epilepsies. *European Journal of Paediatric Neurology*, *24*, 47–52. <https://doi.org/10.1016/j.ejpn.2019.12.021>
- Linnane, A. W., Ozawa, T., Marzuki, S., & Tanaka, M. (1989). Mitochondrial Dna Mutations As an Important Contributor To Ageing and Degenerative Diseases. *The Lancet*, *333*(8639), 642–645. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(89\)92145-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(89)92145-4)
- Ljubicic, V., Joseph, A. M., Saleem, A., Uguccioni, G., Collu-Marchese, M., Lai, R. Y. J., Nguyen, L. M. D., & Hood, D. A. (2010). Transcriptional and post-transcriptional regulation of mitochondrial biogenesis in skeletal muscle: Effects of exercise and aging. *Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects*, *1800*(3), 223–234. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2009.07.031>
- Lott, M. T., Leipzig, J. N., Derbeneva, O., Xie, H. M., Chalkia, D., Sarmady, M., Procaccio, V., & Wallace, D. C. (2013). mtDNA Variation and Analysis Using Mitomap and Mitomaster. *Current Protocols in Bioinformatics*, *44*(123), 1.23.1-26. <https://doi.org/10.1002/0471250953.bi0123s44>
- Macmillan, C., Lach, B., & Shoubridge, E. A. (1993). Variable distribution of mutant mitochondrial DNAs (tRNA(Leu[3243])) in tissues of symptomatic relatives with MELAS: the role of mitotic segregation. *Neurology*, *43*(8), 1586–1590. <https://doi.org/10.1212/wnl.43.8.1586>
- Mancuso, M., Angelini, C., Bertini, E., Carelli, V., Comi, G. P., Minetti, C., Moggio, M., Mongini, T., Servidei, S., Tonin, P., Toscano, A., Uziel, G., Zeviani, M., & Siciliano, G. (2012). Fatigue and exercise intolerance in mitochondrial diseases. Literature revision and experience of the Italian Network of mitochondrial diseases. *Neuromuscular Disorders*, *22* suppl. 3(3–3), 226–229. <https://doi.org/10.1016/j.nmd.2012.10.012>
- Martikainen, M. H., Päivärinta, M., Jääskeläinen, S., & Majamaa, K. (2012). Successful treatment of POLG-related mitochondrial epilepsy with antiepileptic drugs and low glycaemic index diet. *Epileptic Disorders*, *14*(4), 438–441. <https://doi.org/10.1684/epd.2012.0543>
- McKeown, S. R. (2014). Defining normoxia, physoxia and hypoxia in tumours - Implications for treatment response. *British Journal of Radiology*, *87*(1035), 1–12. <https://doi.org/10.1259/bjr.20130676>
- Mecocci, P., Beal, M. F., Cecchetti, R., Polidori, M. C., Cherubini, A., Chionne, F., Avellini, L., Romano, G., & Senin, U. (1997). Mitochondrial membrane fluidity and oxidative damage to mitochondrial DNA in aged and AD human brain. *Molecular and Chemical Neuropathology*, *31*(1), 53–64. <https://doi.org/10.1007/BF02815160>
- Miller, V. J., Villamena, F. A., & Volek, J. S. (2018). Nutritional ketosis and mitohormesis: Potential implications for mitochondrial function and human health. *Journal of Nutrition and Metabolism*, *2018*. <https://doi.org/10.1155/2018/5157645>

- Moster, M., Sadun, A., Klopstock, T., Newman, N., Vignal-Clermont, C., Carelli, V., Yu-Wai-Man, P., Biousse, V., Sergott, R., Katz, B., DeBusk, A., Blouin, L., Chevalier, C., Burguiere, P., Tiel, M., & Sahel, J.-A. (2020). rAAV2/2-ND4 for the Treatment of Leber Hereditary Optic Neuropathy (LHON): Final Results from the RESCUE and REVERSE Phase III Clinical Trials and Experimental Data in Nonhuman Primates to Support a Bilateral Effect (2339). *Neurology*, *94* suppl. 15, 2339. http://n.neurology.org/content/94/15_Supplement/2339.abstract
