

Univerzita Karlova v Praze

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Biologie



Lenka Marková

Role mitochondrie v patogenezi

The role of mitochondria in the pathogenesis

Bakalářská práce

Vedoucí práce: Mgr. Pavel Doležal, Ph.D.

Praha, 2016

Poděkování:

Děkuji svému školiteli Mgr. Pavlu Doležalovi, Ph.D. za poskytnuté rady a za neocenitelnou pomoc při vypracování této bakalářské práce.

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci vypracovala samostatně a že jsem uvedla veškeré použité informační zdroje. Tato práce ani její část nebyla předložena k získání jiného akademického titulu.

V Praze, 12.5.2016

Podpis

Abstrakt

Tato práce je zaměřena na dosavadní poznatky týkající se postavení mitochondrie v patogenezi vybraných onemocnění. Představuje proteiny související s mitochondriemi, jejich funkce a metabolismus, především patogenetické děje probíhající při narušení jejich integrity. Dále shrnuje možná mitochondriální poškození, jejich průběh a následky, které mohou onemocnění vyvolat nebo zhoršit jejich průběh.

Práce se také věnuje závažnému nádorovému bujení, významným neurodegenerativním poruchám při Alzheimerově či Parkinsonově chorobě, syndromu Charcot-Marie-Tooth, amyotrofické laterální skleróze nebo autosomálně dominantní optické atrofii. Popisuje roli narušené mitochondriální dynamiky při diabetes mellitus 2. typu.

Na závěr uvádí roli mitochondrií a jejich poškození ve vztahu k nákaze parazity *Toxoplasma gondii* a *Trypanosoma cruzi*.

Klíčová slova

mitochondrie, patogeneze, rakovina, neurodegenerace, GRP78, A β , PINK1, parkin, diabetes mellitus 2. typu, *Toxoplasma gondii*, Chagasova choroba

Abstract

This thesis is focused on the existing data referring to role of mitochondria in the pathogenesis of several important diseases. It introduces mitochondrial proteins, their role and metabolism, dysfunction of which is behind pathogenetic processes. The thesis also summarizes possible mitochondrial damage, its progress and consequences, which can lead to diseases or aggravate their process.

It also pays attention to the role of mitochondria during oncogenesis as well as important neurodegenerative disorders such as Alzheimer's or Parkinson's disease, Charcot-Marie-Tooth disease, amyotrophic lateral sclerosis or autosomal dominant optic atrophy. The thesis mentions the role of disrupted mitochondrial dynamics in type 2 Diabetes.

In conclusion the thesis mentions the role of mitochondria and their damage in relation to infection by the parasites *Toxoplasma gondii* and *Trypanosoma cruzi*.

Keywords

mitochondria, pathogenesis, cancer, neurodegeneration, GRP78, A β , PINK1, parkin, type 2 diabetes mellitus, *Toxoplasma gondii*, Chagas disease

Obsah

1 Úvod.....	1
2 Nádorové bujení	2
2.1 Respirace.....	2
2.1.1 Warburgův efekt.....	3
2.1.2 Hem	3
2.2 Oxidativní stres	4
2.2.1 Karbonylace	4
2.3 Unfolded protein response a nádorové bujení.....	5
2.3.1 GRP78.....	5
2.3.2 Změny mitochondriálního genomu.....	6
3 Jiná závažná onemocnění.....	7
3.1 Neurodegenerativní onemocnění	7
3.1.1 Alzheimerova choroba.....	8
3.1.1.1 A β	9
3.1.1.2 Drp1.....	10
3.1.2 Parkinsonova choroba.....	11
3.1.2.1 Bax.....	12
3.1.2.2 Parkin, PINK1	13
3.1.3 Syndrom Charcot-Marie-Tooth.....	14
3.1.4 Amyotrofická laterální skleróza	15
3.1.4.1 SOD1.....	15
3.1.4.2 TDP-43.....	17
3.1.5 Autosomálně dominantní optická atrofie.....	18
3.2 Diabetes mellitus 2. typu	19
3.2.1 UCP2.....	19
4 Poškození mitochondrií během parazitických infekcí.....	21
4.1 Chagasova choroba	21
4.2 Nákaza <i>Toxoplasma gondii</i>	21
4.2.1 ROP18.....	22
4.2.2 MAF1.....	23
5 Závěr	23
6 Seznam používaných zkratk.....	24
7 Seznam použité literatury	25

1 Úvod

Mitochondrie jsou dvoumembránové organely eukaryotických buněk se specializovanou strukturou, umístěné v cytosolu eukaryot. Na příčném řezu organelou je struktura rozdělena na čtyři celky: vnitřní a vnější mitochondriální membránu, oddělené mezimembránovým prostorem, a matrix, vyplňující vnitřní prostor mitochondrie. V mitochondriální matrix se nachází množství proteinů a mitochondriální genom v podobě kruhové molekuly dvouvláknové DNA, který je pozůstatkem chromosomu původní endosymbiotické α -proteobakterie. V současných mitochondriích však kóduje jen několik proteinů, neboť naprostá většina mitochondriálních genů je součástí jaderného genomu. Hlavní funkcí mitochondrií je produkce buněčného ATP, dále v nich probíhá syntéza Fe-S center, hemu, některých aminokyselin a lipidů. V neposlední řadě se také účastní buněčné signalizace a programované buněčné smrti.

Strukturně a funkčně zdravé mitochondrie jsou pro buňky velice důležité a narušení jejich klíčových procesů mívá na buňku fatální dopad. Podílí se na vzniku a rozvoji různých onemocnění, mezi něž patří např. rakovina, kardiovaskulární choroby nebo neurodegenerativní onemocnění. Nejčastěji k poruchám mitochondriální funkce dochází prostřednictvím mutací mtDNA, zvýšenou přítomností oxidativního stresu a narušením produkce ATP. Fatální vliv na mitochondrie má také defekt autofágie, selektivně odstraňující poškozené mitochondrie, snížení antioxidační aktivity nebo narušení homeostázy vápníku v buňce. V současné době existuje o mitochondriích, jejich fungování a poškozeních velké množství poznatků, ale pohled na ně je natolik komplikovaný, že často lze jen velmi těžko u onemocnění a poruch odlišit, co je příčina a co následek.

Cílem této bakalářské práce je shrnout dosavadní poznatky o narušení mitochondriálních funkcí a jejich roli v patogenezi vybraných onemocnění. Práce jmenuje nejdůležitější proteiny, jejichž pozměněná funkce se na vzniku a rozvoji těchto onemocnění podílí.

2 Nádorové bujení

Nádorové bujení je charakterizováno jako nekontrolovatelný růst a dělení buněk spojené s jejich rezistencí k programované buněčné smrti. Přeměna zdravé buňky v nádorovou je často spojena nejen s morfologickými změnami, ale i s mutacemi v genech a změnami v metabolismu buňky. Právě metabolické změny mitochondrií hrají klíčovou roli v progresi nádoru včetně jeho metastáz (LeBleu et al., 2014). Takové změny se mohou týkat např. buněčné respirace, produkce reaktivních forem kyslíku (ROS) nebo apoptózy. Některé typy rakoviny mohou být zapříčiněny i prostým stárnutím člověka. V průběhu života buněk dochází k hromadění mutací v mitochondriálním genomu jako následek mnohonásobné replikace mtDNA, čemuž navíc napomáhá přítomnost oxidativního stresu. K mutacím dochází především v tkáních, které jsou více okysličovány, jako je např. mozek nebo srdeční sval. Pokud procento mutací překročí únosnou hranici, dojde ke změnám a defektům v mitochondriální oxidativní fosforylaci (Chinnery et al., 2002).

2.1 Respirace

Obecně platí, že mitochondriální respirace znamená redukci molekul kyslíku na vodu za vzniku protonového gradientu. Při následujícím procesu, oxidativní fosforylaci, dochází ke vzniku ATP pomocí fosforylace ADP, kdy je ATP syntáza poháněna právě proudem protonů. Podle několika nedávných studií mohou rakovinné buňky přepojovat různé metabolické dráhy, aby dosáhly zintenzivnění anabolických reakcí. Mohou například oddělit Krebsův cyklus od mitochondriální oxidativní fosforylace nebo mitochondriální respiraci od produkce ATP. Z tohoto důvodu mají pravděpodobně rakovinné buňky oproti těm zdravým z hlediska proliferace výhodu. Ne kvůli větší syntéze makromolekul, ale právě kvůli výše zmíněnému strategickému přepojování metabolických toků (Kim, 2015*). Z výsledků několika studií vyplývá, že mitochondriální respirace a činnost komplexů elektron transportního řetězce jsou pro proliferaci nádoru nezbytné (Birsoy et al., 2015; Sullivan et al., 2015).

2.1.1 Warburgův efekt

Změn mitochondriálního metabolismu během nádorové transformace se týká i tzv. Warburgův efekt, který popisuje změnu metabolismu nádorové buňky z aerobní respirace na anaerobní glykolýzu. U nádorových buněk dochází k vysoké produkci laktátu (přibližně desetkrát větší než u zdravé buňky) z glukózy i přes dostatečnou hladinu kyslíku, jež by umožňovala aerobní respiraci (Hooda et al., 2013). Vzhledem k tomu, že energetický výnos z glykolýzy je mnohem menší než z mitochondriální respirace, dospěl Warburg k názoru, že v nádorových buňkách dochází k mitochondriální dysfunkci a právě to podle něj stojí za vznikem nádorového bujení. Nicméně v průběhu času se ukázalo, že Warburgův efekt je pouze sekundárním znakem metabolismu nádorových buněk, který však hraje důležitou roli v rozvoji patogeneze (Senyilmaz a Telemán, 2015).

Ačkoliv mnoho nádorových buněk vykazuje nárůst anaerobní glykolýzy pro výrobu energie, vyvíjející se experimentální data poukazují na to, že pro metabolismus některých rakovinných buněčných linií (např. HeLa, 143b nebo U937) je mitochondriální respirace velice důležitá (Herst a Berridge, 2007). Několik studií například dokazuje, že u buněk rakoviny prsu dochází dokonce k jejímu zesílení (Kaambre et al., 2012; Whitaker-Menezes et al., 2011).

2.1.2 Hem

Hem patří mezi klíčové molekuly mitochondrií a s nimi souvisejícího oxidativního metabolismu. Slouží zde jako prostetická skupina cytochromů mitochondriálního dýchacího řetězce. Je velice důležitý pro přepravu a skladování kyslíku, kontrolu oxidativního poškození nebo pro sestavování a aktivitu komplexů II a IV elektron-transportního řetězce, narušení jeho funkce má tedy samozřejmě na mitochondrie i na organismus výrazný dopad. Také část jeho syntézy probíhá v mitochondriích, včetně finálního kroku. Ostatní kroky probíhají v cytosolu (Ryter a Tyrrell, 2000*).

Při srovnání zdravých buněk a buněk nádorových bylo zjištěno, že během buněčné transformace došlo k výraznému vzrůstu syntézy hemu, která dále vede ke zvýšení hladiny hemových proteinů využívajících kyslík v mitochondriích i v jiných částech buňky (cytochrom c, cytoglobin, atp.). Nárůst hladiny těchto proteinů umožňuje

nádorovým buňkám posílit mitochondriální respiraci za zvýšení spotřeby kyslíku, čímž vzniká dostatečné množství energie pro plnou progresi, migraci a tvorbu kolonií těchto buněk. Pokud se nádorové buňky nacházejí v prostředí chudém na hem nebo dojde k inhibici jeho syntézy pomocí sukcinyl acetonu nebo CCCP (karbonyl kyanid m-chlorofenylhydrazon), dojde také ke snížení jejich spotřeby kyslíku a celkové respirace, což vede k zastavení proliferace nádoru (Hooda et al., 2013). Role hemu je tedy velice významná i pro nádorové buňky.

2.2 Oxidativní stres

Oxidativní stres je charakterizován jako porušení rovnováhy mezi produkcí volných radikálů a jejich odstraňováním z organismu. Mitochondrie přítomné v nádorových buňkách jsou typické vysokou nadprodukcí ROS elektron transportním řetězcem, jejichž produkce je za normálních podmínek přísně regulována (Alam et al., 2016).

Mutace mitochondriálního genomu způsobené samotným nádorem narušují oxidativní fosforylaci, což má za následek další produkci ROS mitochondriemi a podporu dalšího nádorového bujení. Tímto se mechanismus uzavírá do jakéhosi „začarovaného kruhu“ mezi mitochondrií, jejím genomem a dalším rozvojem rakoviny (Yang et al., 2016). Dysfunkce proteinů vlivem jejich oxidace může vést ke všem fázím karcinogeneze: iniciační tumor, jeho propagace a progrese.

