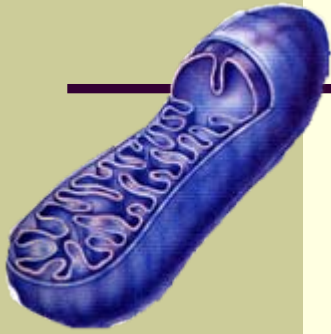




Mitochondriálne ochorenia a myopatie

Pavol Kučera

I.neurologická klinika LFUK a FNsP
Bratislava

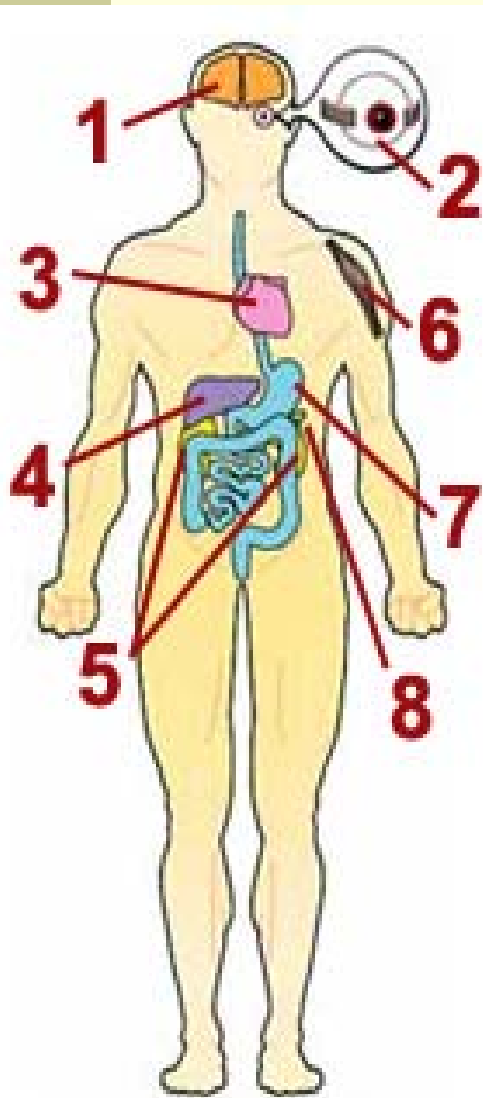
História a terminológia

- 1964,1966 – mitochondriálne myopatie s nálezom abnormálnych mitochondrií (Shy GM a kol.)
- 1972 – „ragged-red fibres“ (Olson MS a kol.)
- 1980 – mitochondriálne encefalomyelopatie (MELAS,MERRF, KSS – splitters versus lumpers)
- 1988 – dôkaz delécie a bodovej mutácie mtDNA (Holt IJ a kol,1988, Wallace DC a kol., 1988)
- Súčasnosť – „mitochondriálne ochorenia“ , „mitochondriálne cytopatie“, „ochorenia OXPHOS“