- Munnich, A., & Rustin, P. (2001). Clinical spectrum and diagnosis of mitochondrial disorders. *American Journal of Medical Genetics*, *106*(1), 4–17. <https://doi.org/10.1002/ajmg.1391>
- Murphy, J. L., Blakely, E. L., Schaefer, A. M., He, L., Wyrick, P., Haller, R. G., Taylor, R. W., Turnbull, D. M., & Taivassalo, T. (2008). Resistance training in patients with single, large-scale deletions of mitochondrial DNA. *Brain*, *131*(11), 2832–2840. <https://doi.org/10.1093/brain/awn252>
- Murphy, J. L., Ratnaïke, T. E., Shang, E., Falkous, G., Blakely, E. L., Alston, C. L., Taivassalo, T., Haller, R. G., Taylor, R. W., & Turnbull, D. M. (2012). Cytochrome c oxidase-intermediate fibres: Importance in understanding the pathogenesis and treatment of mitochondrial myopathy. *Neuromuscular Disorders*, *22*(8), 690–698. <https://doi.org/10.1016/j.nmd.2012.04.003>
- Muzykewicz, D. A., Lyczkowski, D. A., Memon, N., Conant, K. D., Pfeifer, H. H., & Thiele, E. A. (2009). Efficacy, safety, and tolerability of the low glycemic index treatment in pediatric epilepsy. *Epilepsia*, *50*(5), 1118–1126. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2008.01959.x>
- Olmos, Y., Valle, I., Borniquel, S., Tierrez, A., Soria, E., Lamas, S., & Monsalve, M. (2009). Mutual dependence of Foxo3a and PGC-1 α in the induction of Oxidative stress genes. *Journal of Biological Chemistry*, *284*(21), 14476–14484. <https://doi.org/10.1074/jbc.M807397200>
- Pajuelo Reguera, D., Čunátová, K., Vrbacký, M., Pecinová, A., Houštěk, J., Mráček, T., & Pecina, P. (2020). Cytochrome c Oxidase Subunit 4 Isoform Exchange Results in Modulation of Oxygen Affinity. *Cells*, *9*(2), 443. <https://doi.org/10.3390/cells9020443>
- Parikh, S., Goldstein, A., Koenig, M. K., Scaglia, F., Enns, G. M., Saneto, R., Anselm, I., Cohen, B. H., Falk, M. J., Greene, C., Gropman, A. L., Haas, R., Hirano, M., Morgan, P., Sims, K., Tarnopolsky, M., Van Hove, J. L. K., Wolfe, L., & DiMauro, S. (2015). Diagnosis and management of mitochondrial disease: A consensus statement from the Mitochondrial Medicine Society. *Genetics in Medicine*, *17*(9), 689–701. <https://doi.org/10.1038/gim.2014.177>
- Parise, G., Brose, A. N., & Tarnopolsky, M. A. (2005). Resistance exercise training decreases oxidative damage to DNA and increases cytochrome oxidase activity in older adults. *Experimental Gerontology*, *40*(3), 173–180. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2004.09.002>
- Porcelli, S., Marzorati, M., Morandi, L., & Grassi, B. (2016). Home-based aerobic exercise training improves skeletal muscle oxidative metabolism in patients with metabolic myopathies. *Journal of Applied Physiology*, *121*(3), 699–708. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00885.2015>
- Puchalska, P., & Crawford, P. A. (2017). Multi-dimensional Roles of Ketone Bodies in Fuel

- Metabolism, Signaling, and Therapeutics. *Cell Metabolism*, 25(2), 262–284.
<https://doi.org/10.1016/j.cmet.2016.12.022>
- Purhonen, J., Rajendran, J., Mörgelin, M., Uusi-Rauva, K., Katayama, S., Krjutskov, K., Einarsdottir, E., Velagapudi, V., Kere, J., Jauhiainen, M., Fellman, V., & Kallijärvi, J. (2017). Ketogenic diet attenuates hepatopathy in mouse model of respiratory chain complex III deficiency caused by a Bcs1l mutation. *Scientific Reports*, 7(1), 1–16.