Jsou to právě ROS, které jsou nezbytné pro buněčnou proliferaci nádoru a dokáží ji také regulovat prostřednictvím jedné z klíčových signálních drah buněčného cyklu, Ras-dependentní extracelulárními signály regulovanou ERK1/2 MAP kinázovou drahou. ROS v tomto případě slouží jako signální molekuly snižující hladinu ERK1/2 na úroveň, která umožňuje indukci proliferace nádorových buněk a jejich růst. Přítomnost vysoké hladiny ERK1/2 by naopak způsobila zastavení proliferace (Weinberg et al., 2010).

2.2.1 Karbonylace

Vlivem oxidativního stresu může docházet také k posttranslační modifikaci známé jako „karbonylace“. Jedná se o formu oxidace, která vzniká během oxidativních stresových podmínek, jejichž vlivem dojde k zavedení karbonylové skupiny do proteinů. Karbonylace zahrnuje mnoho chemických modifikací, mezi které patří např. přímá

oxidace aminokyselinových zbytků indukovaná přítomností hydroxylových radikálů (Møller et al., 2011*).

Karbonylové sloučeniny mají samozřejmě stejně jako oxidativní stres negativní účinky na organismus. Karbonylace proteinů a aminokyselin je velice stabilní a není přirozeně odstraňována (Dalle-Donne et al., 2003). Např. karbonylace HSP70 způsobuje jeho nefunkčnost, což vede k dalšímu nárůstu oxidativního stresu. Karbonylací je modifikován i inhibitor serinových proteáz A1AT. Tyto proteázy jsou produkovány rakovinnými buňkami ke štěpení extracelulární matrix pro usnadnění progresu nádoru (Thanan et al., 2015). Bylo prokázáno, že sérová koncentrace karbonylovaného A1AT se zvyšuje u pacientů trpících některými typy rakoviny, například cholangiokarcinomem (Jamnongkan et al., 2013). Zvýšená hladina karbonylovaných proteinů byla také prokázána jako jedno z rizik vzniku rakoviny prsu (Zipprich et al., 2009).

2.3 Unfolded protein response a nádorové bujení

Oxidativní stres a produkce volných radikálů mohou indukovat také tzv. „unfolded protein response“ (UPR). Jedná se o specifickou buněčnou dráhu, jejímž cílem je zabránit hromadění nesložených a špatně složených proteinů v endoplasmatickém retikulu. Odpovědí pak většinou bývá zvýšení exprese chaperonů a dočasné snížení translace ostatních proteinů (Nagelkerke et al., 2014*). V případě selhání této odpovědi organismu nebo při příliš vysoké koncentraci těchto nedokonalých proteinů dochází k indukci buněčné apoptózy vedoucí ke smrti buněk, a tím k zastavení růstu nádoru. Stresem indukovaná apoptóza je zapletená do řady onemocnění, včetně rakoviny a její léčby.

Hlavní dráha vyvolávající UPR v nádorech je ale zprostředkována hypoxií. Právě tato hypoxií indukovaná UPR je pro nádorové buňky velice důležitá, protože paradoxně umožňuje také jejich přežití a proliferaci vedoucí k růstu nádoru a tím k dalšímu zvýšení hypoxie v nádoru (Bi et al., 2005; Vandewynckel et al., 2013).

2.3.1 GRP78

U několika typů rakoviny byla zjištěna chronicky zvýšená exprese chaperonu GRP78, která kromě jiného koreluje se zvýšenou proliferací a agresivitou nádoru nebo

s rezistencí na chemoterapeutika (Zhang et al., 2006). GRP78, 78kDa velký glukózou řízený protein, je specificky indukován v buňkách pod vlivem UPR. Obvykle se nachází v endoplazmatickém retikulu, ale bylo zjištěno, že u stresovaných buněk je jeho významná část lokalizovaná hlavně v mitochondriích, a to v mezimembránovém prostoru, v matrix a dále v asociaci s vnitřní membránou. Podle některých výzkumů je přesun GRP78 do mitochondrie odpovědí na UPR (Sun et al., 2006). Kromě mitochondrie se vlivem stresu může GRP78 translokovat do jádra nebo na povrch nádoru. Obecně funkce GRP78 v nádorových buňkách spočívá ve stimulaci jejich proliferace, ochraně proti apoptóze a v podpoře angiogeneze nádoru. Forma GRP78 nacházející se na buněčném povrchu slouží naopak jako receptor pro pro-apoptické ligandy, například Kringle-5 nebo Par-4 (Burikhanov et al., 2009; Davidson et al., 2005).

U hepatocelulárního karcinomu bylo pozorováno, že GRP78 může při zvýšení exprese přispívat k invazivitě nádoru také aktivací FAK kinázy prostřednictvím fosforylace Y397 (Su et al., 2010). Fosforylace umožňuje invazivitu pomocí aktivace uPAS (Urokinase-type plasminogen activator system) (Tang et al., 1998).

2.3.2 Změny mitochondriálního genomu

U mnoha typů nádorů (např. nádory prsní tkáně, kolorektální karcinom atp.) byl v průběhu kancerogeneze zjištěn výrazný pokles (4977bp) počtu kopií mtDNA, pravděpodobně související s mutacemi v tzv. D-smyčce mtDNA. Pokles množství mtDNA má za následek poškození mitochondrií následované změnami v energetickém metabolismu a nárůstem ROS. Po delecí mtDNA totiž dochází ke ztrátě genů kódujících podjednotky cytochrom c oxidázy, komplexu I respiračního řetězce a ATPázy (Tseng et al., 2006). Snížení počtu mtDNA kopií tak logicky narušuje i mitochondriální membránový potenciál.

U některých typů nádorů (např. u nádorů plic) bylo naopak objeveno, že z hostitelských buněk vyskytujících se v mikroprostředí nádoru dochází k horizontálnímu přenosu mtDNA do nádorových buněk, které mají extrémně poškozenou mitochondriální respiraci. Tyto děje vedou k úplnému obnovení respirace a zvýšení účinnosti tvorby metastáz (Tan et al., 2015). Vzhledem k tomu, že zatím není znám žádný mechanismus mezibuněčného přenosu mtDNA, pravděpodobně dochází k přenosu celých mitochondrií. Ohledně mechanismu, jakým k přenosu dochází, existuje

několik hypotéz. Jedna z nich předpokládá, že při přenosu dochází k tvorbě nanotrubiček, kterými se mohou mitochondrie mezi buňkami pohybovat (Rustom et al., 2004). Jiné hypotézy hovoří např. o membránových váčcích nebo o buněčné fúzi. Pro nádor je velice důležitá minimální hladina poškozených mitochondrií, při které může být zahájen přenos mitochondrií funkčních. Pokud dojde ke snížení počtu kopií mtDNA pod tuto hladinu, nemůže dojít k obnovení mitochondriální respirace a tvorba nových nádorů je zpomalena (Dickinson et al., 2013).

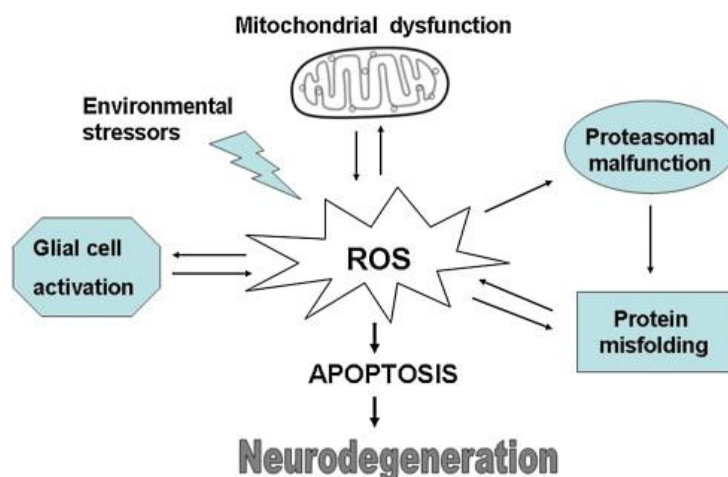
3 Jiná závažná onemocnění

Mitochondrie jsou pro buňku esenciální a jejich poškození má fatální následky. Bez ohledu na mechanismus je společným konečným rysem narušení činnosti dýchacího řetězce nebo celkové selhání mitochondrie, což vede k široké škále poruch v závislosti na typu dotčených buněk.

3.1 Neurodegenerativní onemocnění

Je dobře známo, že nervový systém je na mitochondriální dysfunkci velmi citlivý. Neurodegenerativní onemocnění jsou velice různorodá skupina vyznačující se pomalou progresivní ztrátou neuronů apoptotickou smrtí prostřednictvím proteinu BAX (viz. kapitola 3.1.2 Parkinsonova choroba) (Zhang et al., 2002), jejichž přesná příčina vzniku nebyla dosud zcela objasněna.

Hlavním důvodem náchylnosti nervových buněk k mitochondriálnímu poškození jsou jejich vysoké energetické nároky a vysoká citlivost na přítomnost ROS (Cha et al., 2012). Podle mnohých studií je to právě mitochondriální dysfunkce, kdo stojí za vznikem mnoha neurodegenerativních onemocnění, včetně Alzheimerovy a Parkinsonovy choroby (Swerdlow et al., 2010). Mezi hlavní faktory vedoucí až k neurodegeneraci patří mutace mitochondriálního genomu, defekty mitochondriální dynamiky, přítomnost ROS, působení vnějších faktorů nebo dysfunkce spojené s agregací nedokonale sbalených proteinů (viz. obr. 1).



Obrázek 1: Patogenní mechanismy vedoucí k neurodegeneraci. Neurodegenerativní onemocnění mohou být způsobena kombinací patogenních vlivů, mezi něž patří dysfunkce mitochondrií, stresory vnějšího prostředí nebo aktivace gliových buněk. Všechny tyto děje vedou k produkci ROS narušující funkčnost proteasomu, což způsobuje nedokonalé sbalování proteinů a tím následně další nárůst ROS. Vše poté může vyústit až v jeden z hlavních patogenních mechanismů, a to v apoptózu nervových buněk (Převzato z Federico et al., 2012).

3.1.1 Alzheimerova choroba

Alzheimerova choroba patří mezi nejběžnější formu demence u populace s prevalencí 30 milionů lidí po celém světě. I přes to, že je toto onemocnění již velice dlouho dobu ve středu výzkumu, se dosud nepodařilo rozluštit, jaké hlavní spouštěcí mechanismy se za ním skrývají. V současné době neexistuje ani žádná účinná léčba, která by alespoň zpomalila jeho progresi (Holtzman et al., 2011). Největším známým rizikovým faktorem je pokročilý věk, zejména okolo šedesátého roku života a po něm.

Alzheimerovu chorobu (AD) lze rozdělit na dvě formy, autosomálně dominantní a sporadickou. Sporadická forma souvisí především s mitochondriálními dysfunkcemi způsobenými věkem organismu (viz. dále) (Swerdlow a Khan, 2009).

Mezi hlavní charakteristiky autosomálně dominantní formy Alzheimerovy choroby patří tvorba extracelulárních plaků obsahujících β -amyloidní prekurzorový protein (APP) (Chambers et al., 2012) a interneuronální tvorba neurofibrilárních klubek skládajících se převážně z agregovaných forem proteinu tau asociovaného s mikrotubuly (MAP) (Yu et al., 2004). Tau protein je hyperfosforylován na serinových a threoninových zbytcích, a právě tato fosforylace pravděpodobně umožňuje jeho agregaci (Chambers et

al., 2012). Zajímavé ovšem je, že tyto příznaky byly pozorovány i u osob, kteří žádnou formou demence netrpí.

APP patří mezi integrální membránové proteiny nervových buněk a je produkován v několika izoformách (APP695, APP751, APP770). Poslední dvě formy obsahují KPI doménu (Kunitz type protease inhibitor domain), APP770 ještě navíc doménu OX-2 (antigen lymfoidních buněk odvozených od thymu), což má pravděpodobně za následek pokles exprese mitochondriálních enzymů, mimo jiné také cytochrom c oxidázy. Přesná příčina vedoucí k poklesu exprese zatím není známá, ale některé studie již prokázaly, že dochází poklesu aktivity jednotlivých enzymů a membránového potenciálu. U izoformy APP695 obě domény schází (Chua et al., 2013). V poslední době bylo zaznamenáno několik důkazů poukazujících na možnou souvislost AD s tvorbou autofágických vakuol (AV) spojených s mitochondriální apoptotickou drahou. Tyto vakuoly se hromadí na poškozených neuronech (Yu et al., 2004). Vlastní jev bohužel zatím není dostatečně prozkoumán, nicméně bylo zjištěno, že v časných stádiích onemocnění může docházet k paraptóze, což vede k poškození mitochondrií a progresi nemoci (Jia et al., 2015). Následně dochází ke snížení exprese antiapoptotického proteinu Bcl-2 a zvýšení exprese pro-apoptotického proteinu Bax, který patří mezi klíčové biomarkery apoptózy. Právě na rovnováze mezi těmito dvěma členy závisí přežití buňky nebo její smrt (Yan et al., 2012).

