

# Mitochondriální onemocnění/Mutace v mitochondriální DNA

Mitochondrie se řadí mezi semiautonorní buněčné organely. Každá mitochondrie obsahuje vlastní genom ve formě **cirkulární mtDNA** ve 2–10 kopiích.

V mitochondriích se odehrává *citrátový cyklus*; *oxidativní fosforylace*;  *$\beta$ -oxidace mastných kyselin*; *část cyklu močoviny*. Mitochondrie mají důležitou roli v apoptóze. Zmnožení mitochondrií nacházíme ve vysoce metabolicky aktivních tkáních jako jsou kosterní sval, srdeční sval, mozek, endokrinní žlázy – tyto orgány jsou na funkci mitochondrií zvláště závislé.

U mitochondrií se setkáváme s nemendelovskou **maternální dědičností**. Všechny mitochondrie zygoty pocházejí z vajíčka, a tedy jsou předávány v mateřské linii. Symptomy nemocí se typicky zhoršují s věkem (progresivní průběh).

**Heteroplasmie** označuje směs mutantních a normálních molekul mtDNA v mitochondriích buněk a tkání.

**Homoplasmie** znamená přítomnost pouze mutantních mtDNA.

Mnohé z nemocí způsobených mutací mtDNA patří mezi mitochondriální myopatie. Ve svalu nacházíme mitochondrie abnormální velikosti a tvaru, které podmiňují vzhled drsných červených vláken (*ragged red fibres*).

Mitochondriální DNA je asi desetkrát náchylnější k poškození než jaderná, neboť

- mitochondriální DNA nemá, na rozdíl od jaderné, schopnost oprav,
- mitochondrií je v buňce mnoho, takže při dělení buňky se musí replikovat větší počet molekul mitochondriální DNA a roste tak riziko chyby,
- mitochondriální DNA nemá histony,
- mitochondriální DNA je velice blízko dýchacímu řetězci a tudíž i reaktivním formám kyslíku, které se při reakcích v dýchacím řetězci tvoří, takže dochází častěji k jejímu oxidačnímu poškození.

**⚠ Vzhledem k závažnosti onemocnění vyvolaných mutacemi mitochondriální DNA je třeba, aby každý pacient s nevysvětlitelnou neuromuskulární poruchou byl podroben vyšetření na tato onemocnění spolu s vyšetřením poruch metabolismu mastných kyselin a karnitinového cyklu. Všechny tyto choroby se úzce týkají energetického metabolismu buňky.**

## Onemocnění související s poruchou oxidativní fosforylace

Mitochondrie se řadí mezi semiautonorní buněčné organely. Každá mitochondrie obsahuje vlastní genom ve formě cirkulární mtDNA ve 2–10 kopiích, dohromady se tak v buňce nachází zhruba 1000–10000 molekul mtDNA podle buněčného typu<sup>[1]</sup>. V mitochondriích se odehrává citrátový cyklus, oxidativní fosforylace,  $\beta$ -oxidace mastných kyselin, část cyklu močoviny. Mitochondrie mají důležitou roli v apoptóze. Zmnožení mitochondrií nacházíme ve vysoce metabolicky aktivních tkáních jako jsou kosterní sval, srdeční sval, mozek, endokrinní žlázy – tyto orgány jsou na funkci mitochondrií zvláště závislé. Mnohé z nemocí způsobených mutací mtDNA patří mezi **mitochondriální myopatie**. Ve svalu nacházíme mitochondrie abnormální velikosti a tvaru, které podmiňují vzhled drsných červených vláken (*ragged red fibres*).