Definícia a epidemiológia

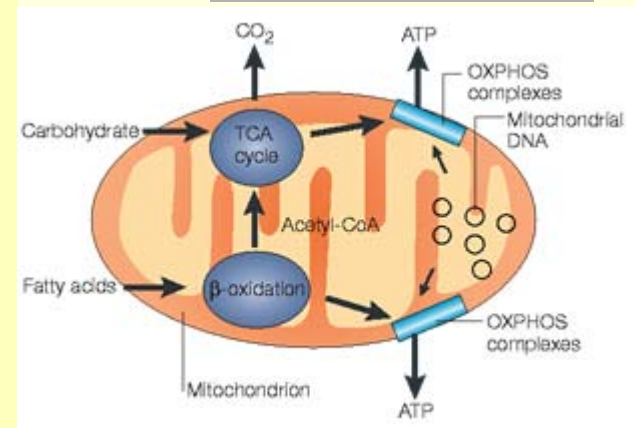
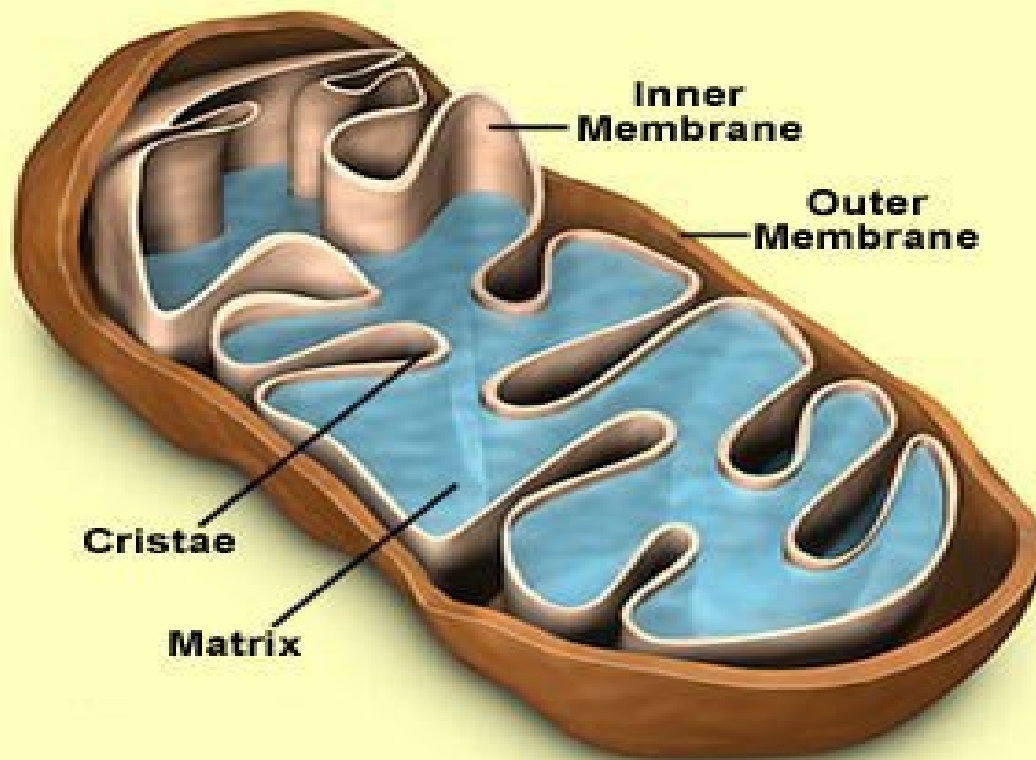
- Heterogénna skupina genetických ochorení s multisystémovými prejavmi spôsobenými poruchou reťazca oxidatívnej fosforylácie (OXPHOS) v mitochondrií
- Je podmienená poruchou mitochondriálnej a/alebo nukleárnej DNA (mtDNA, nDNA)
- Odhadovaný výskyt 1:8500 jedincov (Chinnery PF a kol. 2001)

Príznaky mitochondriálnych ochorení



1. **NS** - epi záchvaty, demencia, hluchota, NCMP pred 40 rokom, života, ataxia, neuropatia
2. **Oči** – oftalmoplegia, pigmentová retinitída
3. **Srdce** – kardiomyopatia, arytmia
4. **Pečeň** – hepatálne zlyhávanie
5. **Obličky** – Fanconiho syndróm
6. **Svalstvo** – slabosť, intolerancia záťaže, kŕče
7. **GIT** – diarhoe, obstipácia, vomitus
8. **Pankreas** - diabetes