3.1.1.1 A β

Mezi charakteristiky Alzheimerovy choroby patří i oxidativní stres pocházející od agregátů amyloidního β -peptidu (A β). Tento peptid způsobující smrt neuronů vzniká štěpením APP a může agregovat jak extracelulárně, tak intracelulárně v endoplazmatickém retikulu, Golgiho komplexu a především v mitochondrii (Choy et al., 2012). Přímá souvislost mitochondrií a ukládání A β peptidu ale zatím nebyla prokázána (Cha et al., 2012). Nicméně v souvislosti s přítomností tohoto peptidu bylo zjištěno funkční poškození dýchacího řetězce, zejména na komplexu I a IV (Picone et al., 2014). Agregáty A β působí jako silné toxiny blokující proteazom, mitochondriální respiraci a indukují zánětlivé procesy (Endoh et al., 1999; Picone et al., 2014). Pod vlivem A β dochází také k produkci H₂O₂, přesný mechanismus této oxidace nebyl dosud objeven. Pravděpodobně dochází k redukci Cu (II) a následné přímé spolupráci s A β , kdy

A β může sloužit jako jeho kofaktor (Huang et al., 1999). Prostřednictvím intracelulární kaskády následuje tvorba reaktivních forem kyslíku, které postihují zejména proteiny membránových kanálů (Alzheimer et al., 2014).

S Alzheimerovou chorobou i ostatními neurodegenerativními onemocněními je spojena reakce superoxidového aniontu s oxidem dusnatým, následkem čehož vzniká velice reaktivní peroxynitridový aniont. Poté dochází k nevratné reakci s tyrosinovými zbytky proteinu, nazývané „nitrotyrosinace“ (Smith et al., 1997; Tajes et al., 2014a). Jedním z nejvíce nitrotyrosinovaných proteinů je glykolytický enzym triózafosfát izomeráza (TPI) (Tajes et al., 2014b).

3.1.1.2 Drp1

U postižených pacientů byly v nedávné době zjištěny změny v mitochondriální dynamice, a to v interakci A β s proteinem Drp1 účastnícím se mitochondriálního dělení. Dochází k nárůstu mitochondriální fragmentace, k narušení axonálního transportu a synaptické degeneraci (Manczak et al., 2011). Bylo také zjištěno, že Drp1 interaguje s fosforylovaným tau proteinem, což pravděpodobně vede k dalšímu zhoršení poškození neuronů a kognitivních funkcí (Manczak a Reddy, 2012). S progresí onemocnění dochází ke zvyšování těchto abnormálních interakcí (Manczak et al., 2011).

3.1.1.3 Teorie mitochondriální kaskády

V roce 2004 byla navržena tzv. teorie mitochondriální kaskády, jako možná příčina vzniku neurodegenerativních onemocnění (Alzheimerova choroba, Parkinsonova choroba, sporadická amyotrofická laterální skleróza aj.) (Domingues et al., 2008; Swerdlow a Khan, 2009). Hypotéza předpokládá, že konkrétní genetická výbava definuje každému jednotlivci nejenom základní mitochondriální metabolismus, ale i jeho odolnost. V podstatě dochází k jakési determinaci hranice poškození, po jejímž překročení může toto onemocnění propuknout (Swerdlow et al., 2010). Tato hypotéza se opírá o přirozené hromadění mutací a poškozování mitochondrií spojené s narůstajícím věkem organismu, a tím snižování jejich funkce. Jelikož všechny mitochondrie jedince pocházejí od matky, maternálně děděný genetický faktor má na propuknutí AD velký dopad (Brand et al., 1992). Na propuknutí AD ovšem nemá vliv

pouze mtDNA, zvýšení rizika propuknutí nemoci může být ovlivněno také dědičností DNA jaderné. Ačkoliv je úmysl tuto hypotézu aplikovat pouze na případy sporadické formy choroby, lze najít spojitosti i s autosomálně dominantní formou a tím přispět k jejímu výzkumu. Při AD dochází kromě jiných enzymů také ke snížení aktivity cytochrom oxidázového komplexu (CO) (Swerdlow a Khan, 2009). CO se skládá z 13 podjednotek, z nichž 3 jsou kódovány mtDNA. Jako finální článek elektron transportního řetězce CO přijímá elektrony od cytochromu c a předává je na kyslík. Při propuknutí onemocnění se činnost tohoto enzymatického komplexu sníží zhruba o 10-50% (Cardoso et al., 2004; Valla et al., 2006). Některé studie naznačují, že za pokles aktivity komplexu CO jsou zřejmě zodpovědné mitochondriálně kódované podjednotky. Přesný mechanismus však bohužel zatím není znám (Coon et al., 2006).

3.1.2 Parkinsonova choroba

Parkinsonova choroba (PD) je druhé nejčastější neurodegenerativní onemocnění. Vyznačuje se hlavně selektivní degenerací dopaminergních neuronů v substantia nigra pars compacta, způsobující motorické dysfunkce jako je tuhost, třes nebo bradykineze. Dalším charakteristickým znakem je přítomnost proteinových inkluzí známých jako „Lewyho tělíška“. Mechanismus degenerace zůstává zatím neznámý, nicméně se předpokládá, že velkou roli v patogenezi hraje oxidativní stres. Pro toto onemocnění nebyla zatím objevena účinná léčba, stejně jako u Alzheimerovy choroby. Dosud bylo zjištěno několik patogenních mechanismů, např. mitochondriální poškození a oxidativní stres, hromadění chybně složených proteinů nebo apoptóza (Tsang a Chung, 2009*).

Právě mitochondriální poškození hraje v PD jasnou roli. Substantia nigra u postižených pacientů vykazuje sníženou aktivitu mitochondriálního respiračního řetězce. Dochází totiž k poškození mitochondriálního komplexu I, čímž se sníží produkce ATP a zvýší se produkce ROS, které v další vlně opět inhibují komplex I (Schapira, 2008*).

Mezi další patogenní mechanismy zapojené do PD patří apoptóza, excitotoxicita (proces, při kterém jsou nervové buňky poškozeny nebo úplně zničeny nadměrnou stimulací neurotransmitery), narušení homeostázy vápníku nebo zánět (viz. obr. 2).

3.1.2.1 Bax

Stejně jako u ostatních neurodegenerativních onemocnění, i zde hraje velmi významnou roli zvýšení citlivosti nervových buněk k apoptóze závislé na mitochondriích kvůli oxidativnímu poškození a aktivaci pro-apoptického proteinu Bax (Perier et al., 2005). Protein, složený ze tří domén (BH1, BH2 a BH3, která je důležitá pro apoptotickou činnost), je ve zdravé buňce umlčený a nachází se v cytosolu nebo ve volné asociaci s mitochondrií. Po aktivaci dojde k jeho translokaci a oligomerizaci ve vnější mitochondriální membráně, uvolnění cytochromu c a následné aktivaci kaspázové kaskády, což v konečném důsledku vede ke smrti buňky (Roucou a Martinou, 2001). Mechanismus translokace Bax proteinu zůstává neznámý.

Podle některých studií vychází poškození komplexu I (viz. kapitola 3.1.2) z kaskády, vedoucí od změn mitochondriální oxidativní fosforylace až k aktivaci programované buněčné smrti. Komplex I může být inhibován například pomocí MPTP (1-metyl-4-fenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridin) (Perier et al., 2007), což je neurotoxin vyskytující se v pesticidech, herbicidech, umělých hnojivech nebo průmyslových zplodinách. Existují tedy hypotézy hovořící o možném vztahu výskytu PD a expozici těmto látkám (Allen a Levy, 2013). ROS mimo mitochondrie poškozuje také jadernou DNA, což vede k aktivaci proteinu p53, který dále reguluje transkripci Bax (Perier et al., 2007).



Obrázek 2: Patogenní mechanismy způsobující oxidativní stres vedoucí k neuronální buněčné smrti. Metabolismus dopaminu, zánět a excitotoxicita přispívají k tvorbě ROS a RNS. Hlavní patogenní cesty vedoucí ke smrti buněk jsou dysfunkce proteolytického systému, způsobující dále agregaci špatně složených proteinů, a dysfunkce mitochondrií, která způsobuje další oxidativní stres a snížení produkce ATP. RNS také poškozuje mitochondrie. (Převzato z Tsang a Chung, 2009).

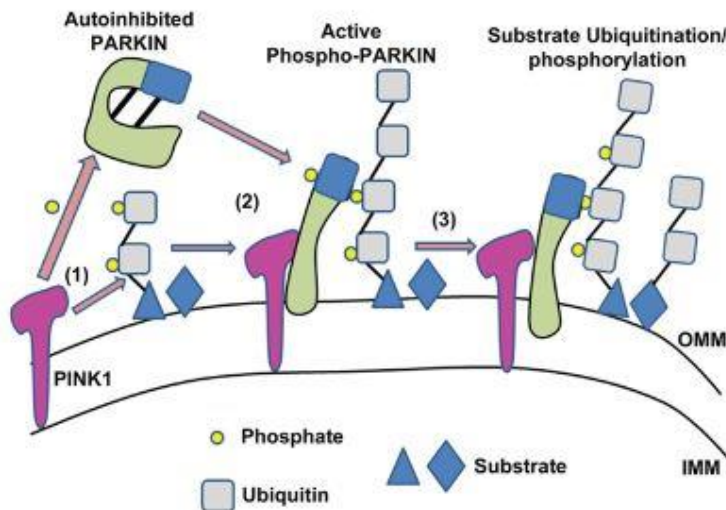
3.1.2.2 Parkin, PINK1

V poškození buněk u PD hraje důležitou roli poškození mitochondrií. V buňce existuje systém proteinů, které kontrolují oxidativní poškození a kvalitu mitochondrií. V konečném důsledku zajistí odstranění poškozených mitochondrií, jejichž přítomnost je pro buňky škodlivá. Mezi takové proteiny patří Parkin a PINK1. Parkin, E3-ubiquitin ligáza, je protein asociovaný s několika buněčnými organelami a v buňce se účastní ubiquitinační dráhy pro odbourávání proteinů (Shimura et al., 2000). Mutace v tomto proteinu byly objeveny u pacientů, u kterých PD propukla ve věku nižším než 20 let (Lücking et al., 2000). Důsledkem těchto mutací je ztráta ubiquitin-ligázové aktivity Parkin proteinu (Shimura et al., 2000).

Protein PINK1 je serin/threonin kináza lokalizovaná na vnitřní mitochondriální membráně. Tato 63kDa velká kináza obsahuje 8kDa N-terminální signální sekvenci do mitochondrie (Silvestri et al., 2005). Pomocí ní a transportních TOM a TIM kanálů se dostává do mitochondrie a cestou podstupuje sérii proteolytických štěpení, jež zredukuje její velikost na 52kDa (Greene et al., 2012). Ke svému transportu přes vnitřní mitochondriální membránu také vyžaduje aktivní protonový gradient. Depolarizace mitochondriální membrány zabraňuje importu PINK1 v plné délce a vede k jeho akumulaci na vnějším povrchu poškozených mitochondrií (Greene et al., 2012; Grenier et al., 2014; Kane et al., 2014). U mnoha pacientů s časným nástupem PD, většinou okolo 40 let věku, byly zjištěny mutace v kinázové oblasti PINK1 snižující účinnost její autofosforylace (Valente et al., 2004). Kromě mutací byla také zpozorována tvorba neuronálních inkluzí z amorfni hmoty a filament cytoskeletu - Lewyho tělísek (Gandhi et al., 2006).

Mnoho aspektů týkajících se fungování proteinů Parkin a PINK1 nebylo zatím objeveno, nicméně některá data poukazují na to, že se oba podílejí na stejné složité patogenetické dráze ovlivňující mitochondriální morfologii a metabolismus (Clark et al., 2006). Bylo zjištěno, že v přítomnosti katalyticky aktivního PINK1 dochází k přesunu Parkin z cytosolu, kde je neaktivní, do vnější membrány poškozených mitochondrií, kde podporuje jejich odstraňování pomocí autofágie, někdy označované jako „mitofágie“ (viz. obr. 3) (Geisler et al., 2010). Mezi nejčastější cíle Parkin zprostředkované ubiquitinace patří mitofusiny 1 a 2, GTPázy nezbytné pro mitochondriální fúzi (Tanaka et al., 2010).

Jejich odbouráním dojde k vzájemné izolaci a fragmentaci mitochondrií, což je velmi důležitý krok oddělující poškozené mitochondrie od zdravých.



Obrázek 3: Aktivace proteinu Parkin a jeho přesun do poškozené mitochondrie. Po ztrátě mitochondriálního membránového potenciálu se PINK1 hromadí na mitochondriální membráně, kde fosforyluje N-terminální doménu Parkin. Poté dojde k aktivaci Parkin a jeho přesunu do mitochondrií, kde podporuje ubiquitinaci mitochondriálních substrátů. (Převzato z Durcan a Fon, 2015).