U mitochondrií se setkáváme s **nemendelovskou maternální dědičností**. Všechny mitochondrie zygoty pocházejí z vajíčka, a tedy jsou i s veškerou mtDNA předávány v mateřské linii. Nemoci způsobené mutacemi v mtDNA tak mohou být maternálně dědičné. Mitochondrie obsahují přes 1500 proteinů v závislosti na tkáni<sup>[2]</sup>. Avšak lidská mitochondriální DNA obsahuje pouze 13 protein-kódujících genů. Zbývající mitochondriální proteiny jsou kódovány jadernou DNA a do mitochondrie se dostávají posttranslačně a v případě mutace jaderné DNA způsobující poruchu funkce těchto proteinů nacházíme klasickou mendelovskou dědičnost. U všech mutací však platí, že symptomy nemocí se typicky zhoršují s věkem (progresivní průběh). U většiny nemocí způsobených mutací, příp. mutacemi v mtDNA nacházíme tzv. **heteroplasmii**, což znamená, že daná buňka obsahuje určité procento mutovaných a normálních molekul mtDNA. Od množství mutovaných molekul a také od postiženého orgánu se odvíjí tzv. **prahový efekt**. To je právě určité množství mutované mtDNA, které způsobí daný defekt. Z těchto důvodů se **mitochondriální nemoci projevují ve kterémkoli věku a klinicky se projevují onemocněním zdánlivě nesouvisejících orgánů**.

Důvody, proč jsou mitochondrie asi 10 krát náchylnější na poškození DNA více než DNA jaderná, jsou:

- mitochondriální DNA nemá takové **množství opravných systémů** jako jaderná DNA,
- **mitochondrií je v buňce mnoho** a jejich DNA se musí dělit stejně často jako se dělí buňka sama, nedělí se však jen jedna mitochondrie, nýbrž všechny mitochondrie v buňce přítomné, tím stoupá pravděpodobnost vzniku chyby (v porovnání s dělením jednoho jádra),
- mitochondriální DNA nemá histony,

- mitochondriální DNA je **velice blízko dýchacímu řetězci** a tudíž i radikálům, které se při reakcích v dýchacím řetězci tvoří, z toho důvodu je vyšší pravděpodobnost poškození její DNA těmito radikály

**⚠ Vzhledem k závažnosti onemocnění uvedených níže, je nutné, aby každý pacient s nevysvětlitelnou neuromuskulární poruchou byl podroben vyšetření na tato onemocnění spolu s vyšetřením poruch metabolismu mastných kyselin a karnitinového cyklu, jelikož tato všechna se úzce týkají energetického metabolismu buňky.**

Vzhledem k dvojímu původu mitochondriálních proteinů, včetně proteinů komplexů dýchacího řetězce a assembly faktorů podílejících se na sestavení těchto komplexů, existuje několik základních příčin mitochondriálních onemocnění způsobených deficitem ETC. V nejširším smyslu je možné je rozdělit podle toho, zda se na patologii onemocnění podílí mutace mitochondriální DNA nebo ne. I tyto mutace však mohou mít svou hlubší příčinu v nesprávné funkci jaderně kódovaného proteinu podílejícího se na údržbě mitochondriálního genomu. Z hlediska dědičnosti je tak můžeme rozdělit opět do několika skupin. První tvoří spontánně vzniklé mutace v mtDNA vyskytující se v zárodečné linii, které se tudíž dědí maternálně (viz výše). Tyto mutace bez známé příčiny mohou však vznikat i v průběhu života, tj. sporadicky. Typickým příkladem těchto onemocnění je například syndrom Kearns-Sayre (viz níže). Dále se vyskytují vícečetné mutace mtDNA způsobené poruchou funkce jaderně kódovaného proteinu (která je naopak zapříčiněna mutací v jaderném genomu). Jedná se především o proteiny podílející na replikaci a údržbě mitochondriálního genomu a enzymy metabolismu nukleotidů a jejich transportu do mitochondrií. Tato onemocnění mohou mít dědičnost autosomálně dominantní nebo autosomálně recesivní.

Druhou velkou skupinu pak tvoří onemocnění zapříčiněná výhradně mutací v jaderné DNA bez následného vzniku dalších mutací v mtDNA. Tyto mutace mohou být v genech kódujících samotné proteinové podjednotky komplexů dýchacího řetězce, ale také assembly faktory pomáhající sestavení těchto komplexů, proteiny zajišťující transport ostatních proteinů do mitochondrií a jiné.

