

Univerzita Karlova v Praze

Pedagogická fakulta

Katedra biologie a environmentálních studií

**Dědičná mitochondriální onemocnění způsobená
poruchou oxidativní fosforylace**

Bakalářská práce

Autor: Eva Hanušová

Vedoucí práce: Mgr. Edvard Ehler, Ph.D.

Praha 2013

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracovala samostatně pod vedením
Mgr. Edvarda Ehlera, Ph.D. s vyznačením všech použitých pramenů a spoluautorství.
Souhlasím se zveřejněním bakalářské práce podle zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách,
ve znění pozdějších předpisů.
Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona
č. 121/2000 Sb., autorský zákon, ve znění pozdějších předpisů.
Práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.
Souhlasím s uložením své bakalářské práce v databázi Theses.

V Praze dne

.....
podpis

Poděkování

Ráda bych na tomto místě poděkovala vedoucímu mé bakalářské práce Mgr. Edvardu Ehlerovi, Ph.D. za jeho rady a čas, který mi při zpracování této práce věnoval.

Také bych chtěla poděkovat mé rodině za čas a podporu, kterou mi při psaní této práce poskytli.

Abstrakt

Dědičná mitochondriální onemocnění způsobená poruchou oxidativní fosforylace

Tato bakalářská práce se zabývá problematikou dědičných mitochondriálních onemocnění, která jsou způsobena poruchami funkce enzymů účastnících se procesu oxidativní fosforylace, jinak známé i jako OXPHOS komplex.

Následující rešerše čtenáře seznámí s informacemi týkajícími se genomu a struktury mitochondrií, v nichž se OXPHOS komplex uskutečňuje, a také se složením a průběhem tohoto komplexu. Uvádím zde i základní fakta o možných mutacích jaderné a mitochondriální DNA, které negativně ovlivňují funkčnost OXPHOS komplexu nebo i samotnou biogenezi mitochondrií.

Práce má za cíl shrnout aktuální data o jednotlivých onemocněních – o jejich klinických projevech, etiopatogenezi, možné léčbě a prevenci a výskytu v populaci.

Klíčová slova: dědičnost, mtDNA, mitochondriální onemocnění, OXPHOS komplex

Abstract

Hereditary Mitochondrial Disorders Caused by Oxidative Phosphorylation Dysfunction

This bachelor thesis deals with problems of hereditary mitochondrial disorders that are caused by various dysfunctions of proteins in oxidative phosphorylation known as OXPHOS complex.

Following research provides the reader with information about the genome and the structure of mitochondria where the OXPHOS is realized and about its structure and progress. I describe basic facts about various mutations in nuclear and mitochondrial DNA that negatively affect function of OXPHOS complex and the biogenesis of mitochondria.

The focus of this work is to summarize the newest data of individual diseases – their clinical manifestation, etiopathogenesis, prevalence in population and its possible treatment and prevention.

Key words: hereditary, mtDNA, mitochondrial diseases, OXPHOS complex

Obsah

1	Úvod	8
2	Mitochondrie	9
2.1	Evoluční původ	9
2.2	Struktura mitochondrií	9
2.3	Genom mitochondrií	10
2.3.1	Struktura genomu	10
2.3.2	Homoplazmie a heteroplazmie	12
2.4	Funkce mitochondrií	13
2.4.1	Komplex oxidativní fosforylace	14
3	Mutace mitochondriální a jaderné DNA	16
3.1	Mutace jaderné DNA	16
3.2	Mutace mitochondriální DNA	17
4	Mitochondriální onemocnění	20
4.1	Obecná charakteristika	20
4.2	Klinické aspekty	21
4.3	Diagnostika	22
4.4	Dědičnost	23
4.4.1	Mitochondriální dědičnost	23
4.5	Prevence a léčba	26
4.6	Nemoci způsobené poruchou OXPHOS komplexu	27
4.6.1	Leberova hereditární optická neuropatie	27
4.6.2	NARP syndrom	30
4.6.3	Progresivní externí oftalmoplegie	32
4.6.4	Kearnsův-Sayreho syndrom	35
4.6.5	MERRF syndrom	39
4.6.6	Leighův syndrom	40
4.6.7	MELAS syndrom	43

4.6.8	MNGIE syndrom	45
5	Diskuze	47
6	Závěr	49
7	Seznam použité literatury	50

1 Úvod

Bakalářská práce se zabývá problematikou dědičných mitochondriálních onemocnění lidského organismu. Konkrétně skupinou chorob způsobených poruchou komplexu oxidativní fosforylace. Dysfunkce tohoto komplexu má rozsáhlé následky na lidský organismus. Jedná se především o závažné poruchy funkce některých orgánů, tkání a nervového systému, které bývají mnohdy i neslučitelné se životem.

I přes závažnost těchto chorob je povědomí laické veřejnosti o nich velice nízké a informačních zdrojů není dostatek. Přitom je to právě včasné rozpoznání symptomů, které hraje klíčovou roli v kvalitě budoucího života postiženého člověka a jeho rodiny.

Cílem mé bakalářské práce je podat souhrnné a ucelené informace o jednotlivých mitochondriálních onemocněních, o jejich genetických příčinách, klinických projevech, možné prevenci a dostupné léčbě a o jejich výskytu v lidské populaci.

K pochopení a popsání dané problematiky je důležité se zmínit i o buněčných organelách, které jsou jádrem problému a jejich genetické výbavě jakožto primárním faktoru vzniku nemoci.

2 Mitochondrie

Kromě jádra jsou mitochondrie jediné organely v lidských buňkách, které mají svůj vlastní genom. Ten se ale od toho jaderného značně liší. Proč tomu tak je a co z toho plyne, vysvětlují v následujících kapitolách.

2.1 Evoluční původ

Dnes se odhaduje, že první mitochondrie vznikly přibližně před 2 miliardami let. V době, která je přímo spjatá s nárůstem koncentrace kyslíku v tehdejší atmosféře Země. Byly tak příhodné okolnosti pro vývoj organismů schopných zpracovat a využít kyslík (aerobní organismy), a tím se lépe přizpůsobit vnějším podmínkám, které tehdy na Zemi panovaly. Naopak anaerobní bakterie, na které zvýšená hladina kyslíku v atmosféře působila toxicky, se tomuto jevu dokázaly přizpůsobit jinou cestou – absorbovaly do sebe ty organismy, které kyslík již využívaly. Došlo tak ke vzniku zcela nového organismu, označovaného jako *α-proteobakterie*.

Průběh tohoto procesu se nyní vysvětluje tzv. **endosymbiotickou teorií**¹. Podle této teorie se mitochondrie vyvinuly z tehdejších aerobních bakterií – vnitrobuněčných parazitů. Ty byly pohlceny primitivními anaerobními eukaryotními buňkami, které tak získaly schopnost využívat kyslík. Z původně zcela autonomní aerobní bakterie se tak postupně stávala buněčná organela, která při procesu integrace do složitějšího organismu sice přišla o část své autonomie, ale získala zase ochranu uvnitř většího celku.

Když už byly tyto eukaryotní buňky schopné aerobního způsobu života, nic nebránilo jejich dalšímu vývoji, který byl díky možnosti syntézy většího množství energie jak z atmosféry, tak z potravy, velmi rychlý (Strachan and Read, 2011).

2.2 Struktura mitochondrií

Všeobecně se mitochondrie popisují jako oválné, sférické organely, které jsou od okolní cytoplazmy buňky oddělené dvěma membránami. Vnější membrána je hladká a nese na svém povrchu receptory pro přenos látek dovnitř a vně mitochondrie. Vnitřní mitochondriální membrána je zřasená do krist a vymezuje prostor uvnitř mitochondrií, který je vyplněný koloidním roztokem – matrix. Čím větší je toto zřasení, tím více energie je mitochondrie schopná vyprodukovat. A stejně jako vnější membrána, tak i vnitřní, obsahuje velké množství transportních proteinů, které jsou nezbytné

¹ Endosymbiotická teorie – hypotézu jako první formuloval ruský lichenolog K. Mereschkowski v roce 1910 při zkoumání původu chloroplastů. Až roku 1981 byla popularizována L. Margulisovou, která ji aplikovala i na mitochondrie.

pro přenos nukleotidů, iontů nebo metabolitů mitochondrie. Vnitřní membrána také obsahuje enzymy nezbytné pro syntézu molekul ATP².

Podle struktur těchto dvou mitochondriálních membrán se dá usuzovat, že vnější membrána vznikla z cytoplazmatické membrány prapůvodní hostitelské buňky, kdežto vnitřní mitochondriální membrána je původní membránou prabakterie, která do hostitelské buňky byla během evoluce začleněna (Emelyanov 2003).

Mitochondrie byly poprvé objeveny v 19. století. Zjistilo se tak, že jsou nedílnou součástí všech buněk obsažených v lidském těle (kromě zralých erytrocytů). V každé buňce se vyskytuje rozdílný počet mitochondrií v závislosti na tkáni, ve které se daná buňka nachází a na spotřebě energie, kterou tato tkáň vyžaduje. V některých buňkách proto může být jen několik stovek mitochondrií, kdežto v jiných buňkách jich je až několik tisíc. Také ne všechny mitochondrie mají shodnou velikost. Například v jaterních buňkách je jejich velikost přibližně 3 μm, kdežto v pankreatických buňkách dosahují velikosti až 10 μm.

Mitochondrie mají také své vlastní proteosyntetické, replikační a transkripční aparáty, které jsou spolu s jejich genomem umístěny v mitochondriální matrix.

2.3 Genom mitochondrií

2.3.1 Struktura genomu

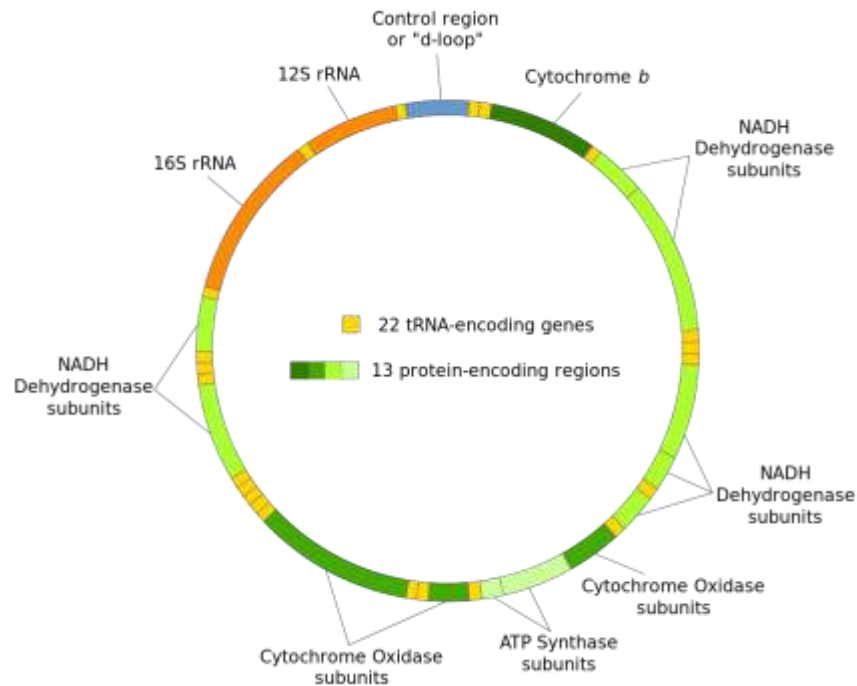
Mitochondriální DNA (mtDNA) byla objevena v roce 1963 a poprvé byla popsána Claytonem a Vinogradem roku 1967 (El. zdroj 1). Avšak kompletní sekvence lidského mitochondriálního genomu byla odhalena až v roce 1981 (Anderson et al. 1981). Ve stejném roce byla ustanovena i její referenční sekvence – Cambridge reference sequence (CRS). Avšak obsahovala jisté chyby. V roce 1999 byla revidována a upravena (Andrews et al. 1999). Při analýze mtDNA je výsledkem testu přehled rozdílů v sekvenci nukleotidů zkoumané mtDNA a revidované CRS mtDNA.

Jedna mitochondrie obsahuje více molekul mtDNA – 2 až 10 kopií. Mitochondriální DNA je cyklická molekula o velikosti 16 568 bp (nukleotidových párů). Je volně uložena v matrix blízko vnitřní mitochondriální membrány a neobsahuje žádné histony. Nese geny pro kódování pouze několika důležitých bílkovin. Nebylo tomu ale vždy tak – před začleněním do hostitelské buňky obsahovali předchůdci mitochondrií genetickou informaci pro tvorbu až několika tisíc bílkovin. Při procesu integrace do hostitelské buňky se vzdali části své autonomie a přesunuli část svých genů do nukleární DNA (nDNA). Proto dnes genom mitochondrií uchovává mnohem menší množství

² Molekula ATP – adenosintrifosfát.

informací – mtDNA se sestává pouze z 37 genů, které kódují 13 proteinů. Ty jsou využitelné pouze v mitochondriích – v komplexu oxidativní fosforylace.

Z těchto 37 genů (Obr. 1) jich 24 obsahuje informace pro kódování RNA molekul – 2 geny pro rRNA (12S a 16S) a 22 genů pro tRNA. Zbylých 13 genů kóduje polypeptidy nezbytné pro oxidativní fosforylaci (OXPHOS komplex³). Jedná se o podjednotky respiračního řetězce a ATPázového komplexu. Nicméně převážná většina těchto podjednotek je kódována jadernými geny.



Obrázek 1 – Struktura lidského mitochondriálního genomu (dle El. zdroje 6)

Tento relativně malý obsah genetické informace v mitochondriích je ale kompenzován její důležitostí. Mutace kteréhokoliv z genů totiž negativně ovlivňují jejich funkčnost, což se projevuje i na funkčnosti celé buňky.

Mitochondriální DNA je kondenzovaná, systematicky uspořádaná molekula bez viditelného počátku či konce – je stočená do kruhu. Skládá se ze dvou řetězců: H-řetězce⁴ a L-řetězce⁵. Většina genů je uložena na těžkém vlákne. Jedná se o informace pro 2 rRNA, pro 14 molekul tRNA a také pro 12 polypeptidů. Na lehkém vlákne jsou umístěny informace pro zbylých 8 molekul tRNA

³ OXPHOS komplex (angl. oxidative phosphorylation system).

⁴ H-řetězec – z anglického slova *heavy* Jinak také označovaného jako těžké vlákno.

⁵ L-řetězec – z anglického slova *light*. Neboli lehké vlákno.

a 1 polypeptid. H-řetězec je složen převážně z purinových bází⁶, kdežto lehké vlákno obsahuje více pyrimidinových bází⁷. Oba řetězce mají svá počáteční místa replikace – *ori H* a *ori L* (Snustad and Simmons, 2009).

Pro doplnění uvádím hlavní rozdíly mezi jadernou a mitochondriální DNA (Tab. 1).

Tabulka 1 - Srovnání lidského jaderného a mitochondriálního genomu
(dle Taylor, Turnbull 2005, upraveno)

Znaky	Jaderný genom	Mitochondriální genom
Velikost	~3,3 x 10 ⁹ bp	16, 569 bp
Počet molekul DNA v jedné buňce	23 v haploidní buňce; 46 v diploidní buňce	Několik tisíc kopií
Počet kódovaných genů	~20 000 – 30 000	37
Velikost jednoho genu	~40 000 bp	450 bp
Introny	Výskyt ve většině genů	Chybí
Procentuální zastoupení kódované DNA	~3 %	93 %
Kodony	Univerzální kódování	AUA kóduje methionin; TGA kóduje tryptofan; AGA a AGG - stop kodony
Typy dědičnosti	Mendelistická (autozomy, X chromozom); patrilinéární (Y chromozom)	Výhradně matrilinéární

2.3.2 Homoplazmie a heteroplazmie

Mitochondriální genom je ve své podstatě polyploidní – obsahuje více než dvě molekuly mtDNA. Z tohoto důvodu se v každé jedné buňce vyskytuje na tisíce kopií mtDNA a ne vždy musí mít tyto molekuly shodné struktury. Mohou obsahovat mutovanou, ale i nemutovanou genetickou informaci. Jedná se tedy buď o homoplazmii nebo heteroplazmii.

Co se týče heteroplazmie vedou k ní dvě možnosti – spontánní vznik mutace nebo její zdědění. Tak například vznikne-li mutace spontánně v lidském těle, vzniká jen v jedné molekule mtDNA. Teprve až při replikaci této molekuly, a následném dělení mitochondrie, se dostává mutace i do dalších dceřiných mitochondrií. A při dělení buňky i do dalších dceřiných buněk. Zároveň je však v mitochondriích přítomna i nemutovaná mtDNA (angl. wild-type mtDNA). V takovém případě dochází jen k částečnému výskytu mutace mtDNA v těle – nachází se „pouze“ v některých orgánech či tkáních nebo dokonce jen v některých jejich částech. Mluvíme tedy o **heteroplazmické mutaci**,

⁶ Purinové báze – adenin (A), guanin (G).

⁷ Pyrimidinové báze – cytosin (C), uracil (U).

kdy se vedle mutované mtDNA vyskytují v buňce i její nemutované kopie.

Termínem **homoplazmická mutace** se naopak označuje stav, kdy se v dané „populaci mitochondriálních chromozomů“ vyskytují jen mutované molekuly mtDNA.

U heteroplazmie se rozlišuje několik stupňů. Prvním stupněm je heteroplazmie intramitochondriální, která zohledňuje jen heteroplazmii v rámci jednotlivých mitochondrií. Dále pak intracelulární heteroplazmie, která bere v potaz heteroplazmii na úrovni buněk. A konečně i heteroplazmie intercelulární, která postihuje celou tkáň (El. zdroj 1).

Velice zjednodušeně se tedy dá říci, že pokud jsou všechny molekuly mtDNA v těle identické, jedná se o homoplazmii. Pokud se ale v mitochondriálním genomu člověka vyskytují mutované i nemutované molekuly mtDNA najednou, mluvíme o heteroplazmii.

2.4 Funkce mitochondrií

Mitochondrie bývají právem označovány jako tzv. energetické centrum buňky. To proto, že v nich probíhají děje vedoucí k syntéze energie v podobě ATP molekul pro celou buňku. Produkci těchto molekul zajišťují mitochondrie více než 90 % celkové energie spotřebované lidským organismem⁸. K těmto energetickým procesům patří sled metabolických reakcí, které na sebe bezprostředně navazují. Jedná se o citrátový cyklus a β -oxidaci mastných kyselin, které se uskutečňují v matrix mitochondrií. A dále pak komplex oxidativní fosforylace, který probíhá na vnitřní mitochondriální membráně. Všechny tyto reakce jsou tak základními mechanismy zajišťujícími plnění funkcí mitochondrií v lidském těle.

