

Abstrakt

Mitochondriální onemocnění patří, se svojí incidencí 1:5000 živě narozených dětí, k jednom z nejčastějších metabolických poruch. Jedná se o klinicky heterogenní skupinu chorob způsobenou mutacemi ve více než 250 genech. Diagnostika pacientů s podezřením na mitochondriální onemocnění obnáší celou řadu biochemických analýz. Jednou z nich je i analýza kapacity mitochondriálního energetického metabolismu (KMEM). Jedná se o sledování oxidace ^{14}C značených substrátů pyruvátu, malátu a sukcinátu v sérii 10 inkubací, které obsahují různé donory a akceptory acetyl-CoA a inhibitory Krebsova cyklu. Výsledky analýzy KMEM nám podávají široké spektrum informací o mitochondriálním energetickém metabolismu daného jedince v konkrétní tkáni. V rámci diagnostiky pacientů s podezřením na mitochondriální onemocnění je KMEM stanovována v kosterním svalu. Cílem práce je optimalizovat metodu analýzy KMEM pro její využití v kultivovaných kožních fibroblastech. Celkem byla analýza KMEM v kultivovaných kožních fibroblastech provedena u 23 pacientů s primárním deficitem systému oxidativní fosforylace (OXPHOS), u 7 pacientů se sekundárním deficitem OXPHOS a u 15 kontrolních linií. Výsledky analýzy KMEM v kultivovaných kožních fibroblastech byly následně porovnány s výsledky spektrofotometrického měření aktivit jednotlivých komplexů OXPHOS ve fibroblastech a u vybraných pacientů s výsledky polarografie ve fibroblastech a s výsledky analýzy KMEM ve svalové tkáni. Výsledky ukázaly, že analýza KMEM je citlivější na detekci disbalance MEM oproti spektrofotometrii avšak sama o sobě není dostatečným nástrojem k diagnostice mitochondriálních poruch. K přesnější lokalizaci deficitu systému OXPHOS je nezbytná kombinace více biochemických metod.