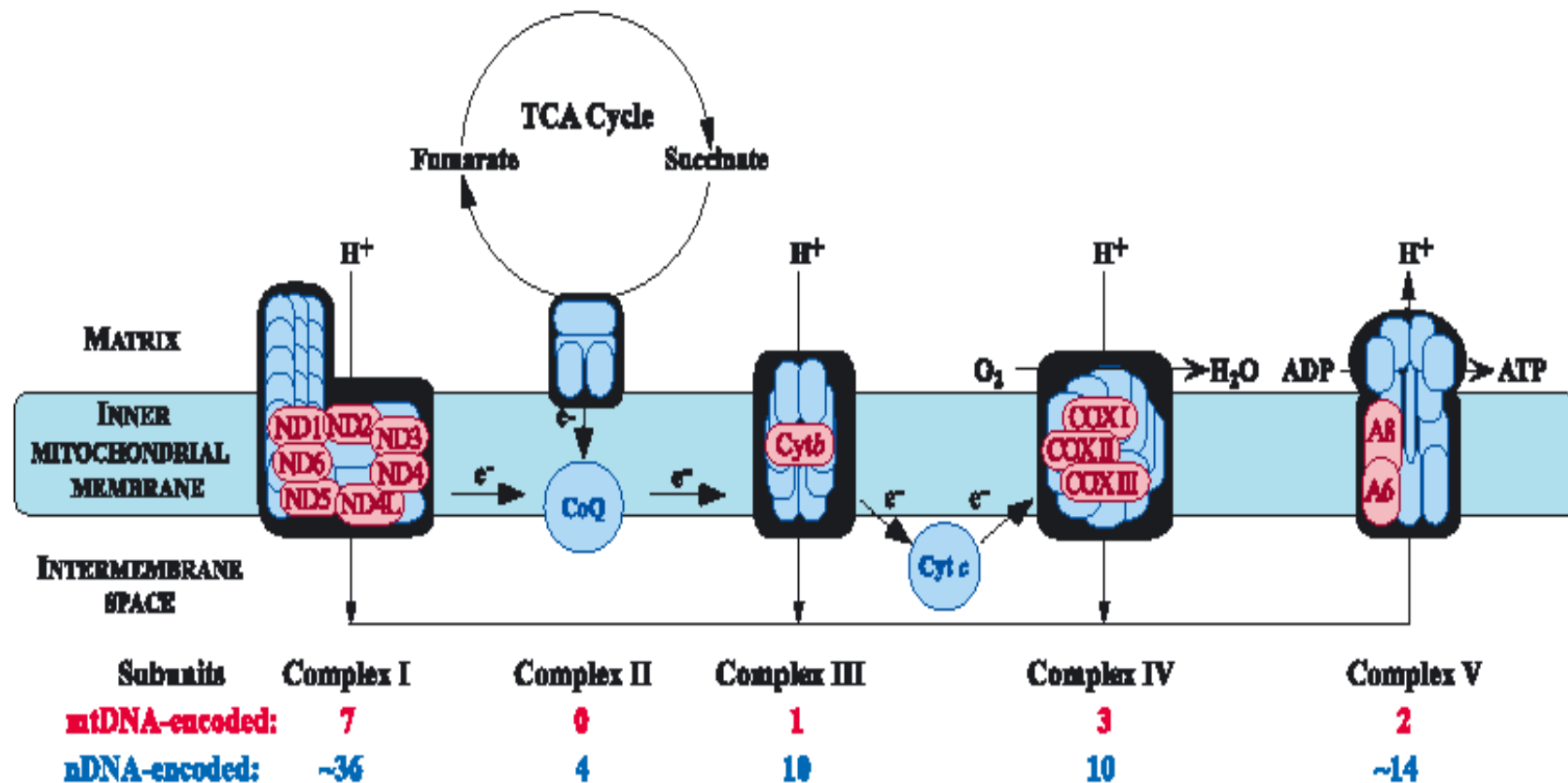
Štruktúra mitochondrie



OXPHOS

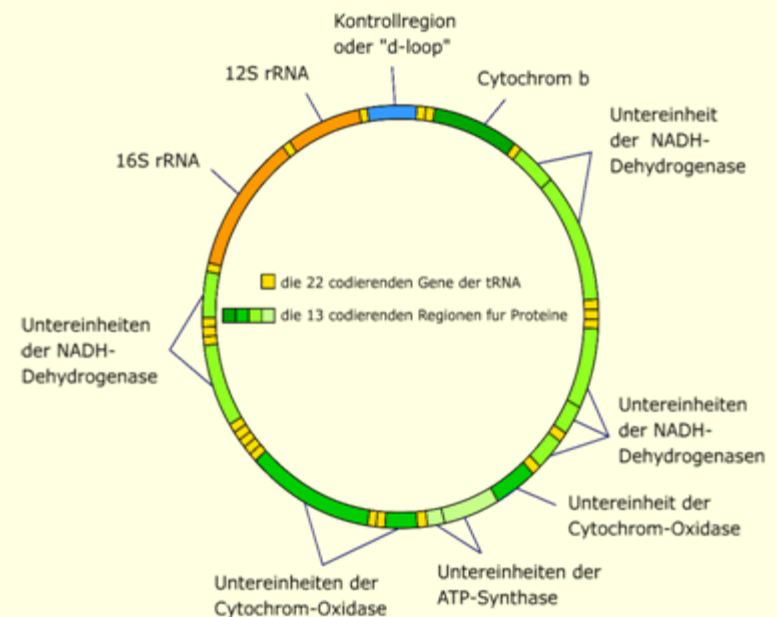
82

S. DiMauro / Biochimica et Biophysica Acta 1658 (2004) 80–88



Mitochondriálna DNA (mtDNA)

- cirkulárna štruktúra tvorená 16 569 pámi nukleotidových báz
- mtDNA kóduje tvorbu 2 rRNA, 22 tRNA a 13 proteínov komplexov OXPHOS



Mitochondriálna genetika

- **Maternálny typ dedičnosti**

- Expresia ochorenia u oboch pohlaví, ♀ prenos