<https://doi.org/10.1038/s41598-017-01109-4>
- Quan, Y., Xin, Y., Tian, G., Zhou, J., & Liu, X. (2020). Mitochondrial ROS-Modulated mtDNA: A Potential Target for Cardiac Aging. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2020. <https://doi.org/10.1155/2020/9423593>
- Rabinowitz, M. H. (2013). Inhibition of hypoxia-inducible factor prolyl hydroxylase domain oxygen sensors: Tricking the body into mounting orchestrated survival and repair responses. *Journal of Medicinal Chemistry*, 56(23), 9369–9402.
<https://doi.org/10.1021/jm400386j>
- Rango, M., & Bresolin, N. (2018). Brain mitochondria, aging, and Parkinson's disease. *Genes*, 9(5). <https://doi.org/10.3390/genes9050250>
- Ristow, M., & Zarse, K. (2010). How increased oxidative stress promotes longevity and metabolic health: The concept of mitochondrial hormesis (mitohormesis). *Experimental Gerontology*, 45(6), 410–418. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2010.03.014>
- Roef, M. J., De Meer, K., Reijngoud, D. J., Straver, H. W. H. C., De Barse, M., Kalhan, S. C., Berger, R., & Schwartz, R. (2002). Triacylglycerol infusion improves exercise endurance in patients with mitochondrial myopathy due to complex I deficiency. *American Journal of Clinical Nutrition*. <https://doi.org/10.1093/ajcn/75.2.237>
- Safdar, A., Bourgeois, J. M., Ogborn, D. I., Little, J. P., Hettinga, B. P., Akhtar, M., Thompson, J. E., Melov, S., Mocellin, N. J., Kujoth, G. C., Prolla, T. A., & Tarnopolsky, M. A. (2011). Endurance exercise rescues progeroid aging and induces systemic mitochondrial rejuvenation in mtDNA mutator mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108(10), 4135–4140.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1019581108>
- Safdar, A., Khrapko, K., Flynn, J. M., Saleem, A., De Lisio, M., Johnston, A. P. W., Kratysberg, Y., Samjoo, I. A., Kitaoka, Y., Ogborn, D. I., Little, J. P., Raha, S., Parise, G., Akhtar, M., Hettinga, B. P., Rowe, G. C., Arany, Z., Prolla, T. A., & Tarnopolsky, M. A. (2016). Exercise-induced mitochondrial p53 repairs mtDNA mutations in mutator mice. *Skeletal Muscle*, 6(1). <https://doi.org/10.1186/s13395-016-0075-9>
- Safdar, A., Little, J. P., Stokl, A. J., Hettinga, B. P., Akhtar, M., & Tarnopolsky, M. A. (2011). Exercise increases mitochondrial PGC-1 α content and promotes nuclear-mitochondrial cross-talk to coordinate mitochondrial biogenesis. *Journal of Biological Chemistry*, 286(12), 10605–10617. <https://doi.org/10.1074/jbc.M110.211466>
- Saldana-Caboverde, A., Nissanka, N., Garcia, S., & Lomb, A. (2020). Hypoxia Promotes Mitochondrial Complex I Abundance via HIF-1 α in Complex III and Complex IV Deficient Cells. *Cells*, 9(10). <https://doi.org/10.3390/cells9102197>
- Saleem, A., Adhietty, P. J., & Hood, D. A. (2009). Role of p53 in mitochondrial biogenesis and apoptosis in skeletal muscle. *Physiological Genomics*, 37(1), 58–66.