Syntéza ATP je ale spojena s uvolňováním kyslíkových radikálů, které vznikají jako vedlejší produkty reakcí v OXPHOS komplexu. Při jeho špatné funkci dochází k uvolňování většího množství těchto radikálů a stupňuje se tak riziko spontánního vzniku mutací v mtDNA. Mimoto dochází i k rychlejšímu stárnutí organismu nebo také k předčasné smrti buňky (Nussbaum et al. 2004).

Některé proteiny produkované mitochondriemi se také podílejí na spouštěcím mechanismu apoptózy⁹. Mutace mtDNA výrazně zvyšují šance, že apoptóza buněk bude spuštěna dříve, její postup bude oproti normálu rychlejší nebo postihne větší množství buněk než by měla.

⁸ Denní hodnoty spotřebované ATP se u člověka pohybují kolem 200 molů molekul ATP.

⁹ Apoptóza – děj označovaný i jako programovaná buněčná smrt. Slouží jako mechanismus, který eliminuje poškozené nebo nežádoucí buňky.

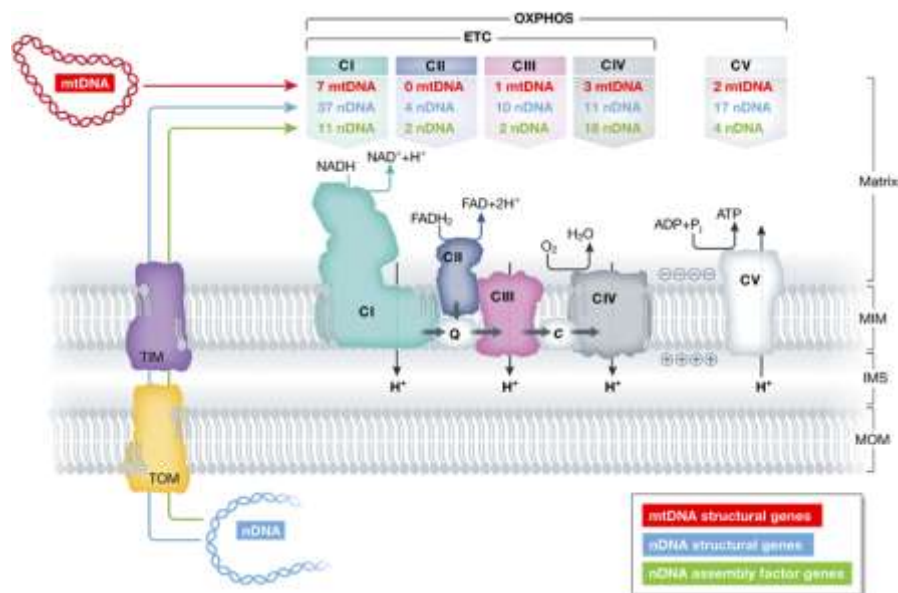
2.4.1 Komplex oxidativní fosforylace

Mitochondriální onemocnění způsobená poruchami tohoto komplexu jsou hlavním tématem mé práce. Proto zde uvádím jeho průběh a jednotlivé části, abych pak mohla lépe vysvětlit, proč poruchy jeho dílčích jednotek způsobují tak vážná onemocnění.

Oxidativní fosforylace je finálním procesem syntézy energie probíhající v mitochondriích. Zahrnuje dýchací řetězec (komplex I až IV) a ATP-syntázový komplex V, v němž dochází k samotné syntéze molekul ATP.

Dýchací řetězec

Dýchací řetězec (Obr. 2), známý též jako respirační nebo elektrontransportní řetězec, je zabudován ve vnitřní membráně mitochondrií a sestává se celkem z 67 různých podjednotek (Schapira 1989). Ty jsou rozmístěné podle jejich funkce, kterou plní v jednotlivých komplexech. Jen část jich je kódována mitochondriálními geny, zbytek je kódován jaderným genomem. Aby se i tyto jádrem kódované podjednotky dostaly na místo svého působení – na vnitřní mitochondriální membránu, musí nejprve projít přes vnější membránu. K tomu dochází buď přímo – pasivním transportem založeným na koncentračním spádu nebo pomocí speciálního receptorového aparátu označovaného jako TOM komplex¹⁰ (El. zdroj 2). Jakmile se dostanou dovnitř, připojí se k ostatním enzymům dýchacího řetězce.



Obrázek 2 – OXPHOS komplex na vnitřní mitochondriální membráně (dle El. zdroje 23)

¹⁰ TOM komplex (angl. transport outer membrane); aparát pro přenos vnitřní membránou je označován jako TIM komplex (angl. transport inner membrane).

K mitochondriálně syntetizovaným podjednotkám patří 7 podjednotek (ND1-ND6 a ND4L) NADH-dehydrogenázového komplexu (komplex I), 1 podjednotka (cytochrom b) cytochrom-reduktázového komplexu (komplex III), 3 podjednotky (COI-COIII) cytochrom c oxidázového komplexu (komplex IV) a 2 podjednotky (ATP8 a ATP6) ATP-syntázového komplexu (komplex V) (Larsson, Clayton 1995).

Průběh oxidativní fosforylace

První čtyři komplexy dýchacího řetězce využívají živiny z přijímané potravy, které ale nejprve prošly sledem reakcí probíhajících v matrix mitochondrií – citrátovým cyklem a β -oxidací mastných kyselin, kde byly tyto látky redukovány na molekuly dále využitelné a zpracovatelné v dýchacím řetězci. Do dýchacího řetězce tak vstupují molekuly NADH a FADH_2 , jejichž dehydrogenací se získají prekurzory k samotné syntéze molekul ATP v posledním V komplexu.

Komplex I vytváří protonový gradient mezi vnitřní mitochondriální membránou a mezimembránovým prostorem díky kterému je možný přenos dalších látek dýchacího řetězce. Jakékoliv změny ve struktuře proteinů účastnících se tohoto komplexu jsou pro buňku velmi nebezpečné. Propojení mezi komplexem I a komplexem III zajišťuje koenzym Q. Elektrony z komplexu III jsou dále přeneseny cytochromem c na komplex IV a zároveň všechny tyto komplexy I, III a IV zajišťují přenos protonů přes vnitřní membránu do mezimembránového prostoru. V komplexu V dochází k přechodu protonů zpět do matrix a zároveň k syntéze ATP z ADP^{11} .

¹¹ Molekula ADP – adenosindifosfát.

3 Mutace mitochondriální a jaderné DNA

Některá mitochondriální onemocnění jsou způsobena mutacemi pouze mitochondriální DNA. Ty mohou vznikat i jako sekundární projevy mutací jaderných genů. Proto v následujících kapitolách uvádím, proč tomu tak je, a jaké jsou nejčastější příčiny. Zároveň se zmiňuji i o mutacích, které nijak neovlivňují funkčnost mitochondrií, ačkoliv k nim dochází v jejich DNA.

Stejně jako každá jiná genetická informace i informace uložená v mitochondriích obsahuje nějaké chyby, či vykazuje jistý stupeň poškození. Nejpravděpodobnější příčinou vzniku těchto defektů jsou právě mutace – změny v pořadí purinových a pyrimidinových bází v genu. Ty mohou být způsobeny jejich pozměněním, vyjmutím nebo naopak vložením nové báze do původní sekvence. Všechny tyto reorganizace genomu pak vedou ke změně kódovaného produktu – proteinu.

Avšak ne všechny typy mutací jsou považovány za škodlivé nebo nebezpečné pro lidský organismus. Existují tzv. **neutrální mutace**, které nijak neovlivňují řádnou funkčnost mitochondrií. Mitochondrie dále plní svou úlohu, aniž by došlo k nějaké změně v produkci bílkovin nebo ve funkci, jíž tyto bílkoviny plní. Z hlediska evoluce je tento druh mutací přínosem. Bylo zjištěno, že bodové mutace, které se v populaci udrží, se v D-smyčce¹² objevují v průměru jednou za dvacet tisíc let. Na některých pozicích (tzv. hotspots) je však mutační rychlost až desetinásobná (Forster et al. 1996).

K těmto „neškodným“ mutacím můžeme zařadit i takové, které nijak nemění smysl překládané informace. Dojde sice k záměně bází, ale jelikož je genetický kód degenerovaný¹³, nemusí tato změna nijak ovlivnit výsledný protein. Například aminokyselina serin je kódována až 6 různými kodony (triplety).

Nicméně většina mutací mitochondriální i jaderné DNA je organismu nebezpečných.

3.1 Mutace jaderné DNA

Jaderné geny kódují většinu produktů nezbytných pro procesy probíhající v mitochondriích. Jedná se o většinu enzymů zapojených v komplexu I, III a IV dýchacího řetězce a o všechny enzymy komplexu II. Jaderným genomem je kódován i mitochondriální transkripční aktivátor (mtTFA), který je odpovědný za zahájení mitochondriální transkripce i replikace mtDNA. Jiné jaderné geny zase kódují specifickou endoribonukleázu (RNase MRP), která v mitochondriích také přímo ovlivňuje replikaci mtDNA nebo „nuclear respiratory factors genes“ (NRF1 a NRF2), které jsou rovněž důležité pro tento proces (El. zdroj 1). Je-li mtDNA nareplikována chybně, může některá její část chybět

¹² D-smyčka (angl. D-loop) – místo na molekule mtDNA, kde dochází k zahájení její replikace.

¹³ Degenerovaný genetický kód – jedna aminokyselina může být kódována více kodony.

(delece) nebo naopak, některá může přibýt (inzerce). Stav, kdy dojde k hrubému omezení počtu replikovaných molekul mtDNA, se nazývá deplece.

Deplece, které zredukuje stav molekul mtDNA až na 2 % původního množství, se krátce po narození projevují tzv. hypotonickým syndromem spolu s postupným selháváním jater. Jestliže se ale první příznaky manifestují až v pozdějším věku dítěte, dochází často k mitochondriálním encefalomyopatiím¹⁴, které jsou spojené s laktátovou acidózou¹⁵. Příčinou těchto poruch bývá špatná funkce cytochrom c oxidázy v respiračním řetězci (El. zdroj 2).

Dalšími jádrem kódovanými bílkovinami jsou transportní mitochondriální proteiny, které zajišťují přenos látek mezi cytoplasmou buňky a dvojitou membránou mitochondrií. Plní funkci důležitých receptorů, bez kterých by se potřebné látky nedostaly ani ven, ani dovnitř mitochondrií, a opět by tak byla silně narušena, ne-li znemožněna, jejich funkčnost.

Nedávno také byly popsány mutace jaderných genů pro mitochondriální proteiny paraplegin a fraxin. V konečném důsledku se mutace genů pro paraplegin projevuje spastickou paraplegií¹⁶. Co se týče mutace genu pro fraxin, způsobuje nerovnováhu obsahu železa v jednotlivých mitochondriích a dochází tak k poruchám v komplexech dýchacího řetězce. Klinickým projevem mutace genu pro fraxin je Friedreichova ataxie¹⁷ (El. zdroj 1).

3.2 Mutace mitochondriální DNA

Mutace mtDNA mohou tedy vzniknout jako důsledek mutací jaderné DNA nebo mohou být zděděny. Mohou ale také spontánně vzniknout. Riziko vzniku těchto mutací zvyšují kyslíkové radikály, které se uvolňují při oxidativních procesech na vnitřní membráně mitochondrií. Mitochondriální DNA bývá totiž uložena právě v blízkosti této membrány. Jelikož mitochondrie nemají tak dokonalé ochranné¹⁸ a reparační¹⁹ mechanismy je nebezpečí vzniku a manifestace mutací až desetkrát vyšší, než je tomu u jaderné DNA. V jádře jsou tyto opravné systémy mnohem dokonalejší a uplatňují se ve větší míře.

¹⁴ Mitochondriální encefalomyopatie – onemocnění mozku a svalů, které je způsobeno mutací mtDNA narušující průběh dýchacího řetězce.

¹⁵ Laktátová acidóza – stav způsobený nedostatečným přísunem a využitím kyslíku ve tkáni, zároveň je porušena rovnováha mezi tvorbou a následným využitím laktátu.

¹⁶ Spastická paraplegie – forma paraplegie, která se projevuje se ztuhlostí a křečovitostí postižených svalů.

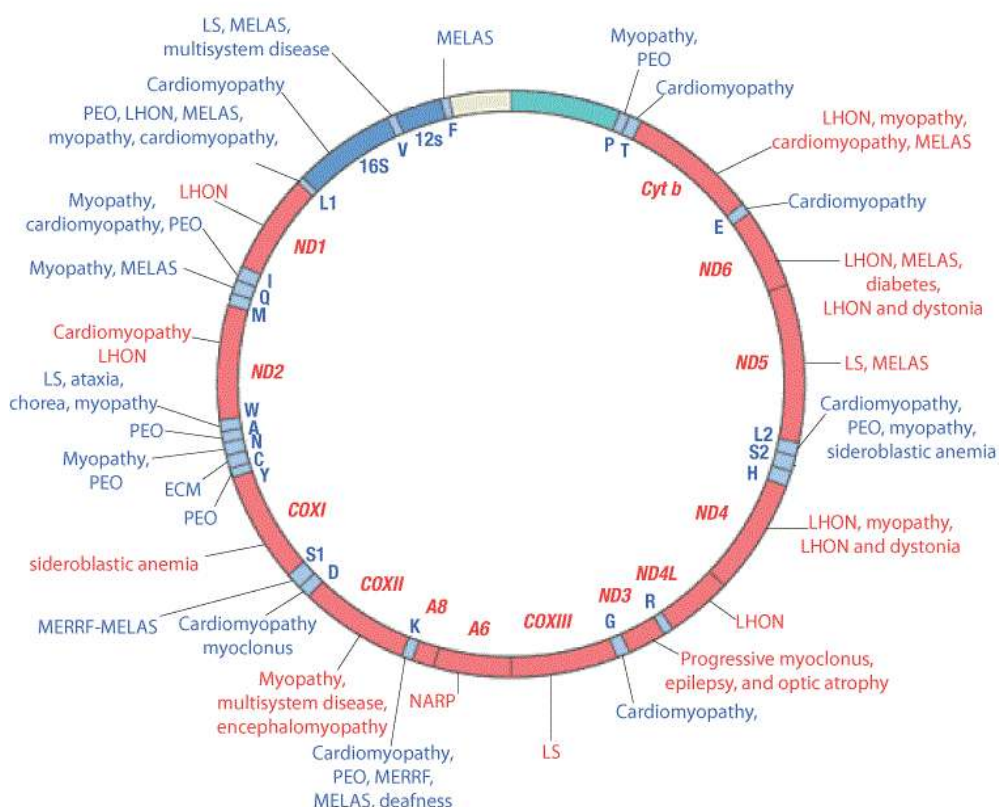
¹⁷ AR dědičné onemocnění míchy a mozečku, nekoordinované pohyby, snížená citlivost i rychlost reflexů.

¹⁸ mtDNA například není obalena histony, které by jí alespoň částečně chránily před škodlivými vlivy.

¹⁹ Mutované molekuly mtDNA mohou být komplementovány „zdravou“ mtDNA při mitochondriální translaci.

U zdravých lidí je složení a struktura mitochondriální DNA shodná, liší se pouze uspořádáním nukleotidů v D-smyčce a bodových polymorfismech v kódující části mtDNA. Proto jsou tyto mutace předmětem mnoha studií. Získané výsledky jsou využitelné například v soudním lékařství, nebo při zkoumání evoluce lidské populace (El. zdroj 1).

Mutace, které postihují mitochondriální genom, se mimo jiné dají rozdělit i podle toho, na jakých místech molekulu mtDNA postihují (Obr. 3).



Obrázek 3 – Mapa mitochondriálních onemocnění způsobených mutacemi kódujících a nekódujících úseků (dle El. zdroje 26, upraveno)

Jedná se o takové mutace mtDNA, které postihují nekódující úseky (tzv. regulační oblasti) (Obr. 3 – modře). Jsou to oblasti na mitochondriálním chromozomu, které přímo ovlivňují jeho replikaci a transkripci a dále také zpracování mitochondriálních transkriptů. Pokud tedy dojde k mutaci této části mitochondriálního chromozomu je vážně ohrožena samotná biogeneze mitochondrie. Nejčastějším typem mutace, která postihuje právě tuto oblast, je delece.

Je proto pravděpodobné, že sama mitochondrie se těmito invazivním změnám ve své genetickém kódu bude bránit. Vybere proto pouze ty kopie mtDNA, které neobsahují žádnou mutaci, a dá jim

při replikaci přednost. Tím dojde k převaze „zdravých“ kopií mtDNA v mitochondriálním genomu a mitochondrie je schopná alespoň částečně kompenzovat důsledky takovýchto mutací (Larsson, Clayton 1995).

K dalším mutacím pak můžeme zařadit všechny ostatní strukturální změny v genetickém kódu mitochondrií, ke kterým dochází v kódujících oblastech molekuly mtDNA (Obr. 3 – červeně). K těmto mutacím patří především rozsáhlé delece, mikrolece, substituce a duplikace. Dnes je známo a popsáno více než 200 těchto mutací. Jedná se o takové mutace mitochondriálních genů, jejichž následkem je dysfunkce komplexu oxidativní fosforylace nebo „jen“ ztráta funkce některého z enzymů dýchacího řetězce. Tato jejich specifická účinku je dána tím, že mitochondriální geny kódují pouze proteiny pro OXPHOS komplex (El. zdroj 1).

Avšak studie, prováděné na myších ukázaly, že takovéhle strukturální změny v mtDNA nemusejí vždy vyústit pouze v nefunkčnost respiračního řetězce. Mohou také způsobovat i jiné patogenetické změny (Loveland et al. 1990). Spekulovalo se i o tom, že záměna aminokyselin v enzymech dýchacího řetězce může vytvořit zcela nové antigeny na povrchu buňky. Ty jsou následně rozpoznány imunitním systémem a dojde tak ke spuštění odpovídající autoimunitní reakce organismu (Larsson, Clayton 1995).

4 Mitochondriální onemocnění

Tato kapitola se věnuje obecnému popisu všech mitochondriálních onemocnění, jejich všeobecným projevům a diagnostice. Důležitou částí je oddíl o dědičnosti mitochondriálních onemocnění, který je společný všem chorobám, jež jsou v této práci uvedeny, a proto se mu věnuji podrobněji. Nechybí ani informace o dosud známé prevenci. Možnou léčbu uvádím u jednotlivých onemocnění, která mají své vlastní kapitoly.