- **Heteroplazmia**

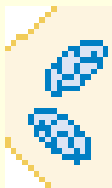
- Prítomnosť mutovanej mtDNA v bunke, tkanive, u jedinca

- **Prahový efekt**

- Klinická expresia závisí od proporcionality normálnej a mutovanej mtDNA→fenotyp

- **Mitotická segregácia**

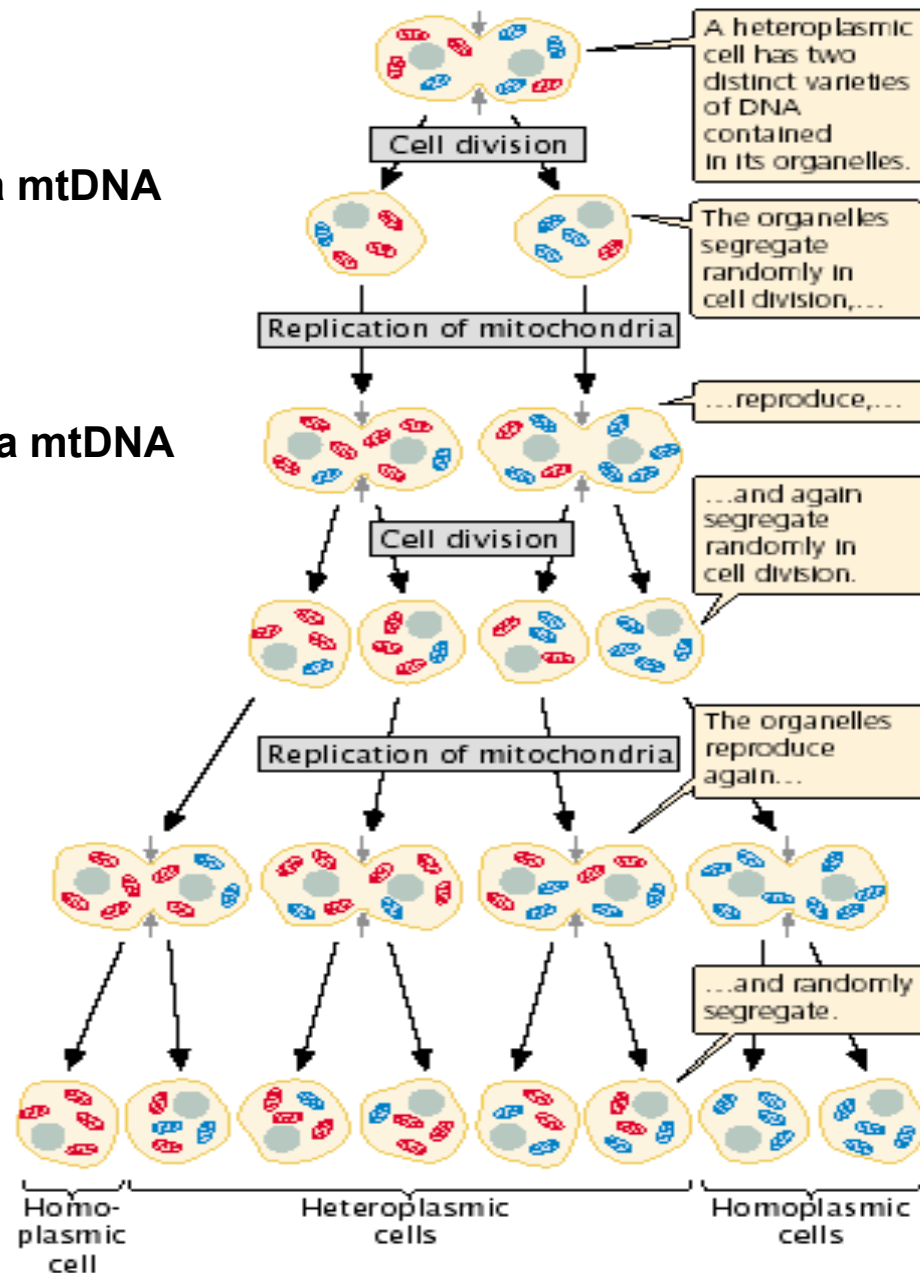
- Pri delení buniek sa môže meniť proporcionality normálnej a mutovanej mtDNA v dcérskych bb.- zmena genotypu a následne fenotypu v čase a mieste