3.1.3 Syndrom Charcot-Marie-Tooth

Syndrom Charcot-Marie-Tooth (CMT) patří mezi nejčastější dědičné neuropatie. V současné době je to neléčitelné onemocnění, které postihuje 1 z 2500 lidí, a spojeno s mutacemi až 70 různých genů. CMT se vyskytuje ve více formách, které jsou rozděleny do 2 větších celků. První celek, formy demyelinizační, je spojen se snížením rychlosti vedení nervového vzruchu, demyelinizací a remyelinizací (CTM1, CTM3, CTM4). Do druhého celku patří axonální formy (CMT2), které se vyznačují degenerací axonů bez demyelinizačních lézí. Mezi klinické projevy patří pomalu postupující oslabení až atrofie distálních svalů horních i dolních končetin (Ammar et al., 2003*) a deformace chodidel. Vzácně dochází i k dysfunkci bránice nebo oční atrofii (Feely et al., 2011).

Mezi nejdůležitější geny pro CMT patří gen pro GDAP1 a mitofusin 2. Bylo prokázáno, že Schwannovy buňky a myelinizované periferní nervy exprimují integrální protein vnější mitochondriální membrány GDAP1. Tento protein podporuje

mitochondriální fragmentaci, která ale není homologická s klasickou fragmentací vznikající jako odpověď na apoptotické stimuly. Mitochondriální fragmentace vede k poškození dýchacího řetězce a oprav mtDNA. GDAP1 lze tedy charakterizovat jako jakýsi regulátor mitochondriální morfologie. Právě tento protein pravděpodobně přispívá k charakteristické demyelinizaci a narušení axonů u CMT (Niemann et al., 2005).

CMT2 je způsobeno missense mutacemi v genu kódující mitochondriální fúzní protein mitofusin 2 (Züchner et al., 2004). Tato mutace bývá obvykle spojena s časným věkem nástupu onemocnění, v průměru 4,4 let věku (Feely et al., 2011). Mitofusin 2 působí ve spolupráci s proteiny Mitofusin 1 a OPA1 jako regulátor mitochondriální fúze nebo asociací mitochondrií s endoplasmatickým retikulem (de Brito a Scorrano, 2008).

3.1.4 Amyotrofická laterální skleróza

Amyotrofická laterální skleróza (ALS) se vyznačuje postupnou ztrátou neuronů kortikálních, mozkového kmene a motorických míšních (Leigh, 2007*). Pacienti trpící tímto onemocněním jsou většinou postiženi slabostí a denervací kosterních svalů, což často vede až k úplné paralýze, ztrátě řeči a následně ke smrti zapříčiněné obrnou dýchacích svalů. Více než polovina pacientů umírá do 3 let od začátku onemocnění. V současné době bohužel neexistuje na ALS žádná účinná léčba, také molekulární mechanismy degenerace neuronů zůstávají neznámé (Jiang et al., 2015). Co ale známé je, je souvislost ALS s dysfunkcí mitochondriální dynamiky v neuronech, objevující se jako jeden z prvních příznaků. U pacientů trpících ALS bylo zaznamenáno snížení aktivity u všech komplexů oxidativní fosforylace (Borthwick et al., 1999; Wiedemann et al., 2002). V mnoha případech byl také zjištěn nárůst oxidativního stresu a nadprodukce ROS v oblasti míchy, z důvodu narušení antioxidační aktivity (Ikawa et al., 2015). V neposlední řadě byly také zaznamenány případy zvýšené koncentrace Ca^{2+} v mitochondriích (Milošević et al., 2016).

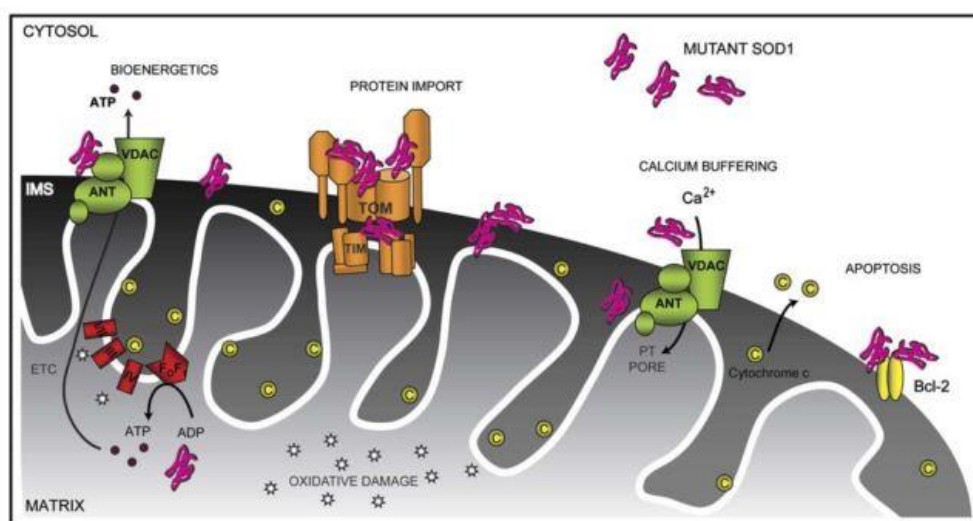
3.1.4.1 SOD1

Asi 20% případů dědičné formy ALS je způsobeno mutacemi v genu pro mitochondriální Cu/Zn superoxid dismutázu (SOD1) (Rosen et al., 1993). Za normálních

okolností tento enzym katalyzuje přeměnu superoxidového radikálu, vznikajícího při respiraci mitochondrií, na peroxid vodíku. V důsledku mutací SOD1 ale dochází k poškození mitochondrií prostřednictvím narušení energetického metabolismu nebo znemožněním importu proteinů fyzickým zablokováním kanálů TOM a TIM (viz. obr. 4) (Liu et al., 2004; Mattiazzi et al., 2002). Projevem mutací SOD1 může být i jeho špatné sbalování související se změnami posttranslačních modifikací, např. v tvorbě disulfidických můstků (Kawamata a Manfredi, 2010). Tyto abnormální procesy vedou ke změně dimerizace enzymu a tím způsobují nestabilitu jeho terciální struktury (Banci et al., 2008). Mutovaný protein SOD1 také tvoří nerozpustné agregáty v mitochondriích motorických neuronů.

K agregaci mutovaných SOD1 pravděpodobně dochází ovlivněním jejich lokalizace, a to usnadněním přechodu nedokonalých forem enzymu přes vnější mitochondriální membránu (Field et al., 2003). Právě akumulace SOD1 je považována za jedno z možných vysvětlení selektivní degenerace motorických neuronů při ALS.

Agregáty SOD1 způsobují např. změny v mitochondriální morfologii, narušení produkce ATP nebo změny v zapojení apoptózy do buněčného dění, např. přes interakci s proteinem Bcl-2. Dále mohou narušovat mechanismy, kterými mitochondrie vyrovnává cytosolickou hladinu vápníku (viz. obr. 4) (Boillée et al., 2006; Cozzolino et al., 2009). Nicméně přesný mechanismus agregace proteinu, jeho patogeneze a toxicity není zatím znám (Oladzad Abbasabadi et al., 2013).



Obrázek 4: Poškození mitochondrií zprostředkované mutantním SOD1. Mutovaný SOD1 je přednostně importován do mitochondrií v postižených tkáních, kde může interagovat s elektron transportním řetězcem, následkem čehož dojde k přerušení tvorby ATP. Mutovaný SOD1 může také narušit mechanismy starající se o vyrovnávání hladiny vápníku v cytosolu. Dále může interagovat s komponenty apoptózy, jako je např. protein Bcl-2, což vede k předčasné aktivaci apoptotické kaskády. V neposlední řadě může mutovaný SOD1 nepřímě ovlivnit dráhy spojené s mitochondrií, a to kvůli fyzickému zablokování kanálů TOM a TIM (Převzato z Boillée et al., 2006).

3.1.4.2 TDP-43

Patologie ALS se dotýká také DNA/RNA vazebný protein, TDP-43. V souvislosti s onemocněním u něj dochází k mutacím, jež všechny probíhají v C-terminální doméně bohaté na glycin. Tato doména má pravděpodobně význam v interakcích s jadernými ribonukleoproteiny zprostředkovávajících transkripci a úpravy RNA, jako je např. sestřih (Buratti a Baralle, 2010). Za normálních podmínek se TDP-43 nachází hlavně v jádře, zatímco po propuknutí ALS je z jádra exportován, hyperfosforylován a jeho ubiquitované C-terminální fragmenty (CTFs) se akumulují se v nerozpustných cytoplazmatických inkluzích v postižených motorických neuronech (Neumann et al., 2006). Přesné patogenní mechanismy neurodegenerace zprostředkované TDP-43 zatím nejsou známy, nicméně bylo zjištěno, že mutace v TDP-43 postihují nejvíce morfologii mitochondrií a jejich distribuci/denzitu. Abnormální rozložení mitochondrií je pravděpodobně základem ztráty synapsí v neuronech postižených ALS

(Wang et al., 2013). Přestože se většina TDP-43 nachází v jádře, zřetelné populace tohoto proteinu byly ve formě mobilních granulí detekovány také podél axonů motorických neuronů (Fallini et al., 2012). Nadměrná exprese mutantního TDP-43 výrazně snižuje pohyb mitochondrií v dendritech i axonech. Je zajímavé, že mutace v proteinu ovlivňuje mitochondriální rozmístění v axonech, ale nikoliv v dendritech (Wang et al., 2013).

3.1.5 Autosomálně dominantní optická atrofie

Autosomálně dominantní optická atrofie (ADOA) je nejběžnější forma dědičné neuropatie optického nervu. Základním atributem onemocnění je degenerace gangliových buněk sítnice, při čemž dochází k postupné ztrátě zraku vedoucí až k úplnému oslepnutí, a to během prvních 20 let života. Může docházet také k deficitu barevného vidění. Onemocnění je spojeno mutacemi genu kódujícího mitochondriální GTPázu s dynaminovou doménou – OPA1. Podle některých studií lze předpokládat, že mutace v OPA1 narušují mitochondriální integritu, čímž dochází k narušení zásobování energií (Alexander et al., 2000). Přesné patologické mechanismy tohoto onemocnění nejsou doposud známy (Okamoto a Shaw, 2005). Zkrácené nebo částečně inaktivované OPA1 proteiny mohou pravděpodobně destabilizovat mitochondriální membránu a tím zasahovat do funkce komplexů respiračního řetězce, redukovat množství vyrobené energie a způsobovat nárůst ROS (Delettre et al., 2002; Zhang et al., 2016). Dále se předpokládá, že poškození funkce OPA1 může také způsobit narušení mitochondriální fúze, které následně vede k apoptóze. Porucha nebo redukce OPA1 může vést i k narušení struktury krist ve vnitřní mitochondriální membráně (Okamoto a Shaw, 2005) nebo ke zvýšení citlivosti gangliových buněk sítnice na apoptické stimuly (Olichon et al., 2003). Patologie ADOA se velice podobá nemoci zvané Leberova dědičná optická neuropatie (LHON), která je způsobená mutacemi mtDNA kódovaných genů pro podjednotky komplexu I mitochondriálního dýchacího řetězce. Po narušení dochází k nedostatečnému energetickému zásobování optického nervu a následně ke ztrátě gangliových buněk sítnice a slepotě (Wallace et al., 1988),

3.2 Diabetes mellitus 2. typu

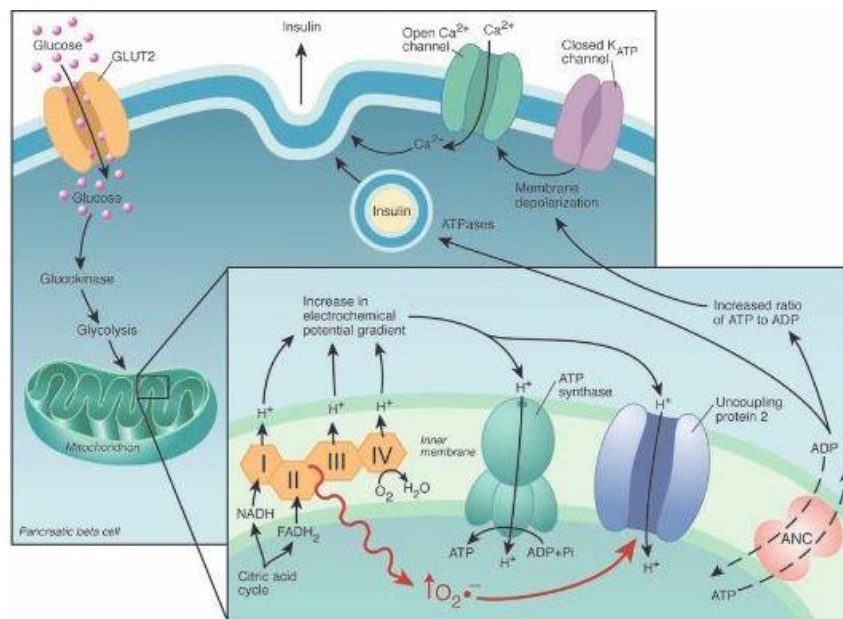
Mitochondrie hrají roli i v onemocnění diabetes mellitus 2. typu (T2D). Ačkoli hlavní příčina tohoto nejčastějšího metabolického onemocnění je zatím neznámá, je zřejmé, že roli v časně patogenezi onemocnění hraje inzulínová rezistence. Onemocnění je charakterizováno také poruchou sekrece inzulínu β -buňkami pankreatu.