4.1 Obecná charakteristika

Mitochondriální onemocnění jsou kvůli své genetické, biochemické i klinické povaze velice různorodou skupinou onemocnění. Pro své závažné klinické projevy, postupující charakter nemoci spolu s více možnými typy dědičnosti a nepříznivou prognózou se jedná o velmi vážný zdravotnický problém. Navíc u některých syndromů není ještě zcela známa jejich hlavní příčina. Mezi mitochondriální onemocnění se řadí všechny nemoci, poruchy i syndromy, ve které vyúsťují, jež jsou způsobeny nedostatečnou syntézou energie buďto v OXPHOS komplexu, Krebsově cyklu nebo β -oxidaci mastných kyselin. Avšak tato práce je zaměřena jen na nemoci způsobené poruchou OXPHOS komplexu. Další informace se proto vztahují jen na ně. Tyto nemoci se souhrnně označují i jako mitochondriální encefalomyopatie, jelikož postihují jak nervovou soustavu, tak i svalovou tkáň.

Biogeneze mitochondrií je závislá na dvou rozdílných genomech – jaderném a mitochondriálním, a je řízena jejich vzájemným propojením. Stejně tak je tímto faktorem ovlivňován i výsledný fenotypový projev nemoci, který se zatím ještě nedá přesně určit, a který je mimo jiné závislý i na hladině heteroplazmie – poměru mezi mutovanými a nemutovanými kopiemi mtDNA v postižené tkáni nebo orgánu. Pokud množství mutovaných molekul překročí jistou hranici, práh (angl. threshold), dojde k manifestaci onemocnění, jež daná mutace způsobuje. Prahová hranice bývá dosti vysoká, poměr mezi mutovanými a nemutovanými molekulami mtDNA se pohybuje mezi 70 a 90 %. Avšak hladina heteroplazmie není po celý život konstantní. Replikace mtDNA totiž neprobíhá jen při průběhu dělení buňky, ale pokračuje i v postmitotických buňkách²⁰, a tak se hladina heteroplazmie během života mění, a ovlivňuje tak průběh nemoci (El. zdroj 19).

Klasifikace mitochondriálních onemocnění není jednoduchá a závisí na mnoha faktorech. Ve své práci jsem se zaměřila na taková onemocnění a syndromy, které jsou způsobeny poruchou OXPHOS komplexu v důsledku mutantní mtDNA.

²⁰ Postmitotická buňka – typ buňky, který se po svém vzniku již dále nedělí. Jedná se o velmi specializované buňky (např. neurony či svalové buňky).

4.2 Klinické aspekty

Projevy mitochondriálních onemocnění jsou velice různorodé. Je to dáno jejich genetickou a biochemickou povahou. Může se jednat o postižení jediné tkáně či orgánu, jako například optického nervu u Leberovy optické atrofie s pozdějším nástupem, nebo o postižení celého těla s brzkým nástupem, jako je tomu u Leighova syndromu. První symptomy se mohou objevit v kterémkoliv věku pacienta, avšak nejčastější nástup příznaků bývá v dětství nebo během prvních let dospělosti. Příznaky se také mohou objevit i ve vysokém stáří.

Ať už se tedy projevy choroby objeví v novorozeneckém nebo dospělém věku, vždy se tyto projevy zhoršují kvůli postupnému onemocnění většího počtu tkání či orgánů. Existují však i výjimečné případy, u kterých dochází k ústupu prvních příznaků nemoci nebo alespoň k zachování jejich současného stavu. Nejčastěji tomu bývá u kojenců, u kterých byly pozorovány symptomy nejasného původu (vodnaté stolice, neprospívání, sideroblastická anémie²¹), a u kterých tyto primární projevy nemoci v pozdějším věku zcela zmizely. Došlo však k poškození jiných orgánů (El. zdroj 25). Dokonce i v rámci jedné rodiny se příznaky nemoci mohou značně lišit. Často jsou tak rozdílné, že ani nevedou k domněnce, že by se mohlo jednat o onemocnění společné více členům rodiny. Je to právě výskyt většího a zdánlivě nesouvisějícího množství symptomů, které by mělo vést k podezření na mitochondriální poruchu.

Klinické projevy mitochondriálních chorob se mohou rozlišovat podle věkového období, ve kterém se manifestují nebo podle tkání a orgánů, které postihují. Ve své práci jsem upřednostnila druhou variantu – dělení podle tkáně, kterou postihují, jelikož manifestace symptomů je dosti variabilní, může nastat kdykoliv během života a u jednotlivých pacientů se různí.

Klinické projevy mitochondriálních chorob podle postižené tkáně nebo orgánu (El. zdroj 19):

- **CNS a nervová tkáň** – psychomotorická retardace, demence, encefalopatie, epilepsie, ataxie²², dystonie²³, chorea²⁴, časté migrény, symetrické nekrotizující léze na bazálních gangliích, periferní neuropatie²⁵ či deprese.
- **srdce** – kardiomyopatie či převodní poruchy.
- **svaly** – myopatie²⁶, svalová hypotonie nebo slabost, snadná unavitelnost, svalová bolest nebo atrofie²⁷, „potrhaná svalová vlákna“.

²¹ Sideroblastická anemie – druh anemie neznámé etiologie; v kostní dřeni dochází ke zmožení sideroblastů (nezralá červená krvinka již obsahující železo).

²² Ataxie – porucha hybnosti pacienta (špatná koordinace cílených pohybů, prudké mimovolní pohyby).

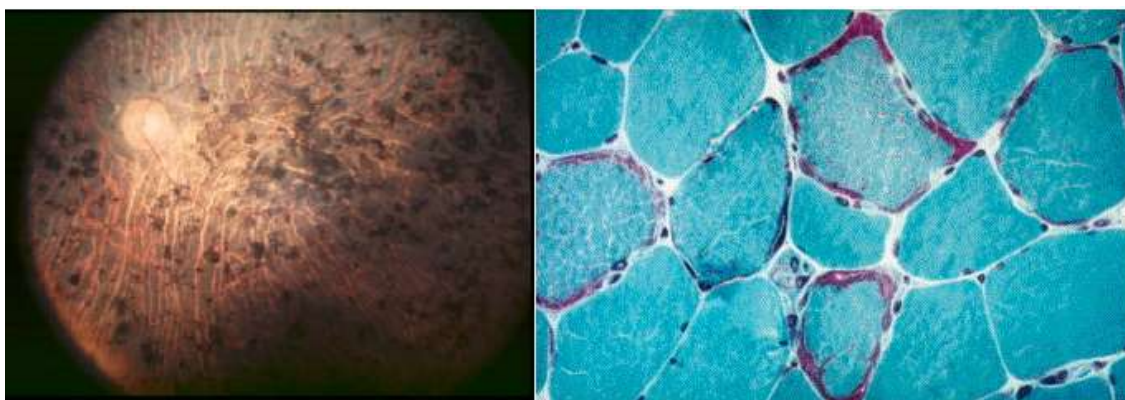
²³ Dystonie – porucha hybnosti, způsobuje mimovolní stahování svalů, které se projevuje abnormálními pohyby (kroucení končetin), neovlivňuje jiné mozkové funkce.

²⁴ Chorea – nepravidelné mimovolní škubavé pohyby.

²⁵ Neuropatie – nezánetlivé onemocnění nervů, vede ke změně jejich struktury a poruše funkce.

- **zrak** – ptóza víček, pigmentární retinopatie sítnice, katarakta, subakutní ztráta zraku, atrofie optického nervu nebo kortikální slepota²⁸.
- **sluch** se projevuje možnou percepční nedoslýchavostí²⁹ nebo hluchotou.

Pro většinu mitochondriálních chorob a syndromů, které zde uvádím, jsou hlavními rozpoznávacími symptomy pigmentární retinopatie sítnice³⁰, „potrhaná svalová vlákna“³¹ (Obr. 4) a zvýšená koncentrace laktátu³² a pyruvátu v krvi i mozkomíšním moku pacienta.



Obrázek 4 - Retinitis pigmentosa (konečné stádium), „potrhaná svalová vlákna“ (dle Hamel 2006, DiMauro 2004)

4.3 Diagnostika

Diagnostikování mitochondriálního onemocnění není vůbec jednoduché. Nejdůležitější pro určení správné diagnózy je včasné rozpoznání symptomů a pochopení, že se nejedná o samostatné, na sobě nezávislé nemoci, ale že jde o komplexní projev některého ze syndromů nebo choroby

²⁶ Myopatie – nezápřetlivé onemocnění kosterního svalu.

²⁷ Atrofie – zmenšení normálně vyvinutého orgánu, které je způsobené úbytkem nebo zmenšením velikosti buněk.

²⁸ Kortikální slepota – postižení zraku, neschopnost zpracovat zrakové podněty.

²⁹ Percepční nedoslýchavost – vzniká postižením vnitřního ucha nebo sluchového nervu.

³⁰ Pigmentární retinopatie sítnice neboli retinitis pigmentosa (RP) – porucha postihující světločivné buňky sítnice lidského oka. Prvními projevy RP jsou problémy s viděním za tmy. Postup nemoci je pomalý, dochází nejprve ke ztrátě periferního vidění a během několika let přijde pacient o zrak úplně.

³¹ Potrhaná červená svalová vlákna neboli „red ragged fibers“ (RRF) – označení pro stav, kdy ve svalových buňkách došlo k abnormálnímu zmnožení defektních mitochondrií a po obarvení Gomoriho trichomem se barví červeně. Pod mikroskopem se pak svalové vlákno jeví jako potrhané.

³² Hladina laktátu v krvi bývá u pacientů s mitochondriálním onemocněním vyšší než 3 mm/L. V mozkomíšním moku pak dosahuje hodnot vyšších než 1,2 mm/L (El. zdroj 24).

způsobené dysfunkcí mitochondrií. Nesprávná diagnóza je zapříčiněna hlavně různorodostí symptomů – liší se svým nástupem a závažností i rychlostí, kterou se rozvíjejí.

K přesné diagnostice mitochondriálního onemocnění se používá řada metod. Jedná se hlavně o laboratorní či elektrofyziologická vyšetření a různé zobrazovací metody (magnetická rezonance, protonová magnetická rezonanční spektroskopie³³, počítačová tomografie), které odhalí léze na bazálních gangliích nebo mozkovém kmeni a určí hladinu CSF proteinů. Dále jsou také nutná histologická a molekulární vyšetření krve a odebraných vzorků tkání pacienta. Pomocí těchto vyšetření se především zjišťuje aktivita enzymů v krvi pacienta, hladina laktátu a pyruvátu v krvi, a také se provádí analýza mtDNA (El. zdroj 24).

Důležitá je také oboustranná spolupráce lékařů a postižených rodin (El. zdroj 19).

Konkrétní diagnostické metody a vyšetření rozebírám dále u jednotlivých mitochondriálních onemocnění a syndromů.

4.4 Dědičnost

Mitochondriální onemocnění rozebíraná v této práci jsou způsobena špatnou funkcí OXPHOS komplexu. Jednotlivé jeho podjednotky jsou kódovány dvěma rozdílnými sadami genetických informací – mtDNA a nDNA. Každá z těchto sad se dědí jiným způsobem.

Co se týče dědičnosti genetické informace uložené v jádře buňky, je tato informace děděna od obou rodičů rovnoměrně – jedna sada od matky, druhá od otce. Řídí se pravidly typické mendelistické dědičnosti. Dědičnost mitochondriálních onemocnění, která jsou způsobena i mutacemi jaderné DNA, je proto buď autozomálně dominantní (AD) nebo autozomálně recesivní (AR). Může se též objevit dědičnost vázaná na X chromozom – gonozomálně recesivní, jelikož X chromozom nese gen kódující jednu z podjednotek komplexu I dýchacího řetězce. V případě dědění genetické výbavy mitochondrií však mluvíme o zcela odlišném typu dědičnosti. Je řízen zcela jinými pravidly, než jaká platí u mendelistického přenosu. U člověka se uplatňuje pouze u mitochondrií, a proto se označuje jako mitochondriální dědičnost.

Rozdíly mezi těmito dvěma typy dědičnosti v rámci jedné buňky jsou pozůstatkem evoluce mitochondrií (Lang et al. 1999).

4.4.1 Mitochondriální dědičnost

Genetika mitochondrií je od té klasické, mendelistické, odlišná téměř ve všech jejích aspektech – od přenosu genetické informace jen od jednoho z rodičů, až po výskyt velkého množství

³³ Protonová magnetická rezonanční spektroskopie (1H MRS) – neinvazivní metoda, která poskytuje přehled o biochemickém složení mozkových metabolitů a neurotransmiterů.

kopíí mtDNA v jediné buňce či rozdílné mechanismy replikace mtDNA a kontroly transkripce. Při přenosu genetické výbavy mitochondrií se setkáváme pouze a výhradně jen s jedním druhem dědičnosti a tou je **dědičnost matrilineární**³⁴. Jedná se o takový typ přenosu, kdy mitochondrie jsou děděny z generace na generaci pouze po maternální linii, tedy vždy jsou děděny po matce.

Ačkoli dnešní studie odhalily fakt, že dochází i k částečnému paternálnímu přenosu mitochondrií. Jejich penetrance³⁵ je pouhých 0,05 %. Je to dáno tím, že mitochondrie jsou ve spermiích uloženy v místě odstupu bičíku, který po oplodnění vajíčka odpadá. Přesto se do vajíčka mohou nějaké „otcovy“ mitochondrie dostat. Nicméně ty jsou během následné embryogeneze odbourány. Otcovské molekuly mtDNA jsou totiž ve vajíčku považovány za cizorodý materiál, který se buňka automaticky snaží eliminovat – aktivuje se enzym ubiquitin, který vniklé molekuly rozštěpí na jednotlivé aminokyseliny (Sutovsky et al. 2000). Kromě nízké penetrance je další nevýhodou paternálního přenosu obrovský nepoměr mezi množstvím mitochondrií obsažených ve spermiích a jejich množstvím ve vajíčku. Ve vajíčku je jejich zastoupení až stonásobně větší než je ve spermiích.

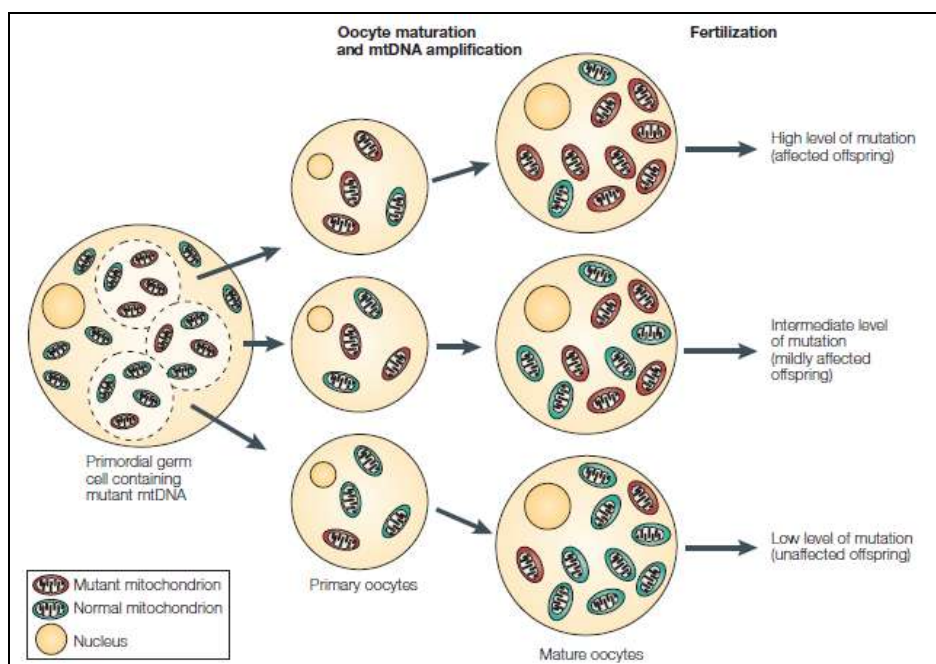
Přestože je genetické poradenství přenosu mitochondriálních chorob stále nejisté, současná genetika tvrdí, že otcové s mutovanou mtDNA se nemusí bát přenosu tohoto defektu na jejich potomstvo (Taylor, Turnbull 2005). Pokud se ale mutace vyskytuje v matčině mtDNA, je riziko jejího přenosu na její děti daleko větší.

Nicméně to, zda dojde ke zdědění mitochondrií s mutovanou nebo nemutovanou mtDNA a jaký bude fenotypový projev nemoci, záleží na mnoha faktorech. Existují dvě teorie, které tento problém vysvětlují.

³⁴ Ve starší literatuře se častěji používá termín matroklinní dědičnost či maternální přenos.

³⁵ Penetrance – pravděpodobnost s jakou se varianta genu projeví ve fenotypu.

První teorií je **teorie hrdla láhve** (tzv. bottleneck effect)³⁶. Jde o proces během oogeneze, kdy dochází k segregaci mitochondrií do jednotlivých oocytů. Segregace mitochondrií s mutovanými a nemutovanými molekulami mtDNA není rovnoměrná a zralá vajíčka tak nesou rozdílnou genetickou výbavu (Obr. 5). Proto se v rámci jedné rodiny setkáváme s rozdílnými projevy mitochondriálních chorob (Taylor, Turnbull 2005).



Obrázek 5 - Distribuce mitochondrií během oogeneze (dle Taylor, Turnbull 2005)

Jiní vědci naproti tomu upřednostňují názor, že o výsledném fenotypovém projevu nemoci se rozhoduje až během embryogeneze, kdy je důležitá rychlost replikace molekul mtDNA a jejich následná segregace do nově vzniklých mitochondrií a do dalších buněk. Některé molekuly mtDNA se podle nich replikují rychleji než jiné. Přičemž rychlost replikace jednotlivých molekul záleží na umístění mitochondrií vůči jádru buňky – zda je toto umístění „výhodné“ nebo „nevýhodné“. Myslí se tím, v jaké vzdálenosti je daná mitochondrie od jádra. Ty mitochondrie, které jsou jádru blíže, budou podle tohoto názoru replikovat svou mtDNA snáze a rychleji, jelikož potřebné faktory k replikaci jsou lépe dostupné (El. zdroj 2).

³⁶ Tato teorie se v populační genetice nazývá tzv. efekt zakladatele (founder's effect), avšak v genetice mitochondrií se používá pojem bottleneck effect.