Mutovaná mtDNA



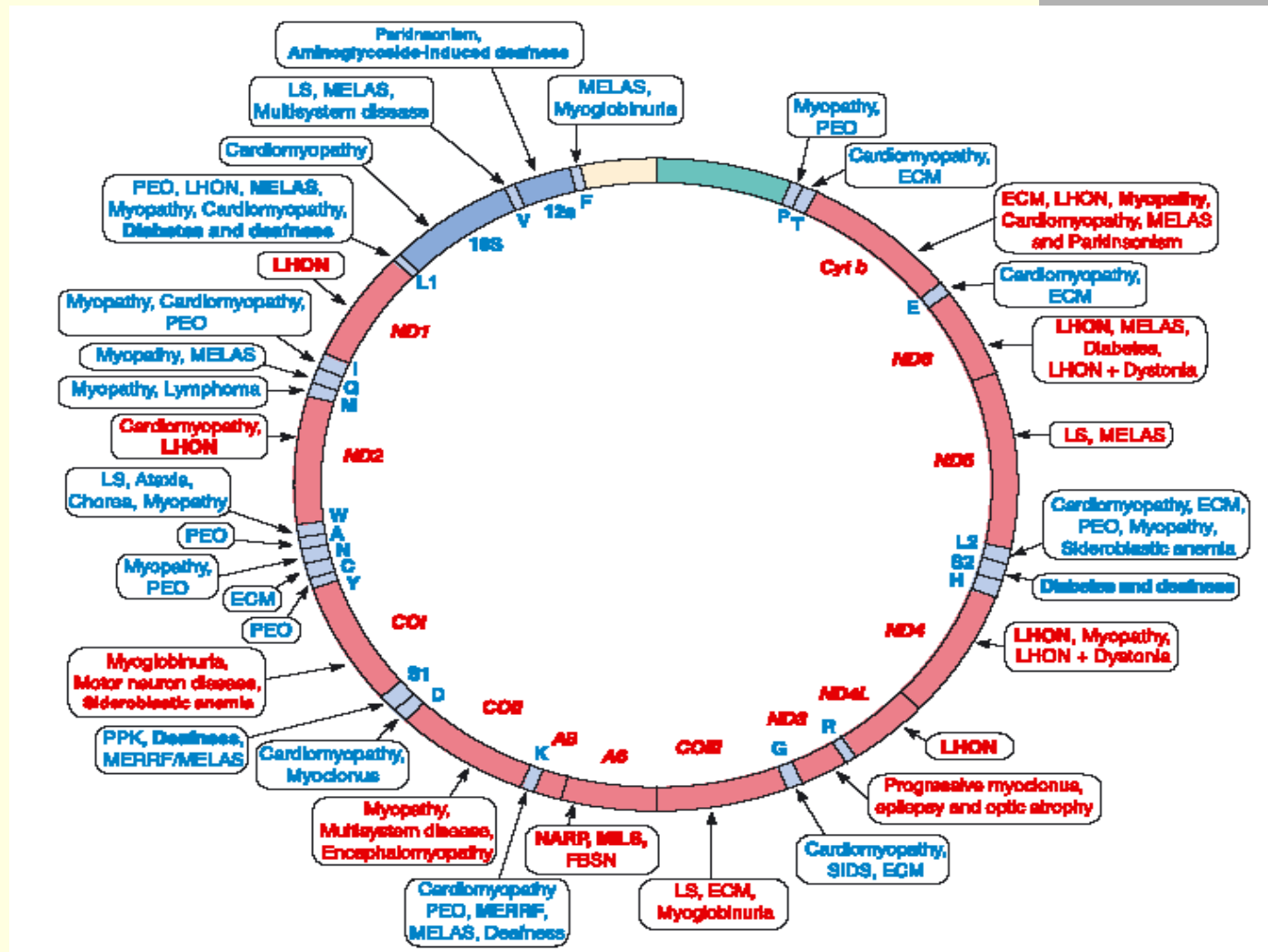
Normálna mtDNA



Mutácie mtDNA

- Spôsobujúce poruchu syntézy mitochondriálnych proteínov „in toto“ (t.j. mutácie tRNA alebo rRNA)
 - Delécie a duplikácie (Kearn-Sayre, Pearsonov sy)
 - Bodové mutácie (MELAS, MERRF)
- Spôsobujúce defekt proteínov komplexu OXPHOS (NARP, MILS, LHON, myopatie)

Mapa ochorení genómu mtDNA



Genetická a biochemická klasifikácia mitochondriálnych ochorení (S.DiMauro, 2004)

Genetic and biochemical classification of the mitochondrial diseases

Genome	Gene	[mtDNA]	Biochemistry	Clinical phenotype
mtDNA		single Δ	$\Downarrow$ prot. synth.	KSS; ocular myopathy; PS
	tRNA ^{Leu(UUR)}		$\Downarrow$ prot. synth.	MELAS
	tRNA ^{Lys}		$\Downarrow$ prot. synth.	MERRF
	other tRNAs		$\Downarrow$ prot synth.	multiple phenotypes
	ATPase6		$\Downarrow$ ATP synth.	NARP/MILS
	ND1, ND4, ND6		$\Downarrow$ complex I	LHON
	ND1, ND4		$\Downarrow$ complex I	myopathy ^a
	Cyt b		$\Downarrow$ complex III	myopathy ^a