Je dobře známo, že T2D je spojen s mitochondriální dysfunkcí, apoptózou a oxidativním stresem asociovaným s mitochondriemi (Bonnard et al., 2008). Narušení mitochondriální funkce může způsobit zhoršení schopnosti oxidovat mastné kyseliny, což vede ke zvýšení hladiny některých buněčných metabolitů mastných kyselin, jako je acyl-CoA nebo diacylglycerol, a dále k rozvoji inzulínové rezistence (Shulman, 2000). Vzhledem k tomu, že T2D úzce souvisí s metabolismem živin, působení inzulínu a jeho regulace může mít na rozvoj onemocnění podstatný vliv. Inzulín je známý také jako inhibitor autofágie, která je důležitá pro udržení strukturní a funkční integrity mitochondrií, jež jsou rozhodující pro přežití a správnou funkci pankreatických β -buněk (Blommaert et al., 1995; Maechler a Wollheim, 1999). Vztah mezi T2D a autofágií nebyl dosud podrobně zkoumán, nicméně již bylo zjištěno, že úbytek pankreatických β -buněk vykazuje podobné histologické nálezy jako neurodegenerativní onemocnění (Matveyenko et al., 2009), u kterých autofágie figuruje jako jeden z potenciálních patologických mechanismů (Winslow a Rubinsztein, 2008*). V souvislosti s tím byla navržena hypotéza, že narušení autofágie, po kterém následuje hromadění abnormálních mitochondrií v tkáních, se pravděpodobně na vývoji patologických změn v β -buňkách podílí, stejně jako u neurodegenerativních poruch.

3.2.1 UCP2

Mezi hlavní příčiny poruch mitochondrií vedoucích k rozvoji T2D patří také mutace, které se mohou vyskytovat i mimo mtDNA. Jedním z příkladů je protein nacházející se ve vnitřní mitochondriální membráně pankreatických β -buněk, známý jako „odpřahující protein 2“ (UCP2) (Newsholme et al., 2012). Aktivace tohoto proteinu, vyvolaná např. superoxidovým aniontem vznikajícím jako vedlejší produkt v elektrontransportním řetězci, vede k vypuštění protonového gradientu přes vnitřní membránu mitochondrie do matrix, což má za následek odpřažení oxidativního

metabolismu glukózy od produkce ATP. Mechanismus aktivace UCP2 zůstává prozatím neznámý. UCP2 může také snižovat množství vyrobeného ATP, a tím negativně regulovat inzulínovou sekreci stimulovanou glukózou (Boudina et al., 2007; Chan et al., 2001). Pravděpodobný mechanismus účasti UCP2 na mitochondriální dysfunkci znázorněn na obr. 5.



Obrázek 5: Možný mechanismus, kterým UCP2 zprostředkovaná mitochondriální dysfunkce narušuje sekreci inzulínu pankreatickými β -buňkami. Sekrece inzulínu je spojena s metabolismem glukózy pomocí zvýšení poměru ATP/ADP. Tuto glukózou stimulovanou inzulínovou sekreci snižuje UCP2 pomocí přenosu protonů přes vnitřní mitochondriální membránu a přesměrování energie uložené v elektrochemickém potenciálu od ATP syntázy. Tímto dochází ke snížení výtěžku ATP z glukózy. Superoxidový aniont vytvořený elektrontransportním řetězcem stimuluje aktivitu UCP2 nezbytnou pro přenos protonů, čímž dojde ke snížení sekrece inzulínu. (Převzato z Lowell a Shulman, 2005).

4 Poškození mitochondrií během parazitických infekcí

4.1 Chagasova choroba

Chagasova choroba je způsobena intracelulárním prvokem *Trypanosoma cruzi* přenášeným pomocí ploštic rodu *Triatoma* z čeledi *Reduviidae*. Nemoc je široce rozšířena ve Střední i Jižní Americe a dělí se na akutní a chronickou fázi. Akutní fáze se projevuje lokální zánětlivou lézí v místě vstupu parazita, napadá všechny tkáně a orgány a může se postupně pomalu měnit do různých klinických chronických forem. „Neurčitá“ chronická forma zůstává po dlouhou dobu (přibližně 10-20 let) bez klinických příznaků, objevují se pouze pozitivní sérologické testy, zatímco „srdeční“ forma se projevuje jako zánětlivá kardiomyopatie a vyvíjí se u více než 30% nakažených pacientů (Báez et al., 2011*). U značné části těchto pacientů se posléze vytvoří dilatovaná kardiomyopatie, která má pro ně fatální následky. Přítomnost *T. cruzi* v srdeční tkáni vyvolává intenzivní zánět a tím masivní produkci cytokinů, oxidu dusnatého a poté ROS, které mají přímý vliv na remodelaci srdeční tkáně a následné selhání srdce nebo mohou poškozovat srdeční mitochondrie (Marín-García a Goldenthal, 2008). Infekce *T. cruzi* u mitochondrií vyvolává snížení aktivity komplexů dýchacího řetězce (nejvíce u komplexů I a III), což má za následek snížení schopnosti buněk myokardu produkovat energii (Wen a Garg, 2004).

Ačkoliv mají mitochondrie kardiomyocytů schopnost ROS neutralizovat, v případě dlouhodobého vystavení nemoci tato obrana postupně slábne a stává se nedostatečnou, a to právě v kombinaci s ROS a poklesem funkce dýchacího řetězce.

V srdcích chronicky infikovaných experimentálních myší byl také zjištěn podstatný úbytek mtDNA společně se sníženou úrovní mtDNA-kódovaných transkriptů, ale mechanismus, který by mohl tyto úbytky způsobovat, zatím není znám. Nicméně četné studie za původce delecí mtDNA považují ROS. Předpokládají, že jejich zvýšená hladina může vést k mutacím, které nakonec vyústí až k odbourání oxidací poškozené mtDNA (Zacks et al., 2005).

4.2 Nákaza *Toxoplasma gondii*

Toxoplasma gondii je obligátní intracelulární parazit živočichů, který patří do skupiny Chromalveolat, podkmene Apikomplexa. Jako jeho definitivní hostitel slouží

kočkovité šelmy, mezihostitelem se může stát v podstatě jakýkoliv teplokrevný živočich včetně člověka. Většina infekcí *T. gondii* je asymptomatická, těžké onemocnění nebo smrt propuká pouze u imunodeficientních osob a v případě prenatálních infekcí. *T. gondii* může napadat všechny jaderné buňky, ve kterých po invazi vytvoří parazitoformní vakuolu obehnanou membránou.

Je známo, že buňky infikované *T. gondii* jsou rezistentní k buňkou vyvolané apoptóze. Parazit totiž jako odpověď na pro-apoptické stimuly inhibuje uvolnění cytochromu c z mezimembránového prostoru mitochondrií do cytosolu (Yang et al., 1997). Inhibice apoptózy je pro *T. gondii* velice důležitá, protože poskytuje stabilní prostředí pro její proliferaci. Schopnost *T. gondii* takovým způsobem ovládat hostitelskou buňku je dána blízkou asociací membrány parazitoformní vakuoly s mitochondriemi hostitelské buňky (Sinai a Joiner, 2001). Bylo zjištěno, že *T. gondii* v hostitelské buňce indukuje zvýšení exprese apoptického regulátoru, proteinu Bcl-2, a chaperonu HSP70, což umožní zablokování mitochondriálního propustného přechodového póru a uvolnění cytochromu c a apoptózu-indukujícího faktoru z mitochondrie. Tím dojde k inhibici apoptózy (Hwang et al., 2010; Yang et al., 1997).

V průběhu infekce *T. gondii* dochází k modifikaci exprese hostitelských proteinů, z čehož více než 1/3 jsou proteiny mitochondriální. Toto významné zjištění poukazuje na výrazný vliv, jaký na mitochondrie infekce parazitem má (Nelson et al., 2008).

4.2.1 ROP18

ROP18 je serin/threonin kináza sekretovaná ze specializovaných organel apikomplex zvaných roptrie. ROP18 je členem rodiny ROP2 a je sekretován do membrány parazitoformní vakuoly a do cytoplasmy hostitelské buňky během invaze parazita (Fentress a Sibley, 2011*). Díky své kinázové aktivitě může pomocí fosforylace modifikovat funkce hostitelských buněk. Může fosforylovat např. hostitelskou I κ -B, která koreluje s aktivací NF κ -B nezbytného pro inhibici apoptózy. NF κ -B se po aktivaci translokuje do jádra, kde může regulovat transkripci genů zapojených do imunitní buněčné odpovědi, buněčné proliferace a mitochondriální apoptózy (Ghosh a Karin, 2002; Molestina a Sinai, 2005*).

Modulace NF κ -B dráhy pomocí infekce *T. gondii* je stále předmětem diskuzí a faktory modulace této dráhy nejsou doposud známy (Rosowski et al., 2011). Některé studie

ukazují, že *T. gondii* inhibuje NKκ-B a jiné, že NKκ-B aktivuje (Kim et al., 2004; Molestina a Sinai, 2005*). Bylo například dokázáno, že ROP18 v hostitelských buňkách interaguje s členem NKκ-B rodiny – proteinem p65, který se váže prostřednictvím své dimerizační domény na jeho N-terminální konec. ROP18 ho následně fosforyluje na Ser-468, což usnadňuje jeho ubiquitin-závislou degradaci a následně dojde k potlačení aktivace NKκ-B dráhy (Du et al., 2014).

4.2.2 MAF1

U buněk infikovaných kmeny *T. gondii* I a III byla objevená specifická asociace hostitelských mitochondrií s parazitoformní vakuolou, kdy docházelo i k izolaci hostitelských mitochondrií a jejich společnému uzavření do jakési vakuoly. Tento jev je dnes znám jako HMA (host mitochondrial association), ačkoliv jeho mechanismus a přesný funkční následek zůstává zatím neznámý (Jones a Hirsch, 1972; Pernas et al., 2014). Podle novějších výzkumů však pravděpodobně slouží jako způsob, kterým se parazit pomocí mitochondrie propojuje s imunitní signalizací hostitele a rozvrací ji. HMA je zprostředkována „mitochondriálním asociačním faktorem 1“ (MAF1) sekretovaným parazitem, který se u kmenů *T. gondii* I a III může lišit v počtu kopií, ve své sekvenci a v expresi. U kmenů typu II HMA pravděpodobně chybí. MAF1 má pro HMA zásadní význam, neboť váže hostitelské mitochondrie, nicméně mechanismus, kterým HMA zprostředkovává, nebyl dosud objeven (Pernas et al., 2014).

5 Závěr

Práce dokumentuje současný stav poznatků týkajících se postavení mitochondrií a jejich metabolismu v patogenezi různých onemocnění. Shrnuje mitochondriální roli v nádorovém bujení, u neurodegenerativních onemocnění a u diabetes mellitus 2. typu a věnuje se poškození mitochondrií během nákazy *Toxoplasma gondii* a *Trypanosoma cruzi*. Tato bakalářská práce také poukazuje na to, že i přes množství vědeckých poznatků, získaných v posledních letech i v dřívější době, není stále známé velké množství informací, zásadních pro pochopení vlivu mitochondrií na patogenezi mnoha onemocnění. Mnohdy jsou velké otazníky i v jejich patologii. Je proto důležité tyto vztahy a mechanismy i nadále intenzivně studovat.