**Na vzniku jednotlivých onemocnění a syndromů se však může podílet více různých mechanismů uvedených výše. Např. podobný syndrom může vznikat při mutaci v různých genech podjednotek některého z komplexů dýchacího řetězce, přestože některé z těchto genů jsou součástí jaderného a jiné mitochondriálního genomu (viz níže) apod.** Symptomy některých syndromů se překrývají, jindy pacient vykazuje soubor symptomů neodpovídající přesně žádnému z popsanych syndromů.

## Chronická progresivní externí ophthalmoplegie (CPEO)

- vyskytuje se společně s jinými změnami u syndromu Kearns-Sayre nebo samostatně, dědičnost nejčastěji autosomálně dominantní nebo autosomálně recesivní
- **příčina:** bodové mutace jaderných genů, např. *POLG*, *TWINK*, *RRM2B* nebo *SLC25A4*, jejichž produkty proteinové produkty se se účastní replikace mtDNA a metabolismu nukleotidů v mitochondriích. Následkem jejich nesprávné funkce dochází k akumulaci mutací (především delecí) v mtDNA. Může být způsobena i jednotlivou rozsáhlou delecí mtDNA podobně jako syndrom Kearns-Sayre (viz níže) nebo bodovou mutací mtDNA, např. v genu *MT-TL1* kódujícím tRNA leucinu
- **klinický obraz:** ptosa, okulární myopatie s nástupem mezi 18 a 40 rokem věku, popř. generalisovaná myopatie, intolerance cvičení, dysfagie, *ragged red fibres*, poruchy sluchu aj.
- OMIM #157640 (<https://omim.org/entry/157640>) OMIM #609283 (<https://omim.org/entry/609283>) OMIM #609286 (<https://omim.org/entry/609286>) OMIM #258450 (<https://omim.org/entry/258450>)

## Syndrom Kearns-Sayre

- **příčina:** velká delecce v mtDNA v rozsahu 1000–10000 nukleotidů, nejčastěji 4997 nt
- **klinický obraz:** ptosa, okulární myopatie před 20 lety věku, pigmentová retinitida, případně převodní srdeční porucha, mozečková ataxie, zvýšená koncentrace bílkoviny v likvoru (více než 100 mg/dl), poruchy sluchu, svalová hypotonie, hypopituitarismus, *ragged red fibres*.
- OMIM #530000 (<https://omim.org/entry/530000>)

## Pearsonův syndrom

- **příčina:** velká delecce v mtDNA v rozsahu 1000–10000 nukleotidů, nejčastěji 4997 nt
- **klinický obraz:** anémie/pancytopenie, dysfunkce pankreatu a jater v dětství, přeživší přecházejí do Kearns-Sayre syndrom
- OMIM #557000 (<https://omim.org/entry/557000>)

## Maternálně dědičný diabetes a hluchota (MIDD)

- **příčina:** mutace v mtDNA v genu *MT-TL1*, *MT-TK* nebo *MT-TE*, jedná se o geny kódující mitochondriální tRNA Leu, Lys a Glu
- **klinický obraz:** diabetes mellitus 1. typu, hluchota, makulární dystrofie sítnice
- 100% penetrance
- OMIM #520000 (<https://omim.org/entry/520000>)

## Leberova hereditární optická neuropatie (LHON)

- onemocnění s typickou **maternální dědičností, nejčastější mitochondriální onemocnění**
- **příčina:** homoplasmické mutace mtDNA, nejčastěji m.3460G>A (gen *MT-ND1*), m.11778G>A (*MT-ND4*), a m.14484T>C (*MT-ND4*)
- **klinický obraz:** akutní nebo subakutní optická atrofie *n. opticus* se začátkem kolem 20. roku věku (začínající jako drobné výpadky zorného pole)
- v některých rodinách se vyskytuje i neuritida optiku
- neúplná penetrance – u 50 % mužů a 10 % žen se projeví příznaky
- OMIM #535000 (<https://omim.org/entry/535000>)