4.5 Prevence a léčba

Léčba mitochondriálních onemocnění je dnes pouze symptomatická. Jakmile jednou dojde k propuknutí nemoci, nejde již zvrátit. Avšak existují jisté metody, které dokáží rozvoj některých symptomů zpomalit nebo dokonce i zastavit. Nicméně ne vždy se dostaví pozitivní účinky a navíc, ne všechny léčebné postupy lze aplikovat na všechny pacienty. V posledních letech se proto intenzivně zkoumají možnosti, jak vůbec přenosu defektní genetické informace zabránit a zcela tak předejít vzniku nemoci způsobené mutantní mtDNA.

V roce 2009 byla poprvé vyzkoušena nová metoda, která by v budoucnu mohla přenosu defektní mtDNA zabránit. Pro výzkum byly použity pohlavní buňky primátů – makaků rhesů. Jednalo se o přenesení jádra z vajíčka s mutovanými mtDNA do vajíčka jiného primáta, které bylo zbaveno svého původního jádra, ale které obsahovalo „zdravé“ mitochondrie. Po úspěšném přenosu i následném oplodnění takto upravených vajíček se vyvinuli zdraví jedinci (Tachibana et al. 2009). Nicméně při testování této metody na lidských pohlavních buňkách se objevily problémy, které u primátů nenastaly. Až polovina oplodněných lidských vajíček nebyla schopna se dále dělit a dosáhnout stádia blastocysty³⁷ (Tachibana et al. 2013).

Testovala se i další podobná metoda. Jednalo se opět o přenesení jaderné genetické informace z jednoho vajíčka s defektní mitochondriální výbavou do druhého, dárcovského vajíčka, s nemutovanými molekulami mtDNA. Rozdíl byl v tom, kdy k výměně došlo. U první metody došlo k výměně genetického materiálu před oplodněním, kdežto nyní se odebírala jaderná DNA až po fertilizaci. U tohoto postupu nenastaly žádné komplikace při následném dělení oplodněného vajíčka. Zásah sám je však riskantní a náročný na provedení (Craven et al. 2010).

Obě tyto techniky jsou zatím jen ve stádiu laboratorního testování, ale i tak dávají ženám, které by defektní mtDNA mohly přenést na své potomky, naději, že jednoho dne budou mít zdravé děti.

³⁷ Blastocysta – stádium raného embryonálního vývoje savců.

4.6 Nemoci způsobené poruchou OXPHOS komplexu

Dědičné nemoci způsobené poruchou OXPHOS komplexu jsou nejčastější skupinou mitochondriálních onemocnění v lidské populaci. Jejich výskyt je stanoven na 1:8 500. Bylo zjištěno, že mutace mtDNA odpovědné za tyto poruchy nese přinejmenším každý dvoustý člověk, aniž by u něj došlo k manifestaci dané choroby (El. zdroj 24).

Následující kapitoly jsou věnovány charakteristice jednotlivých chorob spadající do této skupiny. Poskytují informace o jejich patogenezi i etiologii, o jejich diagnostice, možné léčbě a jejich výskytu v populaci.

4.6.1 Leberova hereditární optická neuropatie

Charakteristika nemoci

Leberova hereditární optická neuropatie (LHON), jinak také nazývána Leberova optická atrofie je dědičné mitochondriální onemocnění způsobené mutacemi v mtDNA. Nemoc se na rozdíl od jiných mitochondriálních chorob začíná projevovat až v dospělosti, většinou kolem dvacátého roku života. Prvním projevem nemoci je ztráta centrálního vidění na jednom oku. S postupujícími příznaky se pak LHON může vyvinout až v úplnou slepotu.

Nemoc byla poprvé popsána německým oftalmologem Theodorem Leberem v roce 1871 a je tak jedním z nejstarších známých mitochondriálních onemocnění.

Etiopatogeneze

Zpočátku se mělo za to, že nemoc je přenášena X chromozomem a byla proto považována za nemoc vázanou na pohlaví, manifestující se ve většině případů pouze u mužů, jelikož nesou jediný X chromozom. Později se ale ukázalo, že se jedná o mitochondriální onemocnění zapříčiněné změnou ve struktuře molekuly mtDNA (Bu, Rotter 1991).

U pacientů s Leberovou optickou atrofií bylo nalezeno až 18 různých mutací jejich mtDNA (El. zdroj 3). Přičemž až u 90 % pacientů je LHON způsoben jen jednou ze čtyř bodových mutací mitochondriální DNA v genech, které kódují komplex I dýchacího řetězce – MTND1, MTND4 a MTND6. Jde o mutace na nukleotidových pozicích 15 257, 14 484, 11 778 a 3 460. Tyto mutace zásadně ohrožují funkčnost komplexu I (El. zdroj 1).

První, kdo objasnil molekulární příčinu Leberovy optické atrofie, byla skupina vedená doktorem Dougem Wallacem na univerzitě v Atlantě. V roce 1988 objevili jako první bodovou mutaci 11778G>A, tedy že na nukleotidu 11 778 dochází k záměně purinových bází – adeninu za guanin. Tato substituce následně vede k přeměně aminokyseliny arginin na aminokyselinu histidin na kodonu

340 ND4 (Wallace et al. 1988). Další mutace byla objevena roku 1991. Jedná se o bodovou mutaci 3460G>A, která následně způsobuje náhradu threoninu za alanin v ND1 podjednotce komplexu I (Larsson et al. 1991; Howell et al. 1991). A v roce 1992 byla popsána mutace 14484T>C, která má za následek přeměnu methioninu na valin v ND6 (Johns et al. 1992).

Příčemž nejčastěji se vyskytující mutací je mutace 11778G>A, která se vyskytuje u 50-60 % pacientů. Mutace 3460G>A se nachází asi u 20 % pacientů a přibližně 10 % postižených osob s LHON nese ve své mtDNA mutaci 14484T>C (El. zdroj 1).

Všechny tyto mutace vedou k dysfunkci proteinů v OXPHOS komplexu, což se nakonec projevuje nedostatkem energie v buňce. A jelikož je LHON homoplazmické mitochondriální onemocnění, nedochází v postižených buňkách k její kompenzaci. První buňky, které jsou v tomto případě negativně ovlivněny, jsou axony neuronů očního nervu (Obr. 6). Nedostačující množství ATP molekul omezuje jejich činnost i životnost. Některé neurony proto dříve či později začnou odumírat. Okolní nervové buňky se ztrátu snaží vykompenzovat, čímž ale dochází k jejich přetížení a ještě k většímu poškození očního nervu. V nejhorších stádiích nemoci dochází i k jeho úplnému odumření. Člověk pak není schopen přenést zrakové vjemy ze sítnice do mozku a nastává u něj slepota.



Obrázek 6 – Postupná demyelinizace a odumírání axonů lidského optického nervu; A – normální stav; B – mutace 11778G>A, ztráta myelizovaných axonů; C - mutace 3460G>A, rozsáhlá ztráta myelizovaných axonů (dle Carelli et al. 2004, upraveno)

Míra, do jaké je zrakový nerv zasažen, je dána procentuálním zastoupením mitochondrií s mutovanou mtDNA v jednotlivých buňkách. K částečné slepotě stačí, aby mitochondrií s mutovaným genomem bylo pouhých 30 %, při více než 70 % dochází k úplné slepotě (Carelli et al. 2004).

Nicméně to, zda nemoc v těle pacienta propukne nebo ne, není dáno pouze výskytem mutované mtDNA v mitochondriích člověka. Výzkum poukázal na skutečnost, že jen u 50 % mužů a přibližně u 10 % žen, v jejichž genetické výbavě se vyskytuje jedna z výše zmíněných bodových mutací, dojde

k rozvinutí nemoci. U většiny populace nesoucí tytéž mutace k propuknutí choroby vůbec nedochází. Z toho vyplývá, že i jiné faktory, ať už genetické nebo vlivy okolního prostředí, jsou důležité pro fenotypovou expresi Leberovy optické atrofie (El. zdroj 3).

Klinické příznaky

U pacientů s LHON bývají prvními znaky nemoci dilatované konce kapilár lokalizované v místě odstupu zrakového nervu ze sítnice. Dále nemoc pokračuje ztrátou centrálního vidění nejprve na jednom oku. A poté, během několika týdnů, dojde ke ztrátě centrálního vidění i na oku druhém. Ve většině případů je postup nemoci bezbolestný.

Nicméně někteří pacienti mohou trpět bolestí očí v klidu nebo při pohybu bulbů (El. zdroj 1).

První příznaky nemoci se obvykle začínají objevovat mezi 18. a 35. rokem života pacienta. Jsou ale zaznamenány i případy, kde se Leberova optická atrofie objevila u jednoletého dítěte nebo naopak, první příznaky nemoci byly pozorovány až po 60. roce života (El. zdroj 24).

Diagnostika

Jelikož je LHON výlučně matrilineárně dědičné mitochondriální onemocnění, dá se jeho výskyt predikovat. Pokud je ale rodinná anamnéza neznámá, nezbyvá než provést neuro-ofthalmologická³⁸ a genetická vyšetření, jejichž cílem je zjistit stav sítnice, zrakové dráhy a také stav mtDNA (El. zdroj 24).

Léčba

Nedávno byla testována možná léčba Leberovy optické atrofie způsobené mutací 11778G>A. Výzkum byl zaměřen na zvýšení obrany mitochondrií proti působení volných radikálů. Domnívali se totiž, že ochrana mitochondrií proti nežádoucím účinkům jejich působení může mít velký vliv i na léčbu příznaků LHON. Několik buněk s mutovanou mtDNA bylo naočkováno geny, které zvyšují obranu buňky proti oxidativnímu stresu. Normálně by buňka s touto homoplazmickou mutací v jejím mitochondriálním genomu měla odumřít, avšak touto genovou terapií se podařilo zvýšit šanci přežití takové buňky až o 89 %. Výzkum tak dokázal, že genová terapie by mohla předejít ztrátě zraku u některých pacientů s LHON (Qi et al. 2007).

Výskyt

Mutace způsobující LHON se v lidské populaci vyskytují poměrně často – mutované geny nese přibližně jeden člověk z osmi a půl tisíce. Nicméně výskyt samotné choroby je v Evropě stanoven na 1:30 000. Přičemž nejčastěji se vyskytuje mutace 11778G>A ND4 genu – až u 70 % případů.

³⁸ Druh vyšetření, který se provádí při očních problémech způsobených poruchou nervů.

Zároveň je také nejčastější mutací i v asijské populaci, kde se vyskytuje až u 90 % pacientů s Leberovou optickou atrofií (Man et al. 2003; Puomila et al. 2007).

Mutace 14484T>C je nejčastější příčinou propuknutí LHON ve francouzsko-kanadských rodinách, naproti tomu v japonské populaci nemá tato mutace na propuknutí nemoci skoro žádný vliv (Mashima et al. 1996).

4.6.2 NARP syndrom

Charakteristika syndromu

NARP syndrom – neuropatie, ataxie a pigmentární retinopatie sítnice, trojice hlavních příznaků tohoto syndromu. Jedná se o syndrom, který je stejně jako LHON způsobený bodovými mutacemi pouze mitochondriální DNA, avšak nástup prvních příznaků začíná již v dětství. Mutace negativně ovlivňují ATP-syntázový komplex, ve kterém tak dochází ke snížené produkci molekul ATP, jejichž nedostatečná tvorba se v tomto případě projevuje především poruchou mozku, mozečku a sítnice.

Etiopatogeneze

Jedinou dosud známou příčinou NARP syndromu je mutace genu MTATP6 na nukleotidové pozici 8 993, která je dědičná pouze matrilineárně. Jedná se o substituci báze thiminu za guanin nebo za cytosin, tedy 8993T>G nebo 8993T>C. Záměna těchto bází vede ke změně sekvence aminokyselin ve struktuře enzymu ATPázy. Místo vysoce stabilního luecinu se v primární struktuře tohoto enzymu objevuje arginin (Holt et al. 1990). Záměna těchto aminokyselin Leu156Arg vede k poruše funkce enzymu ATPázy – arginin blokuje přenos protonů v respiračním řetězci (Tanaka et al. 2002).

Odhaduje se, že mutace MTATP6 je až z 50 % zodpovědná za manifestaci syndromu. Alespoň u těch pacientů, u kterých došlo k výraznému zvýšení hladiny laktátu v krvi (Rantamäki et al. 2005; Thorburn, Rahman 1993).

Hlavním faktorem při přenosu mutace z generace na generaci je místo výskytu mitochondrií s mutovanou mtDNA v matčině těle. Jestliže se mutace vyskytuje jen v její krvi, je riziko, že dojde k přenosu mutace na potomky během těhotenství, asi 10 %. Mnohem větší riziko přenosu mutace je při výskytu mutantních mitochondrií v oocytu (White et al. 1999).

Klinické příznaky

Aby došlo k propuknutí NARP syndromu způsobeného mutací 8993T>G, musí množství mutovaných kopií mtDNA přesáhnout hranici 70 %. Jestliže podíl mutovaných molekul mtDNA přesáhne práh 90 %, dojde k propuknutí jiného mitochondriálního onemocnění – Leighova syndromu.

Co se týče mutace 8993T>C není tak závažná jako předešlá. Hladina heteroplazmie u této mutace musí být minimálně 90 %, aby došlo k manifestaci symptomů (Thorburn, Rahman 1993).

NARP syndrom se projevuje svalovou slabostí vyskytující se spolu se senzoricou neuropatií³⁹, ataxií, RP, záchvaty, problémy s učením nebo i demencí (Holt et al. 1990). Mezi další klinické příznaky NARP syndromu se řadí i malý vzrůst pacientů, senzorieurální nedoslýchavost⁴⁰, poruchy srdečního rytmu (angl. heart block) nebo velice vážné stavy úzkosti. Často se také u pacientů s NARP syndromem vyskytuje progresivní externí oftalmoplegie, o které píše dále.

Nástup prvních symptomů syndromu začíná již v dětství, kdy dochází u dětí k částečné ataxii a často mívají problémy se soustředěním a následně i s učením. Postup syndromu není nijak rychlý a stav pacienta může být po mnoho let stabilní. I když během této latentní doby může pacient trpět mnoha jinými virovými nemocemi kvůli snížené obranyschopnosti organismu (Thorburn, Rahman 1993).

Diagnostika syndromu

Na rozdíl od jiných mitochondriálních onemocnění (Leighův syndrom, MELAS syndrom) přesná kritéria pro diagnostikování NARP syndromu ještě nebyla ustanovena. Proto lidé s podezřením na NARP syndrom musejí podstoupit řadu vyšetření, aby se určil jejich klinický stav a postup jednotlivých symptomů syndromu.

- **neuropatie** – k přesnějšímu určení stavu periferních svalů pacienta se používá vyšetření elektromyografem (EMG), kdy se zkoumají elektrické biosignály vycházející ze svalu spolu s nervovým přenosem této informace do mozku.
- **ataxie** – jediným průkazným vyšetřením je magnetická rezonance, která odhalí stupeň atrofie mozku nebo i mozečku.
- **retinitis pigmentosa** – ke zjištění stavu pacientovy sítnice se používá vyšetření elektroretinogramem (ERG). Odhalí i ty nejmenší abnormality světločivných buněk sítnice, tyčinek a čípků. A také přesný stav optického nervu.

Dále se zjišťuje hladina laktátu v krvi i mozkomíšním moku pacienta. Aby výsledky byly co nejpřesnější, je lepší odebrat krev vícekrát během dne, jelikož koncentrace laktátu v průběhu dne kolísá. Spolehlivější data o jeho koncentraci však poskytne protonová magnetická rezonanční spektroskopie mozkomíšního moku (El. zdroj 15).

³⁹ Senzorická neuropatie – dědičné onemocnění, které postihuje periferní svalstvo. Může vést až k jeho atrofii.

⁴⁰ Senzorieurální nedoslýchavost – nejčastější typ nedoslýchavosti. Příčinou je porucha zvukového nervu nebo narušení funkce vnitřního ucha, což vede k neschopnosti přenášet neuro-elektrické impulzy do mozku.

Léčba

V dnešní době není známa žádná možná léčba syndromu. V některých případech se pouze dají zmírňovat určité symptomy. Například při akutním zvýšením hladiny laktátu v těle pacienta se jeho stav stabilizuje podáním sody bikarbony (NaHCO_3). Záchvaty pacienta se mohou zmírnit podáním některých antikonvulzí⁴¹, avšak pod přísným dohledem ošetřujícího lékaře, jelikož některé druhy těchto antiepileptik mají inhibující účinky na respirační řetězec (Anderson et al. 2002).

Nicméně se dnes provádí výzkumy možné genové terapie u lidí s mutací 8993T>G. Tato terapie by měla snížit hladinu mutované mtDNA podáním restriktivní endonukleázy Smal, která dokáže rozpoznat mutované kopie mtDNA od těch nemutovaných a rozštěpit je. Vzniklý deficit molekul mtDNA je pak vyrovnán replikací „správných“ nemutovaných kopií mtDNA (Tanaka et al. 2002).

Výskyt syndromu v populaci

Přesná data o výskytu NARP syndromu v populaci nejsou známa. Nicméně se odhaduje, že výskyt NARP syndromu s mutací 8993T>G je méně častý, než výskyt Leighova syndromu, který je mimo jiné způsoben stejnou mutací. Data u Leighova syndromu naznačují, že postihuje jednoho člověka ze 40 000 lidí (El. zdroj 5).

4.6.3 Progresivní externí oftalmoplegie

Charakteristika nemoci

Progresivní externí oftalmoplegie (PEO) patří mezi nejčastěji se vyskytující mitochondriální myopatii v lidské populaci. V některých případech se také používá termín CPEO – chronická progresivní externí oftalmoplegie. Jde o poruchu, pro niž je charakteristické pomalu progredující ochabování okohybných svalů. Většinou se první projevy nemoci začínají objevovat v období rané dospělosti, mezi 20. a 30. rokem života. Výrazným projevem nemoci je také oboustranná ptóza horních očních víček. První příznaky jsou často podobné Gravesově oftalmopatii⁴² nebo myasthenia gravis⁴³.

Často bývá PEO předzvěstí jiné mitochondriální poruchy, Kearnsova-Sayreho syndromu (KSS). Pokud se u pacientů objevují i jiné příznaky vyskytující se také u KSS, ale nejsou pro tento

⁴¹ Antikonvulziva – léčiva používaná pro léčbu nebo prevenci epileptických záchvatů.

⁴² Gravesova oftalmopatie – forma Gravesovy-Basedowovy nemoci, která postihuje především oči. Typickým znakem je nadměrná suchost očí nebo jejich exoftalmus (vystouplé oči z důlku).