6 Seznam používaných zkratek

A1AT	alfa-1-antitrypsin
A β	amyloidní β -peptid
AD	Alzheimerova choroba
ADOA	autosomálně dominantní optická atrofie
ALS	amyotrofická laterální skleróza
APP	amyloidový prekurzorový protein
AV	autofágní vakuola
Bax	„Bcl2-associated X protein“
Bcl-2	„B-cell lymphoma 2“
BH1-3	„Bcl-2 homology domains“
CMT	syndrom Charcot-Marie-Tooth
CO	cytochrom oxidáza
CTF	C-terminální fragment
Drp1	„dynamin-related protein 1“
ERK1/2	„extracellular-signal-regulated kinase“
FAK	„focal adhesion kinase“
GDAP1	„ganglioside induced differentiation associated protein 1“
HMA	„host mitochondrial association“
I κ -B	„nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells inhibitor“
KPI	„Kunitz type protease inhibitor domain“
LHON	Leberova dědičná optická neuropatie
MAF1	mitochondriálním asociační faktor 1
MAP	„Mitogen-activated protein“
MPTP	1-metyl-4-fenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridin
NF- κ B	„nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells“
OPA1	„optic atrophy 1 (autosomal dominant)“
PINK1	„PTEN-induced putative kinase 1“
PV	parazitoformní vakuola
RhoA	„Ras homolog family member A“
RNS	reaktivní formy dusíku
ROP	„rhoptry protein“
ROS	reaktivní formy kyslíku
SOD1	Cu/Zn superoxid dismutáza
T2D	diabetes mellitus 2. typu
TDP-43	„TAR DNA binding protein 43“
TIM	transportní komplex vnitřní mitochondriální membrány
TOM	transportní komplex vnější mitochondriální membrány
UCP2	„uncoupling protein 2“
UPR	„unfolded protein response“

7 Seznam použité literatury

- Alam, M. M., Lal, S., FitzGerald, K. E. a Zhang, L.** (2016). A holistic view of cancer bioenergetics: mitochondrial function and respiration play fundamental roles in the development and progression of diverse tumors. *Clin. Transl. Med.* **5**, 3.
- Alexander, C., Votruba, M., Pesch, U. E., Thiselton, D. L., Mayer, S., Moore, A., Rodriguez, M., Kellner, U., Leo-Kottler, B., Auburger, G., et al.** (2000). OPA1, encoding a dynamin-related GTPase, is mutated in autosomal dominant optic atrophy linked to chromosome 3q28. *Nat. Genet.* **26**, 211–5.
- Allen, M. T. a Levy, L. S.** (2013). Parkinson's disease and pesticide exposure--a new assessment. *Crit. Rev. Toxicol.* **43**, 515–34.
- Alzheimer, J. O. F., Fundaci, M. B. a Vill, J.** (2014). Uncoordinated Author Proof Methylglyoxal Produced by Amyloid- β .
- * **Ammar, N., Nelis, E., Merlini, L., Barišić, N., Amouri, R., Ceuterick, C., Martin, J.-J., Timmerman, V., Hentati, F. a De Jonghe, P.** (2003). Identification of novel GDAP1 mutations causing autosomal recessive Charcot-Marie-Tooth disease. *Neuromuscul. Disord.* **13**, 720–728.
- * **Báez, A., Lo Presti, M. S., Rivarola, H. W., Montesana, G. G., Pons, P., Fretes, R. a Paglini-Oliva, P.** (2011). Mitochondrial involvement in chronic chagasic cardiomyopathy. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* **105**, 239–46.
- Banci, L., Bertini, I., Boca, M., Giroto, S., Martinelli, M., Valentine, J. S. a Vieru, M.** (2008). SOD1 and amyotrophic lateral sclerosis: mutations and oligomerization. *PLoS One* **3**, e1677.
- Bi, M., Naczki, C., Koritzinsky, M., Fels, D., Blais, J., Hu, N., Harding, H., Novoa, I., Varia, M., Raleigh, J., et al.** (2005). ER stress-regulated translation increases tolerance to extreme hypoxia and promotes tumor growth. *EMBO J.* **24**, 3470–81.
- Birsoy, K., Wang, T., Chen, W. W., Freinkman, E., Abu-Remaileh, M. a Sabatini, D. M.** (2015). An Essential Role of the Mitochondrial Electron Transport Chain in Cell Proliferation Is to Enable Aspartate Synthesis. *Cell* **162**, 540–551.
- Blommaart, E. F. C., Luiken, J. J. F. P., Blommaart, P. J. E., van Woerkom, G. M. a Meijer, A. J.** (1995). Phosphorylation of Ribosomal Protein S6 Is Inhibitory for Autophagy in Isolated Rat Hepatocytes. *J. Biol. Chem.* **270**, 2320–2326.
- Boillée, S., Vande Velde, C. a Cleveland, D. W.** (2006). ALS: a disease of motor neurons and their nonneuronal neighbors. *Neuron* **52**, 39–59.
- Bonnard, C., Durand, A., Peyrol, S., Chanseaux, E., Chauvin, M.-A., Morio, B., Vidal, H. a Rieusset, J.** (2008). Mitochondrial dysfunction results from oxidative stress in the skeletal

- muscle of diet-induced insulin-resistant mice. *J. Clin. Invest.* **118**, 789–800.
- Borthwick, G. M., Johnson, M. A., Ince, P. G., Shaw, P. J. a Turnbull, D. M.** (1999). Mitochondrial enzyme activity in amyotrophic lateral sclerosis: implications for the role of mitochondria in neuronal cell death. *Ann. Neurol.* **46**, 787–90.
- Boudina, S., Sena, S., Theobald, H., Sheng, X., Wright, J. J., Hu, X. X., Aziz, S., Johnson, J. I., Bugger, H., Zaha, V. G., et al.** (2007). Mitochondrial energetics in the heart in obesity-related diabetes: direct evidence for increased uncoupled respiration and activation of uncoupling proteins. *Diabetes* **56**, 2457–66.
- Brand, F. N., Kiely, D. K., Kannel, W. B. a Myers, R. H.** (1992). Family patterns of coronary heart disease mortality: The Framingham Longevity Study. *J. Clin. Epidemiol.* **45**, 169–174.
- Buratti, E. a Baralle, F. E.** (2010). The multiple roles of TDP-43 in pre-mRNA processing and gene expression regulation. *RNA Biol.* **7**, 420–9.
- Burikhanov, R., Zhao, Y., Goswami, A., Qiu, S., Schwarze, S. R. a Rangnekar, V. M.** (2009). The tumor suppressor Par-4 activates an extrinsic pathway for apoptosis. *Cell* **138**, 377–88.
- Cardoso, S. M., Proença, M. T., Santos, S., Santana, I. a Oliveira, C. R.** (2004). Cytochrome c oxidase is decreased in Alzheimer’s disease platelets. *Neurobiol. Aging* **25**, 105–110.
- Clark, I. E., Dodson, M. W., Jiang, C., Cao, J. H., Huh, J. R., Seol, J. H., Yoo, S. J., Hay, B. A. a Guo, M.** (2006). *Drosophila* pink1 is required for mitochondrial function and interacts genetically with parkin. *Nature* **441**, 1162–6.
- Coon, K. D., Valla, J., Szelinger, S., Schneider, L. E., Niedzielko, T. L., Brown, K. M., Pearson, J. V, Halperin, R., Dunckley, T., Papassotiropoulos, A., et al.** (2006). Quantitation of heteroplasmy of mtDNA sequence variants identified in a population of AD patients and controls by array-based resequencing. *Mitochondrion* **6**, 194–210.
- Cozzolino, M., Pesaresi, M. G., Amori, I., Crosio, C., Ferri, A., Nencini, M. a Carri, M. T.** (2009). Oligomerization of mutant SOD1 in mitochondria of motoneuronal cells drives mitochondrial damage and cell toxicity. *Antioxid. Redox Signal.* **11**, 1547–58.
- Dalle-Donne, I., Rossi, R., Giustarini, D., Milzani, A. a Colombo, R.** (2003). Protein carbonyl groups as biomarkers of oxidative stress. *Clin. Chim. Acta.* **329**, 23–38.
- Davidson, D. J., Haskell, C., Majest, S., Kherzai, A., Egan, D. A., Walter, K. A., Schneider, A., Gubbins, E. F., Solomon, L., Chen, Z., et al.** (2005). Kringle 5 of human plasminogen induces apoptosis of endothelial and tumor cells through surface-expressed glucose-regulated protein 78. *Cancer Res.* **65**, 4663–72.
- de Brito, O. M. a Scorrano, L.** (2008). Mitofusin 2 tethers endoplasmic reticulum to mitochondria. *Nature* **456**, 605–610.
- Delettre, C., Lenaers, G., Pelloquin, L., Belenguer, P. a Hamel, C. P.** (2002). OPA1 (Kjer type) dominant optic atrophy: a novel mitochondrial disease. *Mol. Genet. Metab.* **75**, 97–107.

- Dickinson, A., Yeung, K. Y., Donoghue, J., Baker, M. J., Kelly, R. D., McKenzie, M., Johns, T. G. a St John, J. C.** (2013). The regulation of mitochondrial DNA copy number in glioblastoma cells. *Cell Death Differ.* **20**, 1644–53.
- Domingues, A. F., Arduíno, D. M., Esteves, A. R., Swerdlow, R. H., Oliveira, C. R. a Cardoso, S. M.** (2008). Mitochondria and ubiquitin-proteasomal system interplay: relevance to Parkinson's disease. *Free Radic. Biol. Med.* **45**, 820–5.
- Du, J., An, R., Chen, L., Shen, Y., Chen, Y., Cheng, L., Jiang, Z., Zhang, A., Yu, L., Chu, D., et al.** (2014). Toxoplasma gondii virulence factor ROP18 inhibits the host NF- κ B pathway by promoting p65 degradation. *J. Biol. Chem.* **289**, 12578–92.
- Durcan, T. M. a Fon, E. A.** (2015). The three „P"s of mitophagy: PARKIN, PINK1, and post-translational modifications. *Genes Dev.* **29**, 989–99.
- Endoh, M., Kunishita, T. a Tabira, T.** (1999). No effect of anti-leprosy drugs in the prevention of Alzheimer's disease and β -amyloid neurotoxicity. *J. Neurol. Sci.* **165**, 28–30.
- Fallini, C., Bassell, G. J. a Rossoll, W.** (2012). The ALS disease protein TDP-43 is actively transported in motor neuron axons and regulates axon outgrowth. *Hum. Mol. Genet.* **21**, 3703–18.
- Federico, A., Cardaioli, E., Da Pozzo, P., Formichi, P., Gallus, G. N. a Radi, E.** (2012). Mitochondria, oxidative stress and neurodegeneration. *J. Neurol. Sci.* **322**, 254–62.
- Feely, S. M. E., Laura, M., Siskind, C. E., Sottile, S., Davis, M., Gibbons, V. S., Reilly, M. M. a Shy, M. E.** (2011). MFN2 mutations cause severe phenotypes in most patients with CMT2A. *Neurology* **76**, 1690–6.
- * Fentress, S. J. a Sibley, L. D.** (2011). The secreted kinase ROP18 defends Toxoplasma's border. *Bioessays* **33**, 693–700.
- Field, L. S., Furukawa, Y., O'Halloran, T. V a Culotta, V. C.** (2003). Factors controlling the uptake of yeast copper/zinc superoxide dismutase into mitochondria. *J. Biol. Chem.* **278**, 28052–9.
- Gandhi, S., Muqit, M. M. K., Stanyer, L., Healy, D. G., Abou-Sleiman, P. M., Hargreaves, I., Heales, S., Ganguly, M., Parsons, L., Lees, A. J., et al.** (2006). PINK1 protein in normal human brain and Parkinson's disease. *Brain* **129**, 1720–31.
- Geisler, S., Holmström, K. M., Skujat, D., Fiesel, F. C., Rothfuss, O. C., Kahle, P. J. a Springer, W.** (2010). PINK1/Parkin-mediated mitophagy is dependent on VDAC1 and p62/SQSTM1. *Nat. Cell Biol.* **12**, 119–31.
- Ghosh, S. a Karin, M.** (2002). Missing Pieces in the NF- κ B Puzzle. *Cell* **109**, S81–S96.
- Greene, A. W., Grenier, K., Aguilera, M. A., Muise, S., Farazifard, R., Haque, M. E., McBride, H. M., Park, D. S. a Fon, E. A.** (2012). Mitochondrial processing peptidase regulates PINK1 processing, import and Parkin recruitment. *EMBO Rep.* **13**, 378–85.