## Leighův syndrom

- **příčina:** Mutace v jednom z více než 75 různých genů. Asi u 20 % postižených jsou příčinou mutace v mtDNA, u ostatních mutace v jaderné DNA, které kódují mitochondriální proteiny – nejčastěji porucha komplexu I (> 25 známých genů v mtDNA i nDNA), dále komplexu IV (např. gen *SURF1*), dále pyruvát dehydrogenázy nebo proteinů tvorby koenzymu Q10. Nejčastější mutací mtDNA způsobující tento syndrom je substituce m.8993T>G v genu *MT-ATP6*, jehož proteinový produkt je součástí ATPsyntázy
- mutace mtDNA způsobující při vysoké heteroplasmii Leighův syndrom mohou při nižším zastoupení mutovaných molekul způsobovat neurogenní slabost s ataxií a retinitis pigmentosa (NARP)
- prahový efekt mutace mtDNA je **31%**
- **klinický obraz:** Mezi první projevy obvykle patří zvracení, průjem a dysfagie. Dále **degenerace bazálních ganglií**, hyperlaktacidemie, svalová slabost, křeče, progresivní zhoršování motoriky, prohlubující se **psychomotorická retardace** a nepravidelné dýchání, oftalmoparéza, nystagmus, atrofie *n. optici*. Projevy již před prvním rokem života, progresivní průběh, smrt do několika měsíců resp. let obvykle následkem respiračního selhání.
- OMIM #256000 (<https://omim.org/entry/256000>)

## NARP

- = *neuropathy, ataxia, and retinitis pigmentosa*
- **příčina:** Mutace v genu *MT-ATP6*, jehož proteinový produkt je součástí ATPsyntázy, nejčastěji substituce m.8993T>G. Při heteroplasmii vyšší než ~90 % způsobuje Leighův syndrom
- **klinický obraz:** neurodegenerace, svalová slabost, ataxie a retinitis pigmentosa
- OMIM #551500 (<https://omim.org/entry/551500>)

## MELAS

- = *mitochondrial encephalomyopathy, lactic acidosis, and stroke-like episodes*
- **příčina:** Bodové mutace v mtDNA, nejčastěji m.3243A>G v genu *MT-TL1* (tRNA pro Leu), dále *MT-ND1*, *MT-ND5*, *MT-TH* nebo *MT-TV*
- **klinický obraz:** Mitochondriální encephalomyopatie, laktátová acidóza, stroke-like syndrom a Diabetes mellitus, dále se vykytují křeče, demence a svalová slabost, popř. hluchota nebo slepota.
- OMIM #540000 (<https://omim.org/entry/540000>)

## MERRF

- **příčina:** Nejčastěji mutace mtDNA v genu *MT-TK* (tRNA pro Lys), konkrétně m.8344G>A, dále *MT-TL1*, *MT-TH* nebo *MT-TS1*
- **klinický obraz:** Myopatie, ataxie, myoclonická epilepsie a *ragged red fibres*. Dále hluchota senzorineurální, popř. atrofie *n. optici* nebo progresivní demence.
- OMIM #545000 (<https://omim.org/entry/545000>)

1. KUKAT, Christian, Christian A WURM a Henrik SPÅHR, et al. Super-resolution microscopy reveals that mammalian mitochondrial nucleoids have a uniform size and frequently contain a single copy of mtDNA. *Proc Natl Acad Sci U S A* [online]. 2011, vol. 108, no. 33, s. 13534-9, dostupné také z <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3158146/?tool=pubmed>>. ISSN 0027-8424 (print), 1091-6490.
2. FORNER, Francesca, Leonard J FOSTER a Stefano CAMPANARO, et al. Quantitative proteomic comparison of rat mitochondria from muscle, heart, and liver. *Mol Cell Proteomics* [online]. 2006, vol. 5, no. 4, s. 608-19, dostupné také z <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16415296>>. ISSN 1535-9476.