	COX III		$\Downarrow$ complex IV	myopathy ^a
nDNA	<i>NDUF</i>		$\Downarrow$ complex I	LS
	<i>SDHA</i>		$\Downarrow$ complex II	LS
	<i>BCS1L</i>		$\Downarrow$ complex III	GRACILE
	<i>SURF1</i>		$\Downarrow$ complex IV	LS
	<i>SCO1</i>		$\Downarrow$ complex IV	hepatoencephalomyopathy
	<i>SCO2</i>		$\Downarrow$ complex IV	cardioencephalomyopathy
	<i>COX10</i>		$\Downarrow$ complex IV	nephroencephalomyopathy
	<i>COX 15</i>		$\Downarrow$ complex IV	cardioencephalomyopathy
	<i>ATP 12</i>		$\Downarrow$ complex V	fatal infantile multisystemi
	<i>TP</i>	multiple Δ	$\Downarrow$ _	MNGIE
	<i>ANT1</i>	multiple Δ	$\Downarrow$ prot. synth.	adPEO-plus ^b
	<i>Twinkle</i>	multiple Δ	$\Downarrow$ prot. synth.	adPEO-plus ^b
	<i>POLG</i>	multiple Δ	$\Downarrow$ prot. synth.	ad/arPEO-plus ^b
	<i>dGK</i>	depletion	$\Downarrow$ prot. synth.	hepatocerebral syndrome
	<i>TK2</i>	depletion	$\Downarrow$ prot. synth.	myopathy; SMA
	<i>TAZ</i>		$\Downarrow$ cardiolipin	Barth syndrome
	<i>OPA1</i>		$\Downarrow$ mit. Motility	ad optic atrophy