- Grenier, K., Kontogiannea, M. a Fon, E. A.** (2014). Short mitochondrial ARF triggers Parkin/PINK1-dependent mitophagy. *J. Biol. Chem.* **289**, 29519–30.
- Herst, P. M. a Berridge, M. V** (2007). Cell surface oxygen consumption: a major contributor to cellular oxygen consumption in glycolytic cancer cell lines. *Biochim. Biophys. Acta* **1767**, 170–7.
- Holtzman, D. M., Morris, J. C. a Goate, A. M.** (2011). Alzheimer ' s Disease : The Challenge of the Second Century. *Sci. Transl. Med.* **3**, 1–35.
- Hooda, J., Cadinu, D., Alam, M. M., Shah, A., Cao, T. M., Sullivan, L. A., Brekken, R. a Zhang, L.** (2013). Enhanced heme function and mitochondrial respiration promote the progression of lung cancer cells. *PLoS One* **8**, e63402.
- Huang, X., Cuajungco, M. P., Atwood, C. S., Hartshorn, M. a., Tyndall, J. D. a, Hanson, G. R., Stokes, K. C., Leopold, M., Multhaup, G., Goldstein, L. E., et al.** (1999). Cu (II) Potentiation of Alzheimer A β Neurotoxicity. *J. Biol. Chem.* **274**, 37111–37116.
- Hwang, I.-Y., Quan, J. H., Ahn, M.-H., Ahmed, H. A. H., Cha, G.-H., Shin, D.-W. a Lee, Y.-H.** (2010). Toxoplasma gondii infection inhibits the mitochondrial apoptosis through induction of Bcl-2 and HSP70. *Parasitol. Res.* **107**, 1313–21.
- Cha, M.-Y., Han, S.-H., Son, S. M., Hong, H.-S., Choi, Y.-J., Byun, J. a Mook-Jung, I.** (2012). Mitochondria-specific accumulation of amyloid β induces mitochondrial dysfunction leading to apoptotic cell death. *PLoS One* **7**, e34929.
- Chambers, J. K., Uchida, K., Harada, T., Tsuboi, M., Sato, M., Kubo, M., Kawaguchi, H., Miyoshi, N., Tsujimoto, H. a Nakayama, H.** (2012). Neurofibrillary Tangles and the Deposition of a Beta Amyloid Peptide with a Novel N-Terminal Epitope in the Brains of Wild Tsushima Leopard Cats. *PLoS One* **7**, 2–11.
- Chan, C. B., De Leo, D., Joseph, J. W., McQuaid, T. S., Ha, X. F., Xu, F., Tsushima, R. G., Pennefather, P. S., Salapatek, A. M. F. a Wheeler, M. B.** (2001). Increased Uncoupling Protein-2 Levels in β -cells Are Associated With Impaired Glucose-Stimulated Insulin Secretion: Mechanism of Action. *Diabetes* **50**, 1302–1310.
- Chinnery, P. F., Samuels, D. C., Elson, J. a Turnbull, D. M.** (2002). Accumulation of mitochondrial DNA mutations in ageing, cancer, and mitochondrial disease: is there a common mechanism? *Lancet (London, England)* **360**, 1323–5.
- Choy, R. W.-Y., Cheng, Z. a Schekman, R.** (2012). Amyloid precursor protein (APP) traffics from the cell surface via endosomes for amyloid β (A β) production in the trans-Golgi network. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **109**, E2077–82.
- Chua, L.-M., Lim, M.-L. a Wong, B.-S.** (2013). The Kunitz-protease inhibitor domain in amyloid precursor protein reduces cellular mitochondrial enzymes expression and function. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **437**, 642–7.

- Ikawa, M., Okazawa, H., Tsujikawa, T., Matsunaga, A., Yamamura, O., Mori, T., Hamano, T., Kiyono, Y., Nakamoto, Y. a Yoneda, M.** (2015). Increased oxidative stress is related to disease severity in the ALS motor cortex: A PET study. *Neurology* **84**, 2033–9.
- Jamnongkan, W., Techasen, A., Thanan, R., Duengngai, K., Sithithaworn, P., Mairiang, E., Loilome, W., Namwat, N., Pairojkul, C. a Yongvanit, P.** (2013). Oxidized alpha-1 antitrypsin as a predictive risk marker of opisthorchiasis-associated cholangiocarcinoma. *Tumour Biol.* **34**, 695–704.
- Jia, D.-P., Wang, S., Zhang, B.-C. a Fang, F.** (2015). Paraptosis triggers mitochondrial pathway-mediated apoptosis in Alzheimer's disease. *Exp. Ther. Med.* **10**, 804–808.
- Jiang, Z., Wang, W., Perry, G., Zhu, X. a Wang, X.** (2015). Mitochondrial dynamic abnormalities in amyotrophic lateral sclerosis. *Transl. Neurodegener.* **4**, 14.
- Jones, T. C. a Hirsch, J. G.** (1972). The interaction between *Toxoplasma gondii* and mammalian cells. II. The absence of lysosomal fusion with phagocytic vacuoles containing living parasites. *J. Exp. Med.* **136**, 1173–94.
- Kaambre, T., Chekulayev, V., Shevchuk, I., Karu-Varikmaa, M., Timohhina, N., Tepp, K., Bogovskaja, J., Kütner, R., Valvere, V. a Saks, V.** (2012). Metabolic control analysis of cellular respiration in situ in intraoperational samples of human breast cancer. *J. Bioenerg. Biomembr.* **44**, 539–58.
- Kane, L. A., Lazarou, M., Fogel, A. I., Li, Y., Yamano, K., Sarraf, S. A., Banerjee, S. a Youle, R. J.** (2014). PINK1 phosphorylates ubiquitin to activate Parkin E3 ubiquitin ligase activity. *J. Cell Biol.* **205**, 143–53.
- Kawamata, H. a Manfredi, G.** (2010). Import, maturation, and function of SOD1 and its copper chaperone CCS in the mitochondrial intermembrane space. *Antioxid. Redox Signal.* **13**, 1375–84.
- * **Kim, A.** (2015). Mitochondria in Cancer Energy Metabolism : Culprits or Bystanders? **31**, 323–330.
- Kim, L., Butcher, B. A. a Denkers, E. Y.** (2004). *Toxoplasma gondii* Interferes with Lipopolysaccharide-Induced Mitogen-Activated Protein Kinase Activation by Mechanisms Distinct from Endotoxin Tolerance. *J. Immunol.* **172**, 3003–3010.
- LeBleu, V. S., O'Connell, J. T., Gonzalez Herrera, K. N., Wikman, H., Pantel, K., Haigis, M. C., de Carvalho, F. M., Damascena, A., Domingos Chinen, L. T., Rocha, R. M., et al.** (2014). PGC-1 α mediates mitochondrial biogenesis and oxidative phosphorylation in cancer cells to promote metastasis. *Nat. Cell Biol.* **16**, 992–1003, 1–15.
- * **Leigh, P. N.** (2007). Chapter 13 Amyotrophic lateral sclerosis. *Handb. Clin. Neurol.* **82**, 249–78.
- Liu, J., Lillo, C., Jonsson, P. A., Vande Velde, C., Ward, C. M., Miller, T. M., Subramaniam, J. R., Rothstein, J. D., Marklund, S., Andersen, P. M., et al.** (2004). Toxicity of familial ALS-

- linked SOD1 mutants from selective recruitment to spinal mitochondria. *Neuron* **43**, 5–17.
- Lowell, B. B. a Shulman, G. I.** (2005). Mitochondrial dysfunction and type 2 diabetes. *Science* **307**, 384–7.
- Lücking, C. B., Dürr, A., Bonifati, V., Vaughan, J., De Michele, G., Gasser, T., Harhangi, B. S., Meco, G., Denèfle, P., Wood, N. W., et al.** (2000). Association between early-onset Parkinson's disease and mutations in the parkin gene. *N. Engl. J. Med.* **342**, 1560–7.
- Maechler, P. a Wollheim, C. B.** (1999). Mitochondrial glutamate acts as a messenger in glucose-induced insulin exocytosis. *Nature* **402**, 685–9.
- Manczak, M. a Reddy, P. H.** (2012). Abnormal interaction between the mitochondrial fission protein Drp1 and hyperphosphorylated tau in Alzheimer's disease neurons: implications for mitochondrial dysfunction and neuronal damage. *Hum. Mol. Genet.* **21**, 2538–47.
- Manczak, M., Calkins, M. J. a Reddy, P. H.** (2011). Impaired mitochondrial dynamics and abnormal interaction of amyloid beta with mitochondrial protein Drp1 in neurons from patients with Alzheimer's disease: implications for neuronal damage. *Hum. Mol. Genet.* **20**, 2495–509.
- Marín-García, J. a Goldenthal, M. J.** (2008). Mitochondrial centrality in heart failure. *Heart Fail. Rev.* **13**, 137–50.
- Mattiazzi, M., D'Aurelio, M., Gajewski, C. D., Martushova, K., Kiaei, M., Beal, M. F. a Manfredi, G.** (2002). Mutated human SOD1 causes dysfunction of oxidative phosphorylation in mitochondria of transgenic mice. *J. Biol. Chem.* **277**, 29626–33.
- Matveyenko, A. V, Gurlo, T., Daval, M., Butler, A. E. a Butler, P. C.** (2009). Successful versus failed adaptation to high-fat diet-induced insulin resistance: the role of IAPP-induced beta-cell endoplasmic reticulum stress. *Diabetes* **58**, 906–16.
- Milošević, M., Bataveljić, D., Nikolić, L., Bijelić, D. a Andjus, P.** (2016). The effect of amyotrophic lateral sclerosis-linked exogenous SOD1-G93A on electrophysiological properties and intracellular calcium in cultured rat astrocytes. *Amyotroph. Lateral Scler. Frontotemporal Degener.* 1–9.
- * **Molestina, R. E. a Sinai, A. P.** (2005). Detection of a novel parasite kinase activity at the *Toxoplasma gondii* parasitophorous vacuole membrane capable of phosphorylating host IkappaBalpha. *Cell. Microbiol.* **7**, 351–62.
- * **Møller, I. M., Rogowska-Wrzesinska, A. a Rao, R. S. P.** (2011). Protein carbonylation and metal-catalyzed protein oxidation in a cellular perspective. *J. Proteomics* **74**, 2228–42.
- * **Nagelkerke, A., Bussink, J., Sweep, F. C. G. J. a Span, P. N.** (2014). The unfolded protein response as a target for cancer therapy. *Biochim. Biophys. Acta* **1846**, 277–284.
- Nelson, M. M., Jones, A. R., Carmen, J. C., Sinai, A. P., Burchmore, R. a Wastling, J. M.** (2008). Modulation of the host cell proteome by the intracellular apicomplexan parasite

- Toxoplasma gondii. *Infect. Immun.* **76**, 828–44.
- Neumann, M., Sampathu, D. M., Kwong, L. K., Truax, A. C., Micsenyi, M. C., Chou, T. T., Bruce, J., Schuck, T., Grossman, M., Clark, C. M., et al.** (2006). Ubiquitinated TDP-43 in frontotemporal lobar degeneration and amyotrophic lateral sclerosis. *Science* **314**, 130–3.
- Newsholme, P., Gaudel, C. a Krause, M.** (2012). Mitochondria and diabetes. An intriguing pathogenetic role. *Adv. Exp. Med. Biol.* **942**, 235–47.
- Niemann, A., Ruegg, M., La Padula, V., Schenone, A. a Suter, U.** (2005). Ganglioside-induced differentiation associated protein 1 is a regulator of the mitochondrial network: new implications for Charcot-Marie-Tooth disease. *J. Cell Biol.* **170**, 1067–78.
- Okamoto, K. a Shaw, J. M.** (2005). Mitochondrial Morphology and Dynamics in Yeast and Multicellular Eukaryotes. *Annu. Rev. Genet.* **39**, 503–536.
- Oladzad Abbasabadi, A., Javanian, A., Nikkhah, M., Meratan, A. A., Ghiasi, P. a Nemat-Gorgani, M.** (2013). Disruption of mitochondrial membrane integrity induced by amyloid aggregates arising from variants of SOD1. *Int. J. Biol. Macromol.* **61**, 212–7.
- Olichon, A., Baricault, L., Gas, N., Guillou, E., Valette, A., Belenguer, P. a Lenaers, G.** (2003). Loss of OPA1 perturbs the mitochondrial inner membrane structure and integrity, leading to cytochrome c release and apoptosis. *J. Biol. Chem.* **278**, 7743–6.
- Perier, C., Tieu, K., Guégan, C., Caspersen, C., Jackson-Lewis, V., Carelli, V., Martinuzzi, A., Hirano, M., Przedborski, S., Vila, M., et al.** (2005). Complex I deficiency primes Bax-dependent neuronal apoptosis through mitochondrial oxidative damage. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **102**, 19126–19131.
- Perier, C., Bové, J., Wu, D.-C., Dehay, B., Choi, D.-K., Jackson-Lewis, V., Rathke-Hartlieb, S., Bouillet, P., Strasser, A., Schulz, J. B., et al.** (2007). Two molecular pathways initiate mitochondria-dependent dopaminergic neurodegeneration in experimental Parkinson's disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **104**, 8161–6.
- Pernas, L., Adomako-Ankomah, Y., Shastri, A. J., Ewald, S. E., Treeck, M., Boyle, J. P. a Boothroyd, J. C.** (2014). Toxoplasma effector MAF1 mediates recruitment of host mitochondria and impacts the host response. *PLoS Biol.* **12**, e1001845.
- Picone, P., Nuzzo, D., Caruana, L., Scafidi, V. a Di Carlo, M.** (2014). Mitochondrial dysfunction: different routes to Alzheimer's disease therapy. *Oxid. Med. Cell. Longev.* **2014**, 780179.
- Rosen, D. R., Siddique, T., Patterson, D., Figlewicz, D. A., Sapp, P., Hentati, A., Donaldson, D., Goto, J., O'Regan, J. P. a Deng, H. X.** (1993). Mutations in Cu/Zn superoxide dismutase gene are associated with familial amyotrophic lateral sclerosis. *Nature* **362**, 59–62.
- Rosowski, E. E., Lu, D., Julien, L., Rodda, L., Gaiser, R. A., Jensen, K. D. C. a Saeij, J. P. J.** (2011). Strain-specific activation of the NF-kappaB pathway by GRA15, a novel Toxoplasma gondii dense granule protein. *J. Exp. Med.* **208**, 195–212.