⁴³ Myasthenia gravis (MG) – onemocnění nervosvalového přenosu, které se projevuje neschopností udržet horní víčka v obvyklé poloze a generalizovaným snížením svalové síly a výdrže.

syndrom splněny i ostatní požadavky, bývá tato situace označována jako „PEO plus“ nebo také „KSS minus“ (El. zdroj 16).

Etiopatogeneze

Progresivní externí oftalmoplegie je onemocnění, které má více možných forem⁴⁴ v závislosti na jejich patogenezi a dědičnosti. Buďto se jedná o dědičnost autozomálně dominantní (adPEO) nebo recesivní (arPEO), jelikož hlavní příčinou tohoto onemocnění jsou mutace jaderných genů. K mutacím v mtDNA dochází až v důsledku špatné funkce jádrem kódovaných enzymů.

Primární příčinou jak adPEO tak i arPEO je mutace jaderného genu POLG, který kóduje mitochondriální enzym DNA-polymerázu gama (pol gammaA). Funkcí tohoto enzymu je replikace mtDNA. Při jeho špatné funkci dochází ke vzniku bodových mutací nebo i k rozsáhlým deletcím ve struktuře mtDNA. Kromě PEO způsobuje delece v alelách POLG genu i jiná vážná onemocnění – SANDO⁴⁵, AHS⁴⁶ nebo MNGIE syndrom, o kterém se také zmiňují dále (El. zdroj 17).

Další možnou příčinou adPEO je mutace jaderného genu ANT1 (adenin nucleotid translocator). Tento gen kóduje mitochondriální transportní protein, který přepravuje ADP a ATP molekuly z vnitřní mitochondriální membrány do matrix mitochondrií a naopak (Kaukonen et al. 2000). Dále je to mutace jaderného genu C10ORF2, která vede k manifestaci adPEO. Tento gen kóduje tzv. Twinkle protein, jehož přesná funkce ještě nebyla zjištěna. Má se však za to, že jeho přítomnost v mitochondriích je kritická pro integritu mtDNA (Spelbrink et al. 2001).

Klinické příznaky PEO

Prvním projevem nemoci bývá u většiny pacientů ptóza horních očních víček. Ptóza je u pacientů s PEO oboustranná a obě víčka poklesávají souměrně. K ochabování okohybných svalů⁴⁷ obvykle dochází až za několik měsíců, nebo dokonce i let, po projevení prvních příznaků. Tato prodleva projevení všech symptomů nemoci najednou, nebo během krátké doby, zapříčiňuje, že většina lidí ani netuší, že trpí závažnou mitochondriální poruchou. Mírný pokles horních víček bez zhoršení vidění jsou totiž schopní vykompenzovat zapojením jiných obličejových svalů nebo zvednutím hlavy bradou nahoru, a mnohdy tak dochází k pozdní identifikaci nemoci. Postižené osoby začínají řešit tento problém, až když dojde ke zhoršení jejich vidění - zhoršené oční motility nebo ztráty periferního vidění.

⁴⁴ Jednotlivé formy PEO se v literatuře označují jako PEOA1 až PEOA3.

⁴⁵ SANDO (angl. sensory ataxic neuropathy dysarthria and ophthalmoparesis).

⁴⁶ AHS (angl. Alpers-Huttenlocher syndrome).

⁴⁷ Postiženy jsou jen externí okohybné svaly, nikoli svaly ciliární, které umožňují akomodaci čočky

Jiným identifikačním znakem PEO, který ale není jejím typickým projevem, je pocit pálení očí. Jde o projev nezánnětlivého onemocnění rohovky – keratopatie, která vzniká jako důsledek neschopnosti zcela zavřít oko a nanést tak na rohovku ochranný slzný film. Oko je pak zarudnuté a většina lidí si stěžuje na pálení očí. Tím, že většina pacientů kompenzuje pokles horních očních víček namáháním jiných obličejových svalů, dochází k jejich ochabování a tvář člověka s PEO pak působí bez výrazu. U některých pacientů mohou být zasaženy i další skupiny svalů – krční nebo dokonce i svaly ramenního pletence. Dalšími, avšak méně častými symptomy, bývají šedý zákal, ztráta sluchu, deprese nebo hypogonádismus (El. zdroj 16).

Pokud se první příznaky PEO objeví před dvacátým rokem života, nastoupí i srdeční potíže, svalová biopsie ukáže RRF a na sítnici dojde k rozvinutí onemocnění retinitis pigmentosa, pak už se jedná o Kearnsův-Sayreho syndrom, který rozebírám v jiné kapitole.

Diagnostika

Diagnostikovat a rozpoznat PEO je velice obtížné kvůli jeho podobnosti s jinými nemocemi.

Pro zajištění správné diagnózy se pacient podrobuje několika vyšetřením (El. zdroj 16):

- zjištění koncentrace laktátu a pyruvátu v mozkomíšním moku a krvi pacienta.
- oftalmologická vyšetření - elektromyogram odhalí sílu biosignálů ve zkoumaných svalech a objeví tak možnou myopatii nebo neuropatii obličejových svalů.
- biochemické rozbory svalové tkáně - odebrané vzorky tkáně se testují na protilátky proti acetylcholinovým receptorům nebo se zvolí tensilonový test, kterým se zjistí aktivita acetylcholinesterázy. Tyto dva testy se používají k rozpoznání PEO od myasthenia gravis.
- vyšetření srdce – pokud pacient má srdeční potíže (poruchy srdečního rytmu nebo poruchy vodivosti signálů v srdci) jedná se už u o Kearns-Sayreho syndrom.
- magnetická rezonance, počítačová tomografie nebo ultrazvuk – vyšetření okohybných svalů pacienta slouží k rozpoznání PEO od Gravesovy oftalmopatie (u CPEO jsou extraokulární svaly tenké a symetrické, pokud se ovšem jedná o formu Gravesovy choroby, postihnuté okohybné svaly jsou abnormálně zvětšené).

Svalová biopsie byla až do nedávné doby jediným průkazným testem, kterým se PEO dala potvrdit. Avšak nyní za použití analýzy PCR se odhalí struktura a případné mutace mtDNA z odebraného vzorku krve pacienta.

Léčba PEO

Podobně jako u jiných mitochondriálních onemocnění, ani u PEO zatím nebyla objevena účinná léčba, která by tuto nemoc zvrátila nebo zcela vyléčila její příznaky.

V experimentální léčbě se ke zlepšení oční motility pacienta používají tetracyklin nebo koenzym Q10. Pozitivní účinky těchto dvou látek však zatím nebyly prokázány (Omar, Johnson 2007; Rodriguez et al. 2007).

Výskyt

Výskyt CPEO v populaci je ojedinělý, přesná čísla nejsou známa.

4.6.4 Kearnsův-Sayreho syndrom

Charakteristika syndromu

Kearnsův-Sayreho syndrom⁴⁸ (KSS), dříve nazýván oftalmoplegie-plus, je ojedinělé mitochondriální onemocnění, které se dá zařadit mezi mitochondriální encefalomyopatie. Projevy syndromu jsou totiž patrné jak na svalech postiženého člověka, tak i na jeho nervovém systému. KSS je způsoben rozsáhlými delecemi mitochondriální DNA. První projevy syndromu se objevují již před dvacátým rokem života pacienta.

Poprvé byl KSS popsán v roce 1958. Následující trojice příznaků byla uvedena jako hlavní a charakteristický rys syndromu (Kearns, Sayre 1958):

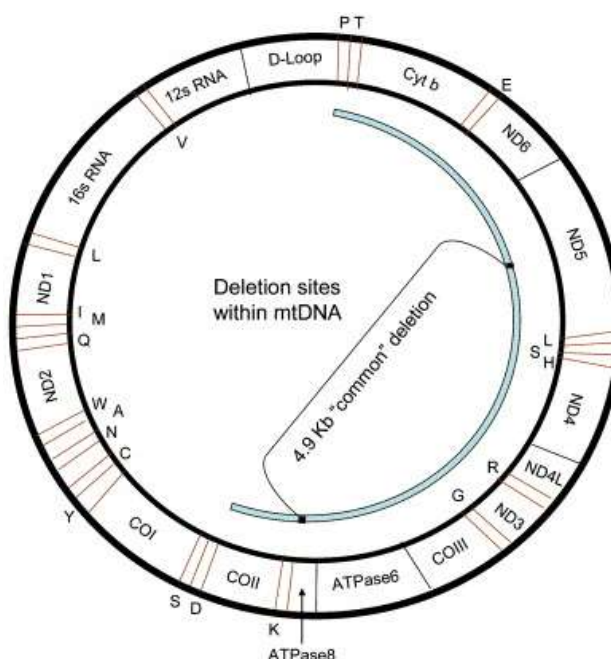
- Pacienti s KSS již trpí progresivní externí oftalmoplegií.
- Na sítnici je patrná retinitis pigmentosa.
- Dochází u nich k častým poruchám srdečního rytmu.

KSS má i mnoho jiných klinických příznaků, jejichž projevy jsou v závislosti na rozdílné hladině heteroplazmie dosti různorodé, stejně tak jako jejich závažnost. Prognóza tohoto syndromu nebývá příliš příznivá. U většiny postižených osob dochází k selhání mnoha orgánů již v mladém věku a mnohdy tento syndrom končí smrtí pacienta z důvodu zástavy jeho srdce (El. zdroj 16).

⁴⁸ V literatuře můžeme KSS najít i pod mnoha jinými názvy – CPEO with myopathy, Oculocranosomatic syndrome, Mitochondrial cytopathy (Kearns-Sayre type) a další.

Etiopatogeneze

KSS je způsoben rozsáhlými delecemi ve struktuře mitochondriální DNA o velikosti 1,3 až 7,6 Kb⁴⁹. U všech pacientů, u kterých došlo k plnému rozvinutí syndromu, byla nejnižší hladina mutované mtDNA ve svalectech 45 % (Moraes et al. 1989; Zeviani et al. 1988). Přičemž nejběžnější velikostí deletovaných úseků je 4,9 Kb (Obr. 7). Tato delece zahrnuje nukleotidy mezi 8 469 až 13 147 a byla nalezena až u třetiny pacientů s KSS (Alemi et al. 2007).



Obrázek 7 – Molekula lidské mtDNA s vyznačeným nejčastěji deletovaným úsekem (dle Alemi et al. 2007)

Ve studii z roku 1999 byla u všech zkoumaných pacientů nalezena stejná mutace – delece úseku mtDNA o velikosti 3 558 bp. Jde o skupinu nukleotidů, které kódují proteiny komplexu I dýchacího řetězce a také tRNA geny pro aminokyseliny histidin, serin, leucin a arginin. Ačkoli všichni pacienti nesli stejnou mutaci, klinické projevy syndromu u nich byly velice rozdílné. U poloviny pacientů se první příznaky KSS objevily již v dětství – hypotonie⁵⁰, ataxie nebo epilepsie. U zbylých 50 % pozorovaných osob až po třicátém roku života. Byla o nich pozorována PEO, oboustranná ptóza víček a pigmentární retinopatie sítnice (Lertrit et al. 1999).

Nedávno také byla identifikována mutace 3243A>G jako možná příčina vzniku KSS (Wang et al. 2003).

⁴⁹ 1Kb = 1 000 bp

⁵⁰ Hypotonie – svalová slabost způsobená nižším napětím svalů.

Klinické příznaky syndromu

Výsledný fenotypový projev syndromu je dán hlavně podílem mutovaných kopií mtDNA v organismu, jejichž výskyt je u pacienta s KSS dosti variabilní. Nejčastěji bývají postiženy takové svaly, které mají vysoké energetické nároky. U KSS se jedná především o okohybné svaly, srdeční sval a kosterní sval.

Co se týče okohybných svalů, dochází u lidí s KSS k jejich postupnému a souměrnému ochabování, což se projevuje postupným snižováním pohyblivosti obou očí, až nakonec je jejich pohyb zcela omezen. Dalšími příznaky syndromu mohou být mozečková ataxie, zvýšená hladina CFS proteinů, výskyt RRF v kosterním svalu (především u quadratus femoris), poškození srdeční svaloviny (kardiomyopatie, poruchy přívodu krve do srdce, až zástava srdce) a malý vzrůst pacienta často spojený s jeho opožděným vývojem. V některých případech dochází u pacientů s KSS i k propuknutí dalších onemocnění. Nejčastější jsou diabetes, hluchota nebo úplná slepota. V těch nejhroších případech pak nastává úmrtí pacienta v důsledku zástavy jeho srdce (El. zdroj 16).

Nicméně množství a výskyt mutantních mitochondrií není jediným faktorem zodpovědným za manifestaci syndromu. Byly totiž nalezeny i takové případy, kdy v jedné rodině se delece mtDNA způsobující KSS vyskytovala u více jejích členů, ale syndrom se projevil jen u jednoho z nich (Poulton et al. 1991). Nebo kdy u matky a dcery postižené osoby naopak nebyly nalezeny žádné delece v jejich mitochondriálním genomu (Larsson et al. 1992).

Ukázalo se také, že stejný typ mutace mtDNA způsobující KSS se vyskytuje i u lidí s Pearsonovým syndromem (PS)⁵¹ nebo u osob s PEO. Avšak rozdílná je distribuce mitochondrií s mutovanou mtDNA v těle pacientů. U pacientů s KSS se mutovaná mtDNA vyskytuje pouze ve svalech, kdežto u lidí s PS se nejvíce mitochondrií s mutovanou mtDNA nachází v krvi a tak dochází k jejich distribuci do celého těla (El. zdroj 16).

Diagnostika

Pokud je u pacienta podezření na Kearnsův-Sayreho syndrom jsou nezbytná dvě vyšetření, která by tento předpoklad potvrdila. Jedná se o ověření hladiny proteinů v mozkomíšním moku a krvi pacienta. Pro KSS je typické zvýšení koncentrace laktátu i pyruvátu jak v krvi, tak i v mozkomíšním moku, jako produktů anaerobního metabolismu buňky. Zjišťuje se také koncentrace koenzymu Q10, který je součástí elektronového transportního řetězce. U KSS dochází k poklesu jeho koncentrace jako důležitého komponentu při tvorbě ATP. Méně častým vyšetřením je podrobení pacienta magnetické

⁵¹ Pearsonův syndrom – multisystémové onemocnění, postižena je kostní dřev (sideroblastická anemie) a zevní pankreat, objevuje se i laktátová acidóza.

rezonanci mozku. Může odhalit leukoencefalopatii⁵² způsobenou mozkovou nebo mozečkovou atrofií nebo se pomocí MR mohou odhalit léze na bazálních gangliích (El. zdroj 16).

Jestliže se KSS potvrdí, je nezbytné, aby postihnutý člověk podstoupil další vyšetření, která vedou k určení jeho přesného stavu a postupu syndromu. Pomocí echokardiogramu a elektrokardiogramu se hodnotí stav srdce pacienta. Dále se vyšetřuje, zda nedošlo k nástupu dalších onemocnění, například diabetu. V takovém případě se z odběrů krve ještě zjišťuje hladina glukózy. Pacienti, u kterých byl diagnostikován KSS, jsou pak po celý zbytek života přísně monitorováni. Je nutné, aby pravidelně navštěvovali oftalmologa a docházeli i na kardiologická vyšetření (El. zdroj 24).

Léčba KSS

Podobně jako u dalších mitochondriálních encefalomyopatií, ani u KSS není ještě vyvinuta žádná účinná léčba, která by syndrom vyléčila nebo alespoň zastavila jeho postup. Jsou však vyvinuty metody, které pomáhají udržovat současný stav svalů pacienta nebo které mohou dokonce zvýšit jejich sílu. Jedná se ale o fyzicky náročná cvičení, která vyžadují pevnou vůli a trpělivost, v mladším věku pacienta i zapojení a pomoc rodičů.

Ke zlepšení stavu svalů pacienta přispívá i zvýšení hladiny koenzymu Q10 v krvi. Dojde tak ke snížení koncentrace laktátu a pyruvátu ve svalech a výrazně se tím zlepší i pohybové možnosti pacienta (Ogasahara et al. 1985).

Výskyt KSS

KSS může postihnout jakéhokoliv člověka bez rozdílu rasy nebo pohlaví. Jsou ale určité rozdíly v geografickém výskytu deletovaných úseků mtDNA. Například v Asii, Japonsku, na Taiwanu a v Číně jsou u pacientů s KSS typické delece o velikosti 4 977 bp mezi nukleotidy 8 470 až 13 446, kdežto v Thajsku KSS způsobují pouze delece o velikosti 3 558 bp (Lertrit et al. 1999).

Přesný výskyt KSS v populaci není znám.

⁵² Leukoencefalopatie – skupina mozkových chorob, které postihují bílou hmotu. Běžnými projevy nemocí jsou mimo jiné demence, poruchy motoriky nebo zraku.

4.6.5 MERRF syndrom

Charakteristika syndromu

MERRF syndrom – myoklonická epilepsie a „potrhaná červená svalová vlákna“. Jedná se o velice vzácnou mitochondriální poruchou. Syndrom je způsoben heteroplazmickými mutacemi několika genů v mtDNA a je děděn výhradně matrilineárně. Nejčastějšími a zároveň prvními projevy syndromu jsou myoklonická epilepsie⁵³ a svalová slabost pacienta, které se začínají objevovat již v dětství. Následně se ještě v dětském věku rozvinou další příznaky syndromu. Nejčastěji jimi bývají ztráta sluchu nebo atrofie optického nervu spolu s pomalým růstem dítěte.

Etiopatogeneze

Jak již bylo zmíněno, MERRF syndrom je způsoben mutacemi většího množství mitochondriálních genů – MTTK, MTTL1, MTTH, MTTS1, MTTS2, MTTF a MTND5 (El. zdroj 4).

Nejčastější mutací bývá mutace genu MTTK, označovaného také tRNA(Lys), jež plní důležitou funkci při interakci molekuly tRNA s ribozomy. Byla zjištěna až u 90 % pacientů. Dochází k záměně adeninu za guanin na nukleotidu 8 344, tedy 8344A>G. Tato mutace je vždy heteroplazmická a je spjata s poklesem enzymatické aktivity v dýchacím řetězci. Především enzymu cytochrom c oxidázy (Boulet et al. 1992; Chomyn et al. 1991).

Mutace zbylých genů nejsou příliš časté, zatím byly nahlášeny jen u několika málo pacientů. Nicméně mají stejný negativní účinek na aktivitu COX enzymu jako mutace tRNA(Lys) genu.

Klinické příznaky syndromu

MERRF syndrom je jednou z mála mitochondriálních encefalomyopatií, u kterých se závažnost symptomů odráží v množství mutovaných molekul mtDNA, i když ne vždy lze najít přímou souvislost (El. zdroj 1).