<https://doi.org/10.1152/physiolgenomics.90346.2008>

- Santra, S., Gilkerson, R. W., Davidson, M., & Schon, E. A. (2004). Ketogenic treatment reduces deleted mitochondrial DNAs in cultured human cells. *Annals of Neurology*, *56*(5), 662–669. <https://doi.org/10.1002/ana.20240>
- Satoh, M., & Kuroiwa, T. (1991). Organization of multiple nucleoids and DNA molecules in mitochondria of a human cell. *Experimental Cell Research*, *196*(1), 137–140. [https://doi.org/10.1016/0014-4827\(91\)90467-9](https://doi.org/10.1016/0014-4827(91)90467-9)
- Schaefer, A., Lim, A., & Gorman, G. (2019). Epidemiology of Mitochondrial Disease. V *Diagnosis and Management of Mitochondrial Disorders*. Cham: Springer International Publishing, 63-79. https://doi.org/10.1007/978-3-030-05517-2_4
- Schleifer, G., Marutani, E., Ferrari, M., Sharma, R., Skinner, O., Goldberger, O., Grange, R. M. H., Peneyra, K., Malhotra, R., Wepler, M., Ichinose, F., Bloch, D. B., Mootha, V. K., & Zapol, W. M. (2019). Impaired hypoxic pulmonary vasoconstriction in a mouse model of leigh syndrome. *American Journal of Physiology - Lung Cellular and Molecular Physiology*, *316*(2), 391–399. <https://doi.org/10.1152/ajplung.00419.2018>
- Schon, K. R., Ratnaik, T., van den Aamele, J., Horvath, R., & Chinnery, P. F. (2020). Mitochondrial Diseases: A Diagnostic Revolution. *Trends in Genetics*, *36*(9), 702–717. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2020.06.009>
- Schultz, E., & McCormick, K. M. (1994). Skeletal muscle satellite cells. *Reviews of physiology, biochemistry and pharmacology*, *123*, 213–257. <https://doi.org/10.1007/bfb0030904>
- Seo, J. H., Lee, Y. M., Lee, J. S., Kang, H. C., & Kim, H. D. (2007). Efficacy and tolerability of the ketogenic diet according to lipid:nonlipid ratios - Comparison of 3:1 with 4:1 diet. *Epilepsia*, *48*(4), 801–805. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2007.01025.x>
- Seo, J. H., Lee, Y. M., Lee, J. S., Kim, S. H., & Kim, H. D. (2010). A case of Ohtahara syndrome with mitochondrial respiratory chain complex I deficiency. *Brain and Development*, *32*(3), 253–257. <https://doi.org/10.1016/j.braindev.2008.12.020>
- Short, K. R., Bigelow, M. L., Kahl, J., Singh, R., Coenen-Schimke, J., Raghavakaimal, S., & Nair, K. S. (2005). Decline in skeletal muscle mitochondrial function with aging in humans. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *102*(15), 5618–5623. <https://doi.org/10.1073/pnas.0501559102>
- Skulachev, V. P. (1996). Role of uncoupled and non-coupled oxidations in maintenance of safely low levels of oxygen and its one-electron reductants. *Quarterly Reviews of Biophysics*, *29*(2), 169–202. <https://doi.org/10.1017/s0033583500005795>
- Sofou, K., Dahlin, M., Hallböök, T., Lindefeldt, M., Viggedal, G., & Darin, N. (2017). Ketogenic diet in pyruvate dehydrogenase complex deficiency: short- and long-term outcomes. *Journal of Inherited Metabolic Disease*, *40*(2), 237–245. <https://doi.org/10.1007/s10545-016-0011-5>
- Srivastava, S., Diaz, F., Iommarini, L., Aure, K., Lombes, A., & Moraes, C. T. (2009). PGC-1 α/β induced expression partially compensates for respiratory chain defects in cells from patients with mitochondrial disorders. *Human Molecular Genetics*, *18*(10), 1805–1812. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddp093>
- Srivastava, S., Kashiwaya, Y., King, M. T., Baxa, U., Tam, J., Niu, G., Chen, X., Clarke, K., & Veech, R. L. (2012). Mitochondrial biogenesis and increased uncoupling protein 1 in