- Roucou, X. a Martinou, J. C.** (2001). Conformational change of Bax: a question of life or death. *Cell Death Differ.* **8**, 875–7.
- Rustom, A., Saffrich, R., Markovic, I., Walther, P. a Gerdes, H.-H.** (2004). Nanotubular highways for intercellular organelle transport. *Science* **303**, 1007–10.
- * **Ryter, S. W. a Tyrrell, R. M.** (2000). The heme synthesis and degradation pathways: role in oxidant sensitivity. Heme oxygenase has both pro- and antioxidant properties. *Free Radic. Biol. Med.* **28**, 289–309.
- Senyilmaz, D. a Teleman, A. A.** (2015). Chicken or the egg: Warburg effect and mitochondrial dysfunction. *F1000Prime Rep.* **7**, 41.
- Shimura, H., Hattori, N., Kubo, S. i, Mizuno, Y., Asakawa, S., Minoshima, S., Shimizu, N., Iwai, K., Chiba, T., Tanaka, K., et al.** (2000). Familial Parkinson disease gene product, parkin, is a ubiquitin-protein ligase. *Nat. Genet.* **25**, 302–5.
- Shulman, G. I.** (2000). Cellular mechanisms of insulin resistance. *J. Clin. Invest.* **106**, 171–6.
- * **Schapira, A. H. V** (2008). Mitochondria in the aetiology and pathogenesis of Parkinson's disease. *Lancet. Neurol.* **7**, 97–109.
- Silvestri, L., Caputo, V., Bellacchio, E., Atorino, L., Dallapiccola, B., Valente, E. M. a Casari, G.** (2005). Mitochondrial import and enzymatic activity of PINK1 mutants associated to recessive parkinsonism. *Hum. Mol. Genet.* **14**, 3477–92.
- Sinai, A. P. a Joiner, K. A.** (2001). The *Toxoplasma gondii* protein ROP2 mediates host organelle association with the parasitophorous vacuole membrane. *J. Cell Biol.* **154**, 95–108.
- Smith, M. A., Harris, P. L. R., Sayre, L. M., Beckman, J. S. a Perry, G.** (1997). Widespread Peroxynitrite-Mediated Damage in Alzheimer's Disease. **17**, 2653–2657.
- Su, R., Li, Z., Li, H., Song, H., Bao, C., Wei, J. a Cheng, L.** (2010). Grp78 promotes the invasion of hepatocellular carcinoma. *BMC Cancer* **10**, 20.
- Sullivan, L. B., Gui, D. Y., Hosios, A. M., Bush, L. N., Freinkman, E. a Vander Heiden, M. G.** (2015). Supporting Aspartate Biosynthesis Is an Essential Function of Respiration in Proliferating Cells. *Cell* **162**, 552–63.
- Sun, F.-C., Wei, S., Li, C.-W., Chang, Y.-S., Chao, C.-C. a Lai, Y.-K.** (2006). Localization of GRP78 to mitochondria under the unfolded protein response. *Biochem. J.* **396**, 31–9.
- Swerdlow, R. H. a Khan, S. M.** (2009). The Alzheimer's disease mitochondrial cascade hypothesis: an update. *Exp. Neurol.* **218**, 308–15.
- Swerdlow, R. H., Burns, J. M. a Khan, S. M.** (2010). The Alzheimer's disease mitochondrial cascade hypothesis. *J. Alzheimers. Dis.* **20 Suppl 2**, S265–79.
- Tajes, M., Eraso-Pichot, A., Rubio-Moscard??, F., Guivernau, B., Bosch-Morat??, M., Valls-Comamala, V. a Mu??oz, F. J.** (2014a). Methylglyoxal reduces mitochondrial potential and activates Bax and caspase-3 in neurons: Implications for Alzheimer's disease. *Neurosci. Lett.*

- Tajes, M., Eraso-Pichot, A., Rubio-Moscardó, F., Guivernau, B., Ramos-Fernández, E., Bosch-Morató, M., Guix, F. X., Clarimón, J., Miscione, G. Pietro, Boada, M., et al. (2014b).** Methylglyoxal produced by amyloid- β peptide-induced nitrotyrosination of triosephosphate isomerase triggers neuronal death in Alzheimer's disease. *J. Alzheimers. Dis.* **41**, 273–88.
- Tan, A. S., Baty, J. W., Dong, L.-F., Bezawork-Geleta, A., Endaya, B., Goodwin, J., Bajzikova, M., Kovarova, J., Peterka, M., Yan, B., et al. (2015).** Mitochondrial genome acquisition restores respiratory function and tumorigenic potential of cancer cells without mitochondrial DNA. *Cell Metab.* **21**, 81–94.
- Tanaka, A., Cleland, M. M., Xu, S., Narendra, D. P., Suen, D.-F., Karbowski, M. a Youle, R. J. (2010).** Proteasome and p97 mediate mitophagy and degradation of mitofusins induced by Parkin. *J. Cell Biol.* **191**, 1367–80.
- Tang, H., Kerins, D. M., Hao, Q., Inagami, T. a Vaughan, D. E. (1998).** The Urokinase-type Plasminogen Activator Receptor Mediates Tyrosine Phosphorylation of Focal Adhesion Proteins and Activation of Mitogen-activated Protein Kinase in Cultured Endothelial Cells. *J. Biol. Chem.* **273**, 18268–18272.
- Thanan, R., Oikawa, S., Hiraku, Y., Ohnishi, S., Ma, N., Pinlaor, S., Yongvanit, P., Kawanishi, S. a Murata, M. (2015).** Oxidative stress and its significant roles in neurodegenerative diseases and cancer. *Int. J. Mol. Sci.* **16**, 193–217.
- * **Tsang, A. H. K. a Chung, K. K. K. (2009).** Oxidative and nitrosative stress in Parkinson's disease. *Biochim. Biophys. Acta* **1792**, 643–50.
- Tseng, L.-M., Yin, P.-H., Chi, C.-W., Hsu, C.-Y., Wu, C.-W., Lee, L.-M., Wei, Y.-H. a Lee, H.-C. (2006).** Mitochondrial DNA mutations and mitochondrial DNA depletion in breast cancer. *Genes. Chromosomes Cancer* **45**, 629–38.
- Valente, E. M., Salvi, S., Ialongo, T., Marongiu, R., Elia, A. E., Caputo, V., Romito, L., Albanese, A., Dallapiccola, B. a Bentivoglio, A. R. (2004).** PINK1 mutations are associated with sporadic early-onset parkinsonism. *Ann. Neurol.* **56**, 336–41.
- Valla, J., Schneider, L., Niedzielko, T., Coon, K. D., Caselli, R., Sabbagh, M. N., Ahern, G. L., Baxter, L., Alexander, G., Walker, D. G., et al. (2006).** Impaired platelet mitochondrial activity in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. *Mitochondrion* **6**, 323–30.
- Vandewynckel, Y.-P., Laukens, D., Geerts, A., Bogaerts, E., Paridaens, A., Verhelst, X., Janssens, S., Heindryckx, F. a Van Vlierberghe, H. (2013).** The paradox of the unfolded protein response in cancer. *Anticancer Res.* **33**, 4683–94.
- Wallace, D. C., Singh, G., Lott, M. T., Hodge, J. a, Theodore, G., Lezza, A. M. S., Elsas, L. J., Nikoskelainen, E. K., Lotrr, M. T., Schurr, T. G., et al. (1988).** Mitochondrial DNA

- Mutation Associated with Leber ' s Hereditary Optic Neuropathy. **242**, 1427–1430.
- Wang, W., Li, L., Lin, W.-L., Dickson, D. W., Petrucelli, L., Zhang, T. a Wang, X.** (2013). The ALS disease-associated mutant TDP-43 impairs mitochondrial dynamics and function in motor neurons. *Hum. Mol. Genet.* **22**, 4706–19.
- Weinberg, F., Hamanaka, R., Wheaton, W. W., Weinberg, S., Joseph, J., Lopez, M., Kalyanaraman, B., Mutlu, G. M., Budinger, G. R. S. a Chandel, N. S.** (2010). Mitochondrial metabolism and ROS generation are essential for Kras-mediated tumorigenicity. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **107**, 8788–93.
- Wen, J.-J. a Garg, N.** (2004). Oxidative modification of mitochondrial respiratory complexes in response to the stress of Trypanosoma cruzi infection. *Free Radic. Biol. Med.* **37**, 2072–81.
- Whitaker-Menezes, D., Martinez-Outschoorn, U. E., Flomenberg, N., Birbe, R. C., Witkiewicz, A. K., Howell, A., Pavlides, S., Tsigos, A., Ertel, A., Pestell, R. G., et al.** (2011). Hyperactivation of oxidative mitochondrial metabolism in epithelial cancer cells in situ: visualizing the therapeutic effects of metformin in tumor tissue. *Cell Cycle* **10**, 4047–64.
- Wiedemann, F. R., Manfredi, G., Mawrin, C., Beal, M. F. a Schon, E. A.** (2002). Mitochondrial DNA and respiratory chain function in spinal cords of ALS patients. *J. Neurochem.* **80**, 616–625.
- * **Winslow, A. R. a Rubinsztein, D. C.** (2008). Autophagy in neurodegeneration and development. *Biochim. Biophys. Acta* **1782**, 723–9.
- Yan, Y., Gong, K., Ma, T., Zhang, L., Zhao, N., Zhang, X., Tang, P. a Gong, Y.** (2012). Protective effect of edaravone against Alzheimer's disease-relevant insults in neuroblastoma N2a cells. *Neurosci. Lett.* **531**, 160–165.
- Yang, J., Liu, X., Bhalla, K., Kim, C. N., Ibrado, A. M., Cai, J., Peng, T. I., Jones, D. P. a Wang, X.** (1997). Prevention of apoptosis by Bcl-2: release of cytochrome c from mitochondria blocked. *Science* **275**, 1129–32.
- Yang, Y., Karakhanova, S., Hartwig, W., D'Haese, J. G., Philippov, P. P., Werner, J. a Bazhin, A. V** (2016). Mitochondria and Mitochondrial ROS in Cancer: Novel Targets for Anticancer Therapy. *J. Cell. Physiol.*
- Yu, W. H., Kumar, A., Peterhoff, C., Shapiro Kulnane, L., Uchiyama, Y., Lamb, B. T., Cuervo, A. M. a Nixon, R. A.** (2004). Autophagic vacuoles are enriched in amyloid precursor protein-secretase activities: Implications for ??-amyloid peptide over-production and localization in Alzheimer's disease. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* **36**, 2531–2540.
- Zacks, M. A., Wen, J.-J., Vyatkina, G., Bhatia, V. a Garg, N.** (2005). An overview of chagasic cardiomyopathy: pathogenic importance of oxidative stress. *An. Acad. Bras. Cienc.* **77**, 695–715.

- Zhang, Y., McLaughlin, R., Goodyer, C. a LeBlanc, A.** (2002). Selective cytotoxicity of intracellular amyloid beta peptide1-42 through p53 and Bax in cultured primary human neurons. *J. Cell Biol.* **156**, 519–29.
- Zhang, J., Jiang, Y., Jia, Z., Li, Q., Gong, W., Wang, L., Wei, D., Yao, J., Fang, S. a Xie, K.** (2006). Association of elevated GRP78 expression with increased lymph node metastasis and poor prognosis in patients with gastric cancer. *Clin. Exp. Metastasis* **23**, 401–10.
- Zhang, A.-M., Bi, R., Hu, Q.-X., Fan, Y., Zhang, Q. a Yao, Y.-G.** (2016). The OPA1 Gene Mutations Are Frequent in Han Chinese Patients with Suspected Optic Neuropathy. *Mol. Neurobiol.*
- Zipprich, J., Terry, M. B., Liao, Y., Agrawal, M., Gurvich, I., Senie, R. a Santella, R. M.** (2009). Plasma protein carbonyls and breast cancer risk in sisters discordant for breast cancer from the New York site of the Breast Cancer Family Registry. *Cancer Res.* **69**, 2966–72.
- Züchner, S., Mersiyanova, I. V, Muglia, M., Bissar-Tadmouri, N., Rochelle, J., Dadali, E. L., Zappia, M., Nelis, E., Patitucci, A., Senderek, J., et al.** (2004). Mutations in the mitochondrial GTPase mitofusin 2 cause Charcot-Marie-Tooth neuropathy type 2A. *Nat. Genet.* **36**, 449–51.

* Označuje sekundární zdroje