Hlavními příznaky syndromu jsou myoklonus⁵⁴, idiopatická epilepsie⁵⁵, ataxie a RRF. Dalšími častými klinickými projevy syndromu jsou: sensorineurální nedoslýchavost, myopatie, periferní neuropatie, demence, malý vzrůst pacienta nebo atrofie optického nervu. Méně častými symptomy, které byly pozorovány u méně než poloviny pacientů, bývají kardiomyopatie, pigmentární retinopatie sítnice, oftalmoplegie nebo mnohonásobné lipomy⁵⁶ (El. zdroj 16).

⁵³ Myoklonická epilepsie – náhlé a rychlé svalové kontrakce, nejčastější jsou po probuzení.

⁵⁴ Myoklonus – náhlé kontrakce jednoho svalu nebo skupiny svalů.

⁵⁵ Idiopatická epilepsie – druh epileptických záchvatů bez zjevné příčiny.

⁵⁶ Lipom – nezhoubný nádor v tukové tkáni.

Diagnostika

Pacienti s MERRF syndromem mívají zvýšenou koncentraci laktátu, alaninu i pyruvátu jak v krvi, tak i v mozkomíšním moku. Ke zvýšení koncentrací těchto látek dochází už při mírné aktivitě nebo i když je pacient v klidu (El. zdroj 18). U některých pacientů s MERRF syndromem byla provedena magnetická rezonance mozku, která odhalila symetrické léze na bazálních gangliích, atrofií mozečku i mozkového kmene (Orcesi et al. 2006; Ito et al. 2008). Provádí se i svalová biopsie pro potvrzení abnormálního subsarkolemálního zmnožení mitochondrií ve svalu. Zatím byl hlášen jen jediný případ, kdy RRF nebyly u pacienta pozorovány, a přesto mu byl diagnostikován MERRF syndrom (Mancuso et al. 2007). Přistupuje se i k biochemické analýze aktivity respiračního řetězce. V odebraném vzorku svalové tkáně je snížena aktivita všech mitochondriálně kódovaných jednotek OXPHOS komplexu, zvláště je to patrné u NADH-dehydrogenázy a cytochrom c oxidázy, které obsahují nejvíce mtDNA kódovaných podjednotek (El. zdroj 18).

Léčba syndromu

Léčba MERRF syndromu je pouze symptomatická. Některé symptomy jako například srdeční potíže se léčí podáváním příslušných léků, ke zlepšení motoriky pacienta jsou zase důležitá fyzická cvičení. Avšak ne všem lidem s MERRF syndromem tato cvičení vyhovují (El. zdroj 18). Záchvaty se mohou zmírnit podáváním antikonvulzik. Účinky jedné z těchto látek, levetiracetamu⁵⁷, byly pozitivní u 3 ze 4 pacientů (Mancuso et al. 2007).

Výskyt syndromu v populaci

V severní Evropě proběhlo několik studií zaměřených na zjištění výskytu mutace 8344A>G. Byly zveřejněny výsledky z Finska – 1,5:100 000, Anglie – 0,25:100 000 a Švédska – 0,25:100 000. Odhaduje se, že celkový výskyt syndromu v evropské populaci je 1:400 000 (El. zdroj 18).

4.6.6 Leighův syndrom

Charakteristika syndromu

Leighův syndrom (LS), známý také jako subakutní nekrotizující encefalomyopatie, je progresivní neurodegenerativní onemocnění s brzkým nástupem – začíná se objevovat již v dětství, často ještě před prvním rokem života⁵⁸. Jedná se o velmi závažnou mitochondriální poruchu, jejímiž prvními projevy jsou mentální a pohybová retardace postiženého dítěte. Další symptomy LS jsou natolik vážné, že ve většině případů končí smrtí během několika prvních let života.

⁵⁷ Obchodní název tohoto antikonvulzika je Keppra.

⁵⁸ Nejčastější nástup příznaků syndromu bývá mezi třetím až dvanáctým měsícem.

Syndrom byl poprvé popsán v Londýně, v roce 1947, kdy bylo na kliniku přijato sedmi měsíční miminko se symptomy, které do té doby nebyly nikde uvedeny (Leigh 1951).

Etiopatogeneze

Leighův syndrom se považuje za „nejtypičtější“ příklad mitochondriálního onemocnění způsobeného poruchou OXPHOS komplexu. Je to dáno tím, že k poruše dýchacího řetězce dochází ve všech jeho komplexech i v ATP-syntázovém komplexu V.

Nejčastěji diskutovanou příčinou Leighova syndromu je špatná funkce cytochrom c oxidázy. Předpokládá se, že za její sníženou aktivitu je odpovědný jaderný gen SURF1. Tento gen kóduje protein uložený na vnitřní mitochondriální membráně, který se podílí na biogenezi a následné aktivitě cytochrom c oxidázy. Tato studie také pomohla definovat novou skupinu defektních genů způsobujících i jiné lidské neurodegenerativní poruchy (Zhu et al. 1998). Mutace v mitochondriální DNA jsou následující – 8993T>G, 8993T>C, 8344A>G (Rahman et al. 1996).

Kvůli jeho genetické heterogenitě je možných u LS více typů dědičnosti. Přenos mutantních genů tak může být vázán na X chromozom nebo se může jednat o mitochondriální nebo i autozomálně recesivní dědičnost (DiMauro, De Vivo 1996).

Klinické příznaky LS

Syndrom je nejčastější dětskou mitochondriální poruchou. Začíná se projevovat již během prvního roku života mimo jiné i psychomotorickou regresí dítěte. Většinou jsou symptomy LS tak závažné, že postižené dítě umírá již kolem třetího roku života z důvodu selhání plic nebo zástavy srdce. Jen malé procento postižených dětí přežije, avšak v průběhu jejich života se u nich vyvinou další symptomy, které jsou také velmi závažné.

Prvními znaky syndromu u dětí nejčastěji bývá zvracení, průjem a problémy spojené s polykáním. Z toho pak vyplývají další obtíže, dítě nepřijímá dostatečné množství důležitých a pro mladý organismus nutných živin a dochází tak k jeho zpomalenému růstu. Dítě ani nepřibývá na váze. U postižených dětí se dále objevuje svalová hypotonie, dystonie a ataxie, které mají za následek těžké omezení pohyblivosti dítěte. Avšak u pacientů s LS nejsou jedinými problémy jejich pohybové schopnosti. Neméně závažnými projevy syndromu je ochabnutí nebo úplná paralýza okohybných svalů. Může docházet i k nekontrolovatelným pohybům očí (nystagmus) nebo dokonce k atrofii optického nervu a úplné slepotě. Dalšími, asi nejzávažnějšími příznaky LS, jsou dýchací potíže pacienta. Tyto potíže se u většiny pacientů neustále zhoršují, až nakonec dojde k akutnímu selhání plic. V některých případech dochází u pacientů s LS i k ochabování srdeční svaloviny. Myokard pomalu slábne, tím se snižuje krevní tlak a tento stav může dojít až do bodu, kdy sval už není schopen vyvinout dostatečný tlak na síně a komory a nastává zástava srdce (El. zdroj 7).

Diagnostika syndromu

Pro diagnostiku LS byla vypracována přesná kritéria. Ta přísně specifikují symptomy a nálezy, které musí být splněny, aby nedošlo k záměně s jiným syndromem či onemocněním, především s Leigh-like syndromem⁵⁹. U LS se jedná o progresivní neurologickou poruchu s opožděným pohybovým i psychickým vývojem. Symptomy jsou patrné na mozkovém kmeni nebo i na bazálních gangliích, v krvi nebo i v mozkomíšním mozku je zvýšená hladina laktátu (Rahman et al. 1996).

Z dalších uvedených kritérií je nutné splnit alespoň jedno, aby byl diagnostikován Leighův syndrom – symetrické oboustranné nekrotizující léze na bazálních gangliích, talamu, mozkovém kmeni, mozečku nebo na optickém nervu, které jsou viditelné na CT (Thorburn, Rahman 1993).

Co se týče klinických testů, provádí se tzv. mutační analýza, kdy se testuje DNA extrahovaná z leukocytů pacienta. Přibližně u 10 až 20 % pacientů s LS byla nalezena mutace 8993T>G nebo 8993T>C genu MTATP6 (Rahman et al. 1996).

Léčba LS

Léčba Leighova syndromu, podobně jako NARP syndromu, je zaměřena pouze na některé jeho symptomy. Léčit se dá například acidóza podáváním sody bikarbony nebo záchvaty pacienta se dají zmírnit podáváním některých antikonvulzí (Anderson et al. 2002). Dnes se již také diskutuje o genové terapii postižených osob. Ta by měla zvýšit množství „normální“ nemutované mtDNA a zmírnit tak projevy syndromu (Tanaka et al. 2002).

Pro rodinu pacienta s LS je též doporučována psychologická pomoc.

Výskyt LS v populaci

Podle nashromážděných dat se u Leighova syndromu odhaduje, že postihuje jednoho člověka ze 40 000 lidí (El. zdroj 5).

⁵⁹ Leigh-like syndrome – podobné příznaky jako LS, avšak nesplňují všechna kritéria. Rozdíly jsou nejvíce patrné při skenování mozku (léze na BG nejsou symetrické a neodpovídají ani tvarem či velikostí), také nedochází ke zvýšení hladiny laktátu ani v krvi, ani v CSF proteinech a objevují se u nich i jiné abnormality.

4.6.7 MELAS syndrom

Charakteristika syndromu

MELAS syndrom – mitochondriální encefalomyopatie, laktátová acidóza a příhody podobné mrtvici, je mitochondriálně dědičné multisystémové onemocnění způsobené poruchou OXPHOS komplexu (Hirano, Pavlakis 1994).

Nejčastěji postihuje mozek a nervový systém spolu s pohybovým aparátem. Ve většině případů se první známky syndromu objeví již v dětství – svalová slabost, bolesti hlavy, zvracení a často i záchvaty. Po těchto prvních projevech pak následuje období normálního vývoje. Příhody podobné mrtvici (tzv. stroke-like episodes) se u většiny pacientů dostavují ještě před 40. rokem života (El. zdroj 9).

Prognóza u MELAS syndromu nebývá příliš příznivá. Ačkoliv se závažnost symptomů liší u jednotlivých pacientů, encefalomyopatie končí u většiny z nich demencí. Kachexie je též běžná u velkého množství pacientů. Dosud nebyla objevena žádná účinná léčba (El. zdroj 14).

Etiopatogeneze

MELAS syndrom je způsoben především mutacemi mitochondriální DNA⁶⁰. Jedná se o geny kódující proteiny NADH-dehydrogenázového komplexu – MTND1, MTND5 a MTND6, a geny kódující tRNA – MTTC, MTTH, MTTL1, MTTK, MTTQ, MTTS1, MTTS2 a MTTV. Mutace jsou vždy heteroplazmické, záleží tak na distribuci a množství mutované mtDNA v jednotlivých tkáních (El. zdroj 20).

Nejčastějším mutovaným genem, který způsobuje MELAS syndrom, je MTTL1 gen. Bodovou mutací 3243A>G tohoto genu je ohrožena syntéza mnoha mitochondriálních proteinů a zároveň i jejich aktivita v komplexech I, IV a V procesu oxidativní fosforylace. Tato mutace byla nalezena až u 80 % pacientů (Mehrazin et al. 2009).

Předpokládá se, že u pacientů s MELAS syndromem je příčinou stroke-like episodes vazodilatace mozkových cév. Ta je způsobena poklesem hladiny oxidu dusnatého v mozku a následným zvýšením koncentrace argininu (El. zdroj 14).

Klinické příznaky syndromu

Syndrom postihuje stejně často obě pohlaví. První symptomy se objevují již v dětství, mezi druhým až desátým rokem. Dítě nemá chuť k jídlu, zvrací a může se u něj vyvinout i anorexie. Časté jsou i bolesti hlavy nebo záchvaty, které mohou vést až ke kortikální slepotě. Psychický vývoj

⁶⁰ Diskutuje se též o možnosti defektního jaderného genu POLG (El. zdroj 10).

dítěte není nijak omezen. Po dosažení dospělosti se začínají objevovat i stroke-like episodes. Při jejich častém a neustálém opakování se zvyšuje šance, že dojde k omezení pacientovy schopnosti pohybu, vidění nebo sluchu. Mají také vliv na jeho psychický stav (El. zdroj 10).

U téměř všech pacientů s MELAS syndromem dojde ke zvýšení hladiny laktátu v krvi natolik, že se u nich vyvine i laktátová acidóza. Ta může vést ke zvracení, bolestem břicha, únavě, svalové slabosti nebo k dýchacím obtížím. Méně častými projevy syndromu jsou myoklonus, ataxie, ztráta sluchu, diabetes, problémy s ledvinami, se srdcem nebo také hormonální nevyváženost (El. zdroj 9).

Diagnostika syndromu

Na základě analýzy několika případů MELAS syndromu byla vypracována kritéria, na jejichž základě by bylo možné syndrom diagnostikovat. Jestliže je tedy u pacienta splněno jedno z následujících tří kritérií, mělo by podezření padnout právě na MELAS syndrom

- K příhodám podobným mrtvici dochází ještě před 40. rokem života pacienta.
- Encefalopatie se projevuje záchvaty nebo demencí (nebo také obojím).
- Pacienti též trpí laktátovou acidózou nebo RRF (případně obojím).

Často jsou u pacientů s MELAS syndromem pozorovány i symptomy charakteristické pro jiná mitochondriální onemocnění (KSS či MERRF syndrom). Proto se v takových případech přistupuje k analýze mtDNA. Ne vždy se ale u pacientů se znaky MELAS syndromu naleznou bodové mutace typické pro toto onemocnění. Nebo naopak, u pacientů s mutacemi charakteristickými pro MELAS syndrom nedojde k manifestaci pro MELAS syndrom typických příznaků (Hirano et al. 1992).

Léčba syndromu

Někteří pacienti s MELAS syndromem byli experimentálně léčeni podáváním CoQ10, jiní vitamínem K₃ a K₁ ke zlepšení přenosu elektronů v respiračním řetězci. U některých pacientů pomohly dávky riboflavinu (vitamin B₂), které zlepšily funkčnost komplexu I. Dalšími experimentálními léky jsou dichloracetát, jantaran sodný (sodium succinate) nebo kreatin monohydrát. Avšak u těchto léků byly vedle příznivých účinků pozorovány i nežádoucí jevy (El. zdroj 13).

Výskyt syndromu

Výskyt syndromu v celosvětové populaci není znám. Avšak v některých zemích proběhly výzkumy na zjištění výskytu mutace 3243A>G – Finsko 10,2:100 000, Anglie 1:13 000 (El. zdroj 14).

4.6.8 MNGIE syndrom

Obecná charakteristika

MNGIE syndrom – mitochondriální neurogastrointestinální encefalomyopatie, je multisystémové onemocnění zasahující především trávicí a nervový systém. Syndrom je způsoben špatnou funkcí enzymu thymidinfosforylázy a sekundárními mutacemi v mtDNA, které vyústí v poruchu energetického metabolismu buňky. První příznaky syndromu se mohou objevit kdykoliv během života. Nejčastějšími příznaky bývají neprospívání, gastrointestinální dysmotilita⁶¹, ptóza, periferní neuropatie a myopatie. Nervové projevy syndromu nebývají tak závažné jako poruchy příjmu a zpracování potravy.

Prognóza u tohoto syndromu je velmi špatná, neboť průměrná délka života pacientů s MNGIE syndromem je jen okolo 35 let (Nishino et al. 2000).

Etiopatogeneze

MNGIE syndrom je způsoben poruchou funkce thymidinfosforylázy (TP), enzymu, který je kódován jaderným genem TYMP. TP katalyzuje fosforylaci thymidinu nebo deoxyuridinu na thymin či uracil (El. zdroj 21). Porucha katalýzy těchto reakcí zapříčiňuje nedostatek nukleotidů pro replikaci mtDNA, a proto ve struktuře nově nasyntetizované molekuly mtDNA dochází k mnohočetným delecím, které následně vedou k dysfunkci energetického metabolismu buňky (El. zdroj 11).

Pro MNGIE syndrom je typická autozomálně recesivní dědičnost. Není však ještě zcela známo, jak defektní mitochondrie způsobují jednotlivé příznaky syndromu (El. zdroj 12).

Klinické příznaky

Klinické projevy MNGIE syndromu jsou vždy progredujícího charakteru. Nástup prvních symptomů je dosti rozdílný. Mohou nastoupit již v pátém měsíci života, během prvních let dětství nebo také během období rané dospělosti. První symptomy jsou také dosti variabilní – u většiny případů se jednalo o příznaky gastrointestinálního charakteru. V menším zastoupení se objevuje ptóza či oftalmoplegie a u některých pacientů se jako první projeví neuropatická bolest (většinou dolních končetin) nebo může dojít i ke ztrátě sluchu. Co se týče symptomů v GIT systému, mohou zasáhnout kterýkoli orgán a jejich stav se zhoršuje postupně i po dobu několika let. Mezi nejběžnější příznaky patří pocit sytosti, odpor k jídlu, dysfagie⁶², bolesti břicha nebo průjem. Obvykle po nástupu těchto

⁶¹ Gastrointestinální dysmotilita – snížená schopnost posunu potravy trávicí soustavou (GIT systém) v důsledku postižení nervů a svalů trávicího traktu.

⁶² Dysfagie – potíže s polykáním.

symptomů začne pacient ubývat na váze a jsou na něm patrné známky únavy a vyčerpání i bez předešlé námahy. Ptóza, oftalmoparéza nebo také oftalmoplegie jsou dalšími nejběžnějšími symptomy MNGIE syndromu, avšak nejsou spojeny s poruchami vidění (El. zdroj 12).

U všech pacientů se nakonec rozvinou i neurologické symptomy. Jedná se především o periferní neuropatii, která je způsobena demyelinizací axonů periferních nervů nebo dokonce i jejich atrofií. Typickým projevem je též svalová slabost a leukoencefalopatie bez zjevných symptomů. S postupujícími symptomy se též mění závažnost syndromu a většina pacientů se nedožije ani 40. roku života (Nishino et al. 2000).