- brown adipose tissue of mice fed a ketone ester diet. *The FASEB Journal*, 26(6), 2351–2362. <https://doi.org/10.1096/fj.11-200410>
- Stenton, S. L., Sheremet, N. L., Catarino, C. B., Andreeva, N., Assouline, Z., Barboni, P., Barel, O., Berutti, R., Bychkov, I. O., Caporali, L., Capristo, M., Carbonelli, M., Cascavilla, M. L., Charbel Issa, P., Freisinger, P., Gerber, S., Ghezzi, D., Graf, E., Heidler, J., Hempel, M., Heon, E., Itkis, Y. S., Javasky, E., Kaplan, J., Kopajtich, R., Kornblum, C., Kovacs-Nagy, R., Krylova, T., Kunz, W. S., La Morgia, C., Lamperti, C., Ludwig, C., Malacarne, P. F., Maresca, A., Mayr, J. A., Meisterknecht, J., Nevinitsyna, T., Palombo, F., Pode-Shakked, B., Shmelkova, M. S., Strom, T. M., Tagliavini, F., Tzadok, M., van der Ven, A. T., Vignal-Clermont, C., Wagner, M., Zakharova, E., Zhorzholadze, N., Rozet, J. M., Carelli, V., Tsygankova, P., Klopstock, T., Wittig, I., Prokisch, H. (2021). Impaired complex I repair causes recessive Leber’s hereditary optic neuropathy. *Journal of Clinical Investigation*, 131(6). <https://doi.org/10.1172/jci138267>
- Sullivan, P. G., Rippey, N. A., Dorenbos, K., Concepcion, R. C., Agarwal, A. K., & Rho, J. M. (2004). The Ketogenic Diet Increases Mitochondrial Uncoupling Protein Levels and Activity. *Annals of Neurology*, 55(4), 576–580. <https://doi.org/10.1002/ana.20062>
- Sundaresan, N. R., Gupta, M., Kim, G., Rajamohan, S. B., Isbatan, A., & Gupta, M. P. (2009). Sirt3 blocks the cardiac hypertrophic response by augmenting Foxo3a-dependent antioxidant defense mechanisms in mice. *Journal of Clinical Investigation*, 119(9), 2758–2771. <https://doi.org/10.1172/JCI39162>
- Taivassalo, T., De Stefano, N., Argov, Z., Matthews, P. M., Chen, J., Genge, A., Karpati, G., & Arnold, D. L. (1998). Effects of aerobic training in patients with mitochondrial myopathies. *Neurology*, 50(4), 1055–1060. <https://doi.org/10.1212/WNL.50.4.1055>
- Taivassalo, T., Fu, K., Johns, T., Arnold, D., Karpati, G., & Shoubridge, E. A. (1999). Gene shifting: A novel therapy for mitochondrial myopathy. *Human Molecular Genetics*, 8(6), 1047–1052. <https://doi.org/10.1093/hmg/8.6.1047>
- Taivassalo, T., Gardner, J. L., Taylor, R. W., Schaefer, A. M., Newman, J., Barron, M. J., Haller, R. G., & Turnbull, D. M. (2006). Endurance training and detraining in mitochondrial myopathies due to single large-scale mtDNA deletions. *Brain*, 129(12), 3391–3401. <https://doi.org/10.1093/brain/awl282>
- Taivassalo, T., Jensen, T. D., Kennaway, N., DiMauro, S., Vissing, J., & Haller, R. G. (2003). The spectrum of exercise tolerance in mitochondrial myopathies: A study of 40 patients. *Brain*, 126(2), 413–423. <https://doi.org/10.1093/brain/awg028>
- Taivassalo, T., Matthews, P. M., De Stefano, N., Sripathi, N., Genge, A., Karpati, G., & Arnold, D. L. (1996). Combined aerobic training and dichloroacetate improve exercise capacity and indices of aerobic metabolism in muscle cytochrome oxidase deficiency. *Neurology*, 47(2), 529–534. <https://doi.org/10.1212/WNL.47.2.529>
- Taivassalo, T., Shoubridge, E. A., Chen, J., Kennaway, N. G., Dimauro, S., Arnold, D. L., & Haller, R. G. (2001). Aerobic conditioning in patients with mitochondrial myopathies: Physiological, biochemical, and genetic effects. *Annals of Neurology*, 50(2), 133–141. <https://doi.org/10.1002/ana.1050>