Diagnostika

U lidí, u kterých se objevují poruchy střevní motility a neprospívání, by se vždy mělo zvážit, zda se nejedná o MNGIE syndrom. Rovněž také u těch pacientů, u kterých vedle jiných symptomů dochází k rozvíjení i neurologických projevů. Diagnostika syndromu je založena na přítomnosti několika klinických příznaků – gastrointestinální dysmotilita, kachexie, ptóza, externí oftalmoplegie a asymptomatická leukoencefalopatie patrná na MR (Hirano et al. 1994). Dále se může přistupovat k protonové magnetické rezonanční spektroskopii, která odhalí, zda pacient nemá zvýšenou hladinu laktátu v mozkomíšním moku. Další vhodnou metodou diagnostikování MNGIE syndromu je stanovení hladiny thymidinu v krvi (El. zdroj 22). Také se přihlíží k rodinné anamnéze (Shoffner 1993).

Léčba

Jakmile se symptomy jednou projeví, nedají se zvrátit. Léčba syndromu je stejně, jako u dalších mitochondriálních poruch, pouze symptomatická a zaměřena především na problémy s příjmem a zpracováním potravy – polykáním potravy, zvracením nebo s břišními obtížemi. Živiny jsou pacientům dodávány nitrožilně spolu s probiotiky na obnovení a podporu střevní mikroflóry. Pacientům se závažnými neurologickými projevy se podává morfiem na zmírnění jejich bolesti (El. zdroj 22).

Výskyt syndromu

MNGIE syndrom je v populaci ojedinělý. Jeho přesná frekvence výskytu není známa. Zatím bylo nahlášeno necelých 100 případů (El. zdroj 12).

5 Diskuze

Tato práce se zabývala problematikou dědičných mitochondriálních chorob. Především takových, které jsou způsobeny poruchou oxidativní fosforylace (tzv. OXPHOS komplex). Nicméně podstatnou část mé bakalářské práce tvoří i kapitoly o samotném OXPHOS komplexu – o jeho složení a průběhu a také o původu a struktuře mitochondrií. Tyto informace jsem zde zařadila proto, abych mohla lépe popsat jednotlivé faktory ovlivňující propuknutí nemoci – jak mutace jaderných genů ovlivňují procesy v mitochondriích, proč se na oxidativní fosforylaci podílí proteiny kódované dvěma genetickými sadami a jak se jejich funkce/dysfunkce projevuje na činnosti buňky v lidském organismu.

V dalším textu uvádím problémy, se kterými jsem se během psaní této práce potýkala, a také vysvětlení toho, proč jsou některé informace v práci neúplné nebo není daný jev zcela vysvětlen.

U většiny výše popsaných onemocnění chybí údaje o jejich výskytu v populaci. Uvádí se, že nemoci způsobené poruchou OXPHOS komplexu jsou nejčastější skupinu mitochondriálních onemocnění. Jejich výskyt byl stanoven na 1:8 500 (El. zdroj 24) nebo 1: 3 400 (El. zdroj 8). Ani jedno z těchto dat však není zcela přesné. Neposkytuje ani informace o tom, o jakou konkrétní poruchu se jedná. Výzkumy se totiž zaměřují pouze na výskyt určitých mutací. Navíc některé bodové mutace jsou společné vícero mitochondriálním chorobám. Například mutace mtDNA 8993T>G se ve finále projevuje jak NARP syndromem, tak i Leighovým syndromem. Mutace jaderného genu POLG je také odpovědná za více mitochondriálních chorob (SANDO, AHS). Navíc tyto výzkumy ani nezohledňují fakt, zda člověk zkoumanou mutaci „jen“ nese ve své mtDNA, aniž by u něj došlo k propuknutí projevů mutace, nebo zda se již jedná o léčeného pacienta. U některých mutací a chorob nejsou známa dokonce vůbec žádná čísla (PEO). Dalším problémem se stanovením výskytu těchto onemocnění v populaci je fakt, že výzkumy neprobíhají celosvětově. Výzkum například proběhne v Anglii a v severských zemích Evropy a získané údaje se následně vztáhnou na celou Evropu (MERRF syndrom). U delece způsobující KSS existují jen data z Asie. Ve své práci jsem proto citovala jen ta data, která jsou známá a veřejně dostupná.

Dalším problémem, se kterým jsem se při psaní mé bakalářské práce setkala, byly nedostatečné informace o všech faktorech ovlivňující penetranci a výsledný fenotypový projev nemoci.

Je to zapříčiněno tím, že i přes obrovský pokrok v tomto oboru genetiky, stále nejsou známy funkce jednotlivých genů a proteinů účastnících se jak biogeneze mitochondrií, tak i procesu oxidativní fosforylace a jejich vzájemné kombinace. Jen málo mitochondriálních chorob je totiž způsobeno mutacemi pouze mitochondriální DNA (LHON, NARP nebo MERRF syndrom) jako primárního faktoru vzniku nemoci. Většina mitochondriálních onemocnění vzniká důsledkem dysfunkce jádrem kódovaných enzymů, které následně způsobují mutace mtDNA. Neustále se také objevují nové

poznatky, které doplňují celkový obraz dané choroby – u KSS se stále nachází nové deletované úseky mtDNA i bodové mutace. Snažila jsem se zde uvést ty nejaktuálnější údaje o etiopatogenezi jednotlivých onemocnění i přesto, že ne všechny zdroje mi byly dostupné.

Navzdory výše uvedeným nedostatkům této práce jsem se snažila podat základní a ucelené informace o jednotlivých mitochondriálních onemocněních. Vycházela jsem při tom ze současných a dostupných zdrojů, ať už knižních nebo elektronických.

6 Závěr

Cílem mé bakalářské práce bylo podat souhrnné a ucelené informace o konkrétních dědičných mitochondriálních onemocněních způsobených poruchou oxidativní fosforylace – o jejich etiopatogenezi, klinických projevech, dostupné prevenci i léčbě a o jejich výskytu v populaci.

Co se týče údajů o etiopatogenezi, nejsou tyto údaje u většiny výše popsaných onemocnění kompletní, neboť stále je ještě většina faktorů ovlivňujících manifestaci chorob neznámá i odborníkům zabývajícím se touto problematikou.

V kapitolách o klinických projevech nemoci jsem stručně uvedla nejběžnější symptomy a rozdělila je podle místa jejich výskytu i podle nejčastějšího věku, ve kterém dochází k jejich propuknutí.

Informace o prevenci jsem shrnula do kapitoly společné všem mitochondriálních chorobám, kde jsem poskytla nejaktuálnější dostupné údaje. Co se týče léčby jednotlivých nemocí, rozebrala jsem ji u každé zvlášť. Čerpala jsem opět z dostupných a aktuálních zdrojů.

Údajů o výskytu chorob v populaci je nejméně, jelikož ani v použité literatuře nebyly tyto informace zveřejněny. Důvody jsem uvedla v diskuzi.

7 Seznam použité literatury

- ALEMI, M., A. PRIGIONE, A. WONG, R. SCHOENFELD, S. DIMAURO, M. HIRANO, F. TARONI a G. CORTOPASSI. 2007. Mitochondrial DNA deletions inhibit proteasomal activity and stimulate an autophagic transcript. *Free Radical Biology and Medicine* [online]. roč. 42, č. 1, s. 32–43 ISSN 0891-5849. Dostupné z: doi:10.1016/j.freeradbiomed.2006.09.014
- ANDERSON, Ch. M, B. A. NORQUIST, S. VESCE, D. G. NICHOLLS, W. H. SOINE, S. DUAN a R. A. SWANSON. 2002. Barbiturates induce mitochondrial depolarization and potentiate excitotoxic neuronal death. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*. roč. 22, č. 21, s. 9203–9209. ISSN 1529-2401.
- ANDERSON, S., A. T. BANKIER, B. G. BARRELL, M. H. DE BRUIJN, A. R. COULSON, J. DROUIN, I. C. EPERON, D. P. NIERLICH, B. A. ROE, F. SANGER, P. H. SCHREIER, A. J. SMITH, R. STADEN a I. G. YOUNG. 1981. Sequence and organization of the human mitochondrial genome. *Nature*. roč. 290, č. 5806, s. 457–465. ISSN 0028-0836.
- ANDREWS, R. M., I. KUBACKA, P. F. CHINNERY, R. N. LIGHTOWLERS, D. M. TURNBULL a N. HOWELL. 1999. Reanalysis and revision of the Cambridge reference sequence for human mitochondrial DNA. *Nature Genetics* [online]. roč. 23, č. 2, s. 147–147 ISSN 1061-4036. Dostupné z: doi:10.1038/13779
- BOULET, L., G. KARPATI a E. A. SHOUBRIDGE. 1992. Distribution and threshold expression of the tRNA(Lys) mutation in skeletal muscle of patients with myoclonic epilepsy and ragged-red fibers (MERRF). *American journal of human genetics*. roč. 51, č. 6, s. 1187–1200. ISSN 0002-9297.
- BU, X. D. a J. I. ROTTER. 1991. X chromosome-linked and mitochondrial gene control of Leber hereditary optic neuropathy: evidence from segregation analysis for dependence on X chromosome inactivation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. roč. 88, č. 18, s. 8198–8202. ISSN 0027-8424.
- CARELLI, V., F. N. ROSS-CISNEROS a A. A. SADUN. 2004. Mitochondrial dysfunction as a cause of optic neuropathies. *Progress in Retinal and Eye Research* [online]. roč. 23, č. 1, s. 53–89 ISSN 1350-9462. Dostupné z: doi:10.1016/j.preteyeres.2003.10.003
- CRAVEN, L., H. A. TUPPEN, G. D. GREGGAINS, S. J. HARBOTTLE, J. L. MURPHY, L. M. CREE, A. P. MURDOCH, P. F. CHINNERY, R. W. TAYLOR, R. N. LIGHTOWLERS, M. HERBERT a D. M. TURNBULL. 2010. Pronuclear transfer in human embryos to prevent transmission of mitochondrial DNA disease. *Nature* [online]. roč. 465, č. 7294, s. 82–85. ISSN 1476-4687. Dostupné z: doi:10.1038/nature08958
- DIMAURO, S. a D. C. DE VIVO. 1996. Genetic heterogeneity in Leigh syndrome. *Annals of neurology* [online]. roč. 40, č. 1, s. 5–7. ISSN 0364-5134. Dostupné z: doi:10.1002/ana.410400104
- DIMAURO, S. Mitochondrial diseases. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics* [online]. roč. 1658, 1-2, s. 80-88 [cit. 2013-04-27]. ISSN 00052728. doi: 10.1016/j.bbabo.2004.03.014. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0005272804001367>
- EMELYANOV, V. V. 2003. Mitochondrial connection to the origin of the eukaryotic cell. *European journal of biochemistry / FEBS*. roč. 270, č. 8, s. 1599–1618. ISSN 0014-2956.

- FORSTER, P., R. HARDING, A. TORRONI a H. J. BANDELT. 1996. Origin and evolution of Native American mtDNA variation: a reappraisal. *American journal of human genetics*. roč. 59, č. 4, s. 935–945. ISSN 0002-9297.
- HAMEL, Ch. 2006. Retinitis pigmentosa. *Orphanet Journal of Rare Diseases* [online]. roč. 1, č. 1, s. 40 ISSN 1750-1172. Dostupné z: doi:10.1186/1750-1172-1-40
- HIRANO, M. a S. G. PAVLAKIS. 1994. Mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis, and strokelike episodes (MELAS): current concepts. *Journal of child neurology*. roč. 9, č. 1, s. 4–13. ISSN 0883-0738.
- HIRANO, M., E. RICCI, M. R. KOENIGSBERGER, R. DEFENDINI, S. G. PAVLAKIS, D. C. DEVIVO, S. DIMAURO a L. P. ROWLAND. 1992. Melas: an original case and clinical criteria for diagnosis. *Neuromuscular disorders: NMD*. roč. 2, č. 2, s. 125–135. ISSN 0960-8966.
- HOLT, I. J., A. E. HARDING, R. K. PETTY a J. A. MORGAN-HUGHES. 1990. A new mitochondrial disease associated with mitochondrial DNA heteroplasmy. *American Journal of Human Genetics*. roč. 46, č. 3, s. 428–433 ISSN 0002-9297.
- HOWELL, N., L. A. BINDOFF, D. A. MCCULLOUGH, I. KUBACKA, J. POULTON, D. MACKEY, L. TAYLOR a D. M. TURNBULL. 1991. Leber hereditary optic neuropathy: identification of the same mitochondrial ND1 mutation in six pedigrees. *American journal of human genetics*. roč. 49, č. 5, s. 939–950. ISSN 0002-9297.
- CHOMYN, A., G. MEOLA, N. BRESOLIN, S. T. LAI, G. SCARLATO a G. ATTARDI. 1991. In vitro genetic transfer of protein synthesis and respiration defects to mitochondrial DNA-less cells with myopathy-patient mitochondria. *Molecular and cellular biology*. roč. 11, č. 4, s. 2236–2244. ISSN 0270-7306.
- ITO, S., W. SHIRAI, M. ASAHINA a T. HATTORI. 2008. Clinical and brain MR imaging features focusing on the brain stem and cerebellum in patients with myoclonic epilepsy with ragged-red fibers due to mitochondrial A8344G mutation. *AJNR. American journal of neuroradiology* [online]. roč. 29, č. 2, s. 392–395. ISSN 1936-959X. Dostupné z: doi:10.3174/ajnr.A0865
- JOHNS, D. R., M. J. NEUFELD a R. D. PARK. 1992. An ND-6 mitochondrial DNA mutation associated with Leber hereditary optic neuropathy. *Biochemical and biophysical research communications*. roč. 187, č. 3, s. 1551–1557. ISSN 0006-291X.
- KAUKONEN, J., J. K. JUSELIOUS, V. TIRANTI, A. KYTTÄLÄ, M. ZEVIANI, G. P. COMI, S. KERÄNEN, L. PELTONEN a A SUOMALAINEN. 2000. Role of adenine nucleotide translocator 1 in mtDNA maintenance. *Science (New York, N.Y.)*. roč. 289, č. 5480, s. 782–785. ISSN 0036-8075.
- KEARNS, T. P. a G. P. SAYRE. 1958. Retinitis pigmentosa, external ophthalmoplegia, and complete heart block: unusual syndrome with histologic study in one of two cases. *A.M.A. archives of ophthalmology*. roč. 60, č. 2, s. 280–289. ISSN 0096-6339.
- LANG, B. F., M. W. GRAY a G. BURGER. 1999. Mitochondrial genome evolution and the origin of eukaryotes. *Annual review of genetics* [online]. roč. 33, s. 351–397. ISSN 0066-4197. Dostupné z: doi:10.1146/annurev.genet.33.1.351
- LARSSON, N. G. a D. A. CLAYTON. 1995. Molecular genetic aspects of human mitochondrial disorders. *Annual review of genetics* [online]. roč. 29, s. 151–178. ISSN 0066-4197. Dostupné z: doi:10.1146/annurev.ge.29.120195.001055

- LARSSON, N. G., H. G. EIKEN, H. BOMAN, E. HOLME, A. OLDFORS a M. H. TULINIUS. 1992. Lack of transmission of deleted mtDNA from a woman with Kearns-Sayre syndrome to her child. *American journal of human genetics*. roč. 50, č. 2, s. 360–363. ISSN 0002-9297.
- LARSSON, N. G., O. ANDERSEN, E. HOLME, A. OLDFORS a J. WAHLSTRÖM. 1991. Leber's hereditary optic neuropathy and complex I deficiency in muscle. *Annals of neurology* [online]. roč. 30, č. 5, s. 701–708. ISSN 0364-5134. Dostupné z: doi:10.1002/ana.410300511
- LEIGH, D. 1951. SUBACUTE NECROTIZING ENCEPHALOMYELOPATHY IN AN INFANT. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*. roč. 14, č. 3, s. 216–221 ISSN 0022-3050.
- LERTRIT, P., A. IMSUMRAN, P. KARNKIRAWATTANA, V. DEVAHASDIN, T. SANGRUCHI, L. ATCHANEEYASAKUL, C. MUNGKORNKARN a N. NEUNGTON. 1999. A unique 3.5-kb deletion of the mitochondrial genome in Thai patients with Kearns-Sayre syndrome. *Human genetics*. roč. 105, č. 1-2, s. 127–131. ISSN 0340-6717.
- LOVELAND, B., C. R. WANG, H. YONEKAWA, E. HERMEL a K. F. LINDAHL. 1990. Maternally transmitted histocompatibility antigen of mice: a hydrophobic peptide of a mitochondrially encoded protein. *Cell*. roč. 60, č. 6, s. 971–980. ISSN 0092-8674.
- MAN, P. Y. W., P. G. GRIFFITHS, D. T. BROWN, N. HOWELL, D. M. TURNBULL a P. F. CHINNERY. 2003. The Epidemiology of Leber Hereditary Optic Neuropathy in the North East of England. *American Journal of Human Genetics*. roč. 72, č. 2, s. 333–339 ISSN 0002-9297.
- MANCUSO, M., L. PETROZZI, M. FILOSTO, C. NESTI, A. ROCCHI, A. CHOUB, S. PISTOLESI, R. MASSETANI, G. FONTANINI a G. SICILIANO. 2007. MERRF syndrome without ragged-red fibers: the need for molecular diagnosis. *Biochemical and biophysical research communications* [online]. roč. 354, č. 4, s. 1058–1060. ISSN 0006-291X. Dostupné z: doi:10.1016/j.bbrc.2007.01.099
- MASHIMA, Y., K. KIGASAWA, H. HASEGAWA, M. TANI a Y. OGUCHI. 1996. High incidence of pre-excitation syndrome in Japanese families with Leber's hereditary optic neuropathy. *Clinical genetics*. roč. 50, č. 6, s. 535–537. ISSN 0009-9163.
- MEHRAZIN, M., S. SHANSKE, P. KAUFMANN, Y. WEI, J. COKU, K. ENGELSTAD, A. NAINI, D. C. DE VIVO a S. DIMAURO. 2009. Longitudinal Changes of mtDNA A3243G Mutation Load and Level of Functioning in MELAS. *American journal of medical genetics. Part A* [online]. roč. 149A, č. 4, s. 584–587 ISSN 1552-4825. Dostupné z: doi:10.1002/ajmg.a.32703
- MORAES, C. T., S. DIMAURO, M. ZEVIANI, A. LOMBES, S. SHANSKE, A. F. MIRANDA, H. NAKASE, E. BONILLA, L. C. WERNECK a S. SERVIDEI. 1989. Mitochondrial DNA deletions in progressive external ophthalmoplegia and Kearns-Sayre syndrome. *The New England journal of medicine* [online]. roč. 320, č. 20, s. 1293–1299. ISSN 0028-4793. Dostupné z: doi:10.1056/NEJM198905183202001
- NISHINO, I., A. SPINAZZOLA, A. PAPADIMITRIOU, S. HAMMANS, I. STEINER, C. D. HAHN, A. M. CONNOLLY, A. VERLOES, J. GUIMARÃES, I. MAILLARD, H. HAMANO, M. A. DONATI, C. E. SEMRAD, J. A. RUSSELL, A. L. ANDREU, G. M. HADJIGEORGIOU, T. H. VU, S. TADESSE, T. G. NYGAARD, I. NONAKA, I. HIRANO, E. BONILLA, L. P. ROWLAND, S. DIMAURO a M. HIRANO. 2000. Mitochondrial neurogastrointestinal encephalomyopathy: an autosomal recessive disorder due to thymidine phosphorylase mutations. *Annals of neurology*. roč. 47, č. 6, s. 792–800. ISSN 0364-5134.
- NUSSBAUM, R. L., R. R. MCINNES, H. F. WILLARD, P. GOETZ, J. THOMPSON, M. W. THOMPSON a Thompson & THOMPSON. 2004. *Klinická genetika*: [online]. S.l.: Triton. ISBN 9788072544752. Dostupné z: <http://books.google.de/books?id=Fb9NAAAACAAJ>

OGASAHARA, S., S. YORIFUJI, Y. NISHIKAWA, M. TAKAHASHI, K. WADA, T. HAZAMA, Y. NAKAMURA, S. HASHIMOTO, N. KONO a S. TARUI. 1985. Improvement of abnormal pyruvate metabolism and cardiac conduction defect with coenzyme Q10 in Kearns-Sayre syndrome. *Neurology*. roč. 35, č. 3, s. 372–377. ISSN 0028-3878.

OMAR, A. a L. N. JOHNSON. 2007. Tetracycline delays ocular motility decline in chronic progressive external ophthalmoplegia. *Neurology* [online]. roč. 68, č. 14, s. 1159–1160. ISSN 1526-632X. Dostupné z: doi:10.1212/01.wnl.0000258659.21421.b0

ORCESI, S., K. GORNI, C. TERMINE, C. UGGETTI, P. VEGGIOTTI, F. CARRARA, M. ZEVIANI, A. BERARDINELLI a G. LANZI. 2006. Bilateral putaminal necrosis associated with the mitochondrial DNA A8344G myoclonus epilepsy with ragged red fibers (MERRF) mutation: an infantile case. *Journal of child neurology*. roč. 21, č. 1, s. 79–82. ISSN 0883-0738.

POULTON, J., M. E. DEADMAN, S. RAMACHARAN a R. M. GARDINER. 1991. Germ-line deletions of mtDNA in mitochondrial myopathy. *American journal of human genetics*. roč. 48, č. 4, s. 649–653. ISSN 0002-9297.

PUOMILA, A., P. HÄMÄLÄINEN, S. KIVIOJA, M. SAVONTAUS, S. KOIVUMÄKI, K. HUOPONEN a E. NIKOSKELAINEN. 2007. Epidemiology and penetrance of Leber hereditary optic neuropathy in Finland. *European Journal of Human Genetics* [online]. roč. 15, č. 10, s. 1079–1089. ISSN 1018-4813. Dostupné z: doi:10.1038/sj.ejhg.5201828

QI, X., L. SUN, W. W. HAUSWIRTH, A. S. LEWIN a J. GUY. 2007. Use of mitochondrial antioxidant defenses for rescue of cells with a Leber hereditary optic neuropathy-causing mutation. *Archives of ophthalmology* [online]. roč. 125, č. 2, s. 268–272. ISSN 0003-9950. Dostupné z: doi:10.1001/archophth.125.2.268

RAHMAN, S., R. B. BLOK, H. H. DAHL, D. M. DANKS, D. M. KIRBY, C. W. CHOW, J. CHRISTODOULOU a D. R. THORBURN. 1996. Leigh syndrome: clinical features and biochemical and DNA abnormalities. *Annals of neurology* [online]. roč. 39, č. 3, s. 343–351. ISSN 0364-5134. Dostupné z: doi:10.1002/ana.410390311

RANTAMÄKI, M. T., H. K. SOINI, S. M. FINNILÄ, K. MAJAMAA a B. UDD. 2005. Adult-onset ataxia and polyneuropathy caused by mitochondrial 8993T-->C mutation. *Annals of neurology* [online]. roč. 58, č. 2, s. 337–340. ISSN 0364-5134. Dostupné z: doi:10.1002/ana.20555

RODRIGUEZ, M. Ch., J. R. MACDONALD, D. J. MAHONEY, G. PARISE, M. F. BEAL a M. A. TARNOPOLSKY. 2007. Beneficial effects of creatine, CoQ10, and lipoic acid in mitochondrial disorders. *Muscle & nerve* [online]. roč. 35, č. 2, s. 235–242. ISSN 0148-639X. Dostupné z: doi:10.1002/mus.20688

SHOFFNER, John M. 1993. Mitochondrial Neurogastrointestinal Encephalopathy Disease. In: Roberta A PAGON, Thomas D BIRD, Cynthia R DOLAN, Karen STEPHENS a Margaret P ADAM, ed. *GeneReviewsTM* [online]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle. [vid. 20. duben 2013]. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1179/>

SCHAPIRA, A H. 1989. Mitochondrial myopathies. *BMJ (Clinical research ed.)*. roč. 298, č. 6681, s. 1127–1128. ISSN 0959-8138.

SNUSTAD, D a Michael J SIMMONS. *Principles of genetics*. 5th ed. Hoboken, NJ: John Wiley, c2009, xix, 823 p. ISBN 04-703-9842-6.

SPELBRINK, J N, F Y LI, V TIRANTI, K NIKALI, Q P YUAN, M TARIQ, S WANROOIJ, N GARRIDO, G COMI, L MORANDI, L SANTORO, A TOSCANO, G M FABRIZI, H SOMER, R CROXEN, D BEESON, J POULTON, A SUOMALAINEN, H T JACOBS, M ZEVIANI a C LARSSON. 2001. Human mitochondrial DNA deletions associated with mutations in the gene encoding Twinkle, a phage T7 gene 4-like protein localized in mitochondria. *Nature genetics* [online]. roč. 28, č. 3, s. 223–231. ISSN 1061-4036. Dostupné z: doi:10.1038/90058

STRACHAN, T. a A. READ. *Human Molecular Genetics*. New York, USA: Garland Science, 2011. 4. ISBN 9780815341499.

SUTOVSKY, P, R D MORENO, J RAMALHO-SANTOS, T DOMINKO, C SIMERLY a G SCHATTEN. 2000. Ubiquitinated sperm mitochondria, selective proteolysis, and the regulation of mitochondrial inheritance in mammalian embryos. *Biology of reproduction*. roč. 63, č. 2, s. 582–590. ISSN 0006-3363.

TACHIBANA, M., M. SPARMAN, H. SRITANAUDOMCHAI, H. MA, L. CLEPPER, J. WOODWARD, Y. LI, C. RAMSEY, O. KOLOTUSHKINA a S. MITALIPOV. 2009. Mitochondrial gene replacement in primate offspring and embryonic stem cells. *Nature* [online]. roč. 461, č. 7262, s. 367–372. ISSN 1476-4687. Dostupné z: doi:10.1038/nature08368

TACHIBANA, M., P. AMATO, M. SPARMAN, J. WOODWARD, D. M. SANCHIS, H. MA, N. M. GUTIERREZ, R. TIPPNER-HEDGES, E. KANG, Hyo-Sang LEE, C. RAMSEY, K. MASTERSON, D. BATTAGLIA, D. LEE, D. WU, J. JENSEN, P. PATTON, S. GOKHALE, R. STOUFFER a S. MITALIPOV. 2013. Towards germline gene therapy of inherited mitochondrial diseases. *Nature* [online]. roč. 493, č. 7434, s. 627–631. ISSN 1476-4687. Dostupné z: doi:10.1038/nature11647

TANAKA, Masashi, Harm-Jan BORGELD, Jin ZHANG, Shin-ichi MURAMATSU, Jian-Sheng GONG, Makoto YONEDA, Wakako MARUYAMA, Makoto NAOI, Tohru IBI, Ko SAHASHI, Masayo SHAMOTO, Noriyuki FUKU, Miyuki KURATA, Yoshiji YAMADA, Kumi NISHIZAWA, Yukihiro AKAO, Nobuko OHISHI, Shigeaki MIYABAYASHI, Hiraku UMEMOTO, Tatsuo MURAMATSU, Koichi FURUKAWA, Akihiko KIKUCHI, Imaharu NAKANO, Keiya OZAWA a Kunio YAGI. 2002. Gene therapy for mitochondrial disease by delivering restriction endonuclease SmaI into mitochondria. *Journal of biomedical science* [online]. roč. 9, č. 6 Pt 1, s. 534–541. ISSN 1021-7770. Dostupné z: doi:64726

TAYLOR, R. W. a D. M. TURNBULL. 2005. Mitochondrial DNA mutations in human disease. *Nature reviews. Genetics* [online]. roč. 6, č. 5, s. 389–402. ISSN 1471-0056. Dostupné z: doi:10.1038/nrg1606

THORBURN, D. R. a S. RAHMAN. 1993. Mitochondrial DNA-Associated Leigh Syndrome and NARP. In: Roberta A PAGON, T. D. BIRD, C. R. DOLAN, Karen STEPHENS a Margaret P ADAM, ed. *GeneReviewsTM* [online]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle. [vid. 31. března 2013]. Dostupné z: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1173/archives_of_ophthalmology. roč. 60, č. 2, s. 280–289. ISSN 0096-6339.

WALLACE, D. C., G. SINGH, M. T. LOTT, J. A. HODGE, T. G. SCHURR, A. M. LEZZA, L. J. ELSAS 2nd a E. K. NIKOSKELAINEN. 1988. Mitochondrial DNA mutation associated with Leber's hereditary optic neuropathy. *Science (New York, N.Y.)*. roč. 242, č. 4884, s. 1427–1430. ISSN 0036-8075.

WANG, Zhao-xia, Yun YUAN, Feng GAO, Yu QI, Ding-guo SHEN a Qing-tang CHEN. 2003. [Mitochondrial DNA mutations in patients with chronic progressive external ophthalmoplegia and Kearns-Sayre syndrome]. *Zhonghua yi xue yi chuan xue za zhi = Zhonghua yixue yichuanxue zazhi = Chinese journal of medical genetics*. roč. 20, č. 4, s. 273–278. ISSN 1003-9406.

WHITE, S. L., V. R. COLLINS, R. WOLFE, M. A. CLEARY, S. SHANSKE, S. DIMAURO, H. H. DAHL a D. R. THORBURN. 1999. Genetic counseling and prenatal diagnosis for the mitochondrial DNA mutations at nucleotide 8993. *American journal of human genetics* [online]. roč. 65, č. 2, s. 474–482. ISSN 0002-9297. Dostupné z: doi:10.1086/302488

ZEVIANI, M, C. T. MORAES, S. DIMAURO, H. NAKASE, E. BONILLA, E. A. SCHON a L. P. ROWLAND. 1988. Deletions of mitochondrial DNA in Kearns-Sayre syndrome. *Neurology*. roč. 38, č. 9, s. 1339–1346. ISSN 0028-3878.

ZHU, Z, J. YAO, T. JOHNS, K. FU, I. DE BIE, C. MACMILLAN, A. P. CUTHBERT, R. F. NEWBOLD, J. WANG, M. CHEVRETTE, G. K. BROWN, R. M. BROWN a E. A. SHOUBRIDGE. 1998. SURF1, encoding a factor involved in the biogenesis of cytochrome c oxidase, is mutated in Leigh syndrome. *Nature genetics* [online]. roč. 20, č. 4, s. 337–343. ISSN 1061-4036. Dostupné z: doi:10.1038/3804

Elektronické zdroje

1. ZEMAN, Jiří. Mitochondriální poruchy energetického metabolismu. *Postgraduální medicína* [online]. 2002 [cit. 2013-02-15]. Dostupné z: <http://zdravi.e15.cz/clanek/postgradualni-medicina/mitochondrialni-poruchy-energetickeho-metabolismu-146714>
2. HOUŠTĚK, Josef a Hana HOUŠŤKOVÁ. Genetické aspekty mitochondriálních chorob. *Mladá fronta Zdravotnické noviny* [online]. 2001 [cit. 2013-02-15]. Dostupné z: <http://zdravi.e15.cz/clanek/priloha-lekarske-listy/geneticke-aspekty-mitochondrialnich-chorob-131477>
3. LEBER OPTIC ATROPHY. *OMIM* [online]. 1992, 2012 [cit. 2013-02-22]. Dostupné z: <http://www.omim.org/entry/535000>
4. MYOCLONIC EPILEPSY ASSOCIATED WITH RAGGED-RED FIBERS; MERRF. *OMIM* [online]. 1992, 2013 [cit. 2013-04-16]. Dostupné z: <http://omim.org/entry/545000>
5. Neuropathy, ataxia, and retinitis pigmentosa. *Genetics Home Reference* [online]. 2013 [cit. 2013-04-10]. Dostupné z: <http://ghr.nlm.nih.gov/condition/neuropathy-ataxia-and-retinitis-pigmentosa>
6. Denisova Cave and the Mystery of the mtDNA Phylogenetic Tree. *Rokus Blog* [online]. 2010 [cit. 2013-04-02]. Dostupné z: <http://rokus01.files.wordpress.com/2010/04/mtdna.png>
7. LEIGH SYNDROME; LS. *OMIM* [online]. 1986, 2013 [cit. 2013-04-10]. Dostupné z: <http://omim.org/entry/256000>
8. Mitochondriální poruchy. *Mitolab* [online]. 2008 [cit. 2013-02-18]. Dostupné z: <http://mitolab.lf1.cuni.cz/homepage.php?lang=cs&page=mitochondrialni-poruchy>
9. Mitochondrial encephalomyopathy, lactic acidosis, and stroke-like episodes. *Genetics Home Reference* [online]. 2006 [cit. 2013-03-22]. Dostupné z:

- <http://ghr.nlm.nih.gov/condition/mitochondrial-encephalomyopathy-lactic-acidosis-and-stroke-like-episodes>
10. DIMAURO, Salvatore a Michio HIRANO. MELAS. *GeneReviews* [online]. 2001, 2010 [cit. 2013-03-22]. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1233/>
 11. HONZÍK, T., M. TESAŘOVÁ, H. HANSÍKOVÁ, J. KRIJT, P. BENEŠ, J. ZÁMEČNÍK, L. WENCHICH a J. ZEMAN. Mitochondriální neurogastrointestinální encefalomyopatie (syndrom MNGIE). *Časopis lékařů českých* [online]. 2006 [cit. 2013-04-15]. Dostupné z: <http://www.prolekare.cz/casopis-lekaru-ceskych-clanek/mitochondrialni-neurogastrointestinalni-encefalomyopatie-syndrom-mngie-3133>
 12. Mitochondrial neurogastrointestinal encephalopathy disease. *Genetics Home Reference* [online]. 2013 [cit. 2013-04-22]. Dostupné z: <http://ghr.nlm.nih.gov/condition/mitochondrial-neurogastrointestinal-encephalopathy-disease>
 13. SCAGLIA, F. MELAS Syndrome. *Medscape REFERENCE* [online]. 2012 [cit. 2013-03-20]. Dostupné z: <http://emedicine.medscape.com/article/946864-overview#showall>
 14. MELAS Symptoms, Diagnosis, Treatments and Causes. *RIGHT DIAGNOSIS* [online]. last update 2013 [cit. 2013-03-20]. Dostupné z: <http://www.rightdiagnosis.com/m/melas/intro.htm>
 15. THORNBURN, David R. a Shamima RAHMAN. Mitochondrial DNA-Associated Leigh Syndrome and NARP. *GeneReviews* [online]. 2003, 2011 [cit. 2013-04-10]. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1203/>
 16. DIMAURO, Salvatore a Michio HIRANO. Mitochondrial DNA Deletion Syndromes. *GeneReviews* [online]. 2003, 2011 [cit. 2013-02-18]. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1203/>
 17. COHEN, Bruce H., Patrick F. CHINNERY a William C. COPELAND. POLG-Related Disorders. *GeneReviews* [online]. 2010, 2012 [cit. 2013-04-18]. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26471/>
 18. DIMAURO, Salvatore a Michio HIRANO. MERRF. *GeneReviews* [online]. 2003, 2009 [cit. 2013-04-16]. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1520/>
 19. Klinické a biochemické projevy u pacientů s mitochondriálním onemocněním. *Mitolab* [online]. 2008 [cit. 2013-02-18]. Dostupné z: <http://mitolab.lf1.cuni.cz/homepage.php?lang=cs&page=klinicke-priznaky>
 20. MITOCHONDRIAL MYOPATHY, ENCEPHALOPATHY, LACTIC ACIDOSES, AND STROKE-LIKE EPISODES; MELAS. *OMIM* [online]. 1992, 2013 [cit. 2013-03-22]. Dostupné z: <http://omim.org/entry/540000>

21. THYMIDINE PHOSPHORYLASE: TYMP. *OMIM* [online]. 1991, 2011 [cit. 2013-04-18].
Dostupné z: <http://omim.org/entry/131222>
22. SCHOFFNER, John M. Mitochondrial Neurogastrointestinal Encephalopathy Disease. *GeneReviews* [online]. 2005, 2010 [cit. 2013-04-18]. Dostupné z:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1179/>
23. KOOPMAN, W., F. DISTELMAIER, J. SMEITINK a P. WILLEMS. OXPHOS mutations and neurodegeneration. *The EMBO Journal* [online]. 2012 [cit. 2013-04-20]. Dostupné z:
<http://www.readcube.com/articles/10.1038/emboj.2012.300?tab=summary>
24. CHINNERY, Patrick F. Mitochondrial Disorders Overview. *GeneReviews* [online]. 2000, 2010 [cit. 2013-02-15]. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1224/>
25. Poruchy respiračního řetězce - klinické projevy. *Medicibaze.cz* [online]. změněno 2013 [cit. 2013-02-20]. Dostupné z:
http://medicabaze.cz/index.php?sec=term_detail&tname=Poruchy+respira%C4%8Dn%C3%ADho+%C5%99et%C4%9Bzce+-+klinick%C3%A9+projevy&termId=2365&h=mitochondri%C3%A1ln%C3%AD#jump
26. Mitochondrial DNA and Heritable Traits and Diseases: Introduction. *ACCESS Medicine* [online]. 2012 [cit. 2013-04-20]. Dostupné z: <http://dualibra.com/wp-content/uploads/2012/04/037800~1/Part%2018.%20e-Chapters%20from%20International%20Advisory%20Editors>