- Tinker, R. J., Lim, A. Z., Stefanetti, R. J., & McFarland, R. (2021). Current and Emerging Clinical Treatment in Mitochondrial Disease. *Molecular Diagnosis and Therapy*, 25(2), 181–206. <https://doi.org/10.1007/s40291-020-00510-6>

- Trifunovic, A., Wredenberg, A., Falkenberg, M., Spelbrink, J. N., Rovio, A. T., Bruder, C. E., Bohlooly-Y, M., Gidlöf, S., Oldfors, A., Wibom, R., Törnell, J., Jacobs, H. T., & Larsson, N. G. (2004). Premature ageing in mice expressing defective mitochondrial DNA polymerase. *Nature*, *429*(6990), 417–423. <https://doi.org/10.1038/nature02517>
- Tseng, A. H. H., Shieh, S. S., & Wang, D. L. (2013). SIRT3 deacetylates FOXO3 to protect mitochondria against oxidative damage. *Free Radical Biology and Medicine*, *63*, 222–234. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2013.05.002>
- Turner, N., Bruce, C. R., Beale, S. M., Hoehn, K. L., So, T., Rolph, M. S., & Cooney, G. J. (2007). Excess lipid availability increases mitochondrial fatty acid oxidative capacity in muscle: Evidence against a role for reduced fatty acid oxidation in lipid-induced insulin resistance in rodents. *Diabetes*, *56*(8), 2085–2092. <https://doi.org/10.2337/db07-0093>
- Tyynismaa, H., Mjosund, K. P., Wanrooij, S., Lappalainen, I., Ylikallio, E., Jalanko, A., Spelbrink, J. N., Paetau, A., & Suomalainen, A. (2005). Mutant mitochondrial helicase Twinkle causes multiple mtDNA deletions and a late-onset mitochondrial disease in mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *102*(49), 17687–17692. <https://doi.org/10.1073/pnas.0505551102>
- Wang, Z., & Wu, M. (2015). An integrated phylogenomic approach toward pinpointing the origin of mitochondria. *Scientific Reports*, *5*. <https://doi.org/10.1038/srep07949>
- Weber, D. D., Aminzadeh-Gohari, S., Tulipan, J., Catalano, L., Feichtinger, R. G., & Kofler, B. (2020). Ketogenic diet in the treatment of cancer – Where do we stand? *Molecular Metabolism*, *33*, 102–121. <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2019.06.026>
- Weber, K., Wilson, J. N., Taylor, L., Brierley, E., Johnson, M. A., Turnbull, D. M., & Bindoff, L. A. (1997). A new mtDNA mutation showing accumulation with time and restriction to skeletal muscle. *American Journal of Human Genetics*.
- Weissig, V. (2020). Drug Development for the Therapy of Mitochondrial Diseases. *Trends in Molecular Medicine*, *26*(1), 40–57. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2019.09.002>
- Wenz, T., Diaz, F., Hernandez, D., & Moraes, C. T. (2009). Endurance exercise is protective for mice with mitochondrial myopathy. *Journal of Applied Physiology*, *106*(5), 1712–1719. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.91571.2008>
- Wenz, T., Diaz, F., Spiegelman, B. M., & Moraes, C. T. (2008). Activation of the PPAR/PGC-1 α Pathway Prevents a Bioenergetic Deficit and Effectively Improves a Mitochondrial Myopathy Phenotype. *Cell Metabolism*, *8*(3), 249–256. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2008.07.006>
- Wheless, J. W. (2008). History of the ketogenic diet. *Epilepsia*, *49* suppl. 8, 3–5. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2008.01821.x>
- Zhang, S., Guo, J., Xie, S., Chen, J., Yu, S., & Yu, Y. (2020). Efficacy and safety of hypoxia-inducible factor prolyl hydroxylase inhibitor (HIF-PHI) on anemia in non-dialysis-dependent chronic kidney disease (NDD-CKD): a systematic review and meta-analysis. *International Urology and Nephrology*. <https://doi.org/10.1007/s11255-020-02671-z>