Diagnostika klinická

■ Sval

- Intolerancia záťaže, hypotonia, proximálna myopatia, faciálna a faryngeálna myopatia, externá opftalmoparéza

■ Srdce

- Hypertrofická kardiomyopatia, dysrytmie

■ CNS

- Atrofia n.II, pigmentová retinopatia, myoklonus, demencia, epilepsia, hluchota, mentálne poruchy, stroke-like epizódy

■ PNS

- Neuropatia, aj autonómna

■ Endokrinný systém

- Diabetes, infertility

Diagnostika laboratórna

- Laktát a pyruvát (pokoiový a pozáťažový) v krvi, laktát a bielkoviny v likvore
- CT a NMR – kalcifikácie, fokálne lézie, atrofia
- EMG, EEG – myogénna lézia, hrot-vlna
- Histol. a histochemické vyš.biopsie svalu
 - Ragged –red fibres
 - ↓cytochrom-c-oxidáza (COX)
 - ↑sukcinát dehydrogenáza (SDH)
- Biochem. Vyš.OXPHOS z bioptickej vzorky

Diagnostika molekul.-genetická

- Southern blot – delécie a duplikácie mtDNA
- PCR-Restriction Length Fragment Polymorphism – bodové mutácie
- Sekvenčná analýza mtDNA – nové mutácie

**Negatívny nález ešte nevylučuje prítomnosť
mutácie mtDNA !!!**

Nastolené otázky do budúcnosti

- Epidemiologické štúdie - nedostatok
- Existujú „rizikové“ skupiny populácie“ obdobne ako u nukleárných genetických ochoreniach? (nDNA kóduje transkripciu, transláciu a replikáciu mtDNA, intergenomické vzťahy)
- Má význam prenatálna diagnostika? (amniové bunky nemusia obsahovať mutovanú mt DNA)
- Mutácia mtDNA a degeneratívne ochorenia (Parkinsonova ch., Alzheimerova ch. , ALS) a stárnutie

Diagnostické kritéria KSS

Rowland, 1983

HLAVNÉ

- začiatok pred 20 rokmi života
- pigmentová retinopatia
- progresívna externá oftalmoplegia

VEDĽAJŠIE

- blok srdcového vedenia
- hladina bielkovín v likvore nad 1000mg/l
- cerebelárna ataxia
(*minim.prítomnosť jedného z vedľajších príznakov*)

Priebeh ochorenia

- prvé príznaky už v detstve (počínajúca ptóza a / alebo oftalmoparéza, zriedka s diplopiou)
- postupná progresia v priebehu niekoľkých rokov
- postupná manifestácia A-V blokády až do obrazu kompletného bloku (pacemaker !)

Nálezy laboratórnych vyšetrení

- ↑hladina laktátu a pyruvátu v kľúde a po záťaži
- ↑proteinorachia (1000mg/l)
- A-V blokáda v EKG
- myogénna lézia v EMG obraze
- leukoencephalopatia, cerebrálna a cerebelárna atrofia v CT a NMR obraze
- delécia alebo duplikácia mtDNA pri Southern blot analýze
- „red -ragged fibres“ pri modifikovanom farbení podľa Gomoriho

Kazuistika KSS, pac. D.K. 31 r, žena

Z anamnézy

- neg. rodinná anamnéza
- ako 16r. tras končatín pri úchope a písaní
- 24 r. porodila zdravé dieťa, po pôrode asymetrický pokles viečok , bez diplopie, pre A-V blok implantovaný pacemaker, zistený DM
- postupné zvýrazňovanie poklesu viečok, pri priamom pohľade musí zakláňať hlavu

Objektívny nález

- ptóza obojstranne, obmedzená pohyblivosť bulbov nahor a do strán, fotoreakcia neporušená (sy. externej oftalmoplegie)
- končatinová ataxia s intenčným trasom na všetkých končatinách , ľahká ataxia chôdze, Rombergov príznak neg. (cerebellárna ataxia)
- na sietnici difúzne (i makulárne) pigmentové ložiská (retinitis pigmentosa)

Výsledky pomocných a laboratórnych vyšetrení

- patologické hodnoty glykemickej krivky (*diabetes mellitus*)
- ↑ hladina laktátu v kľude a po záťaži (4,2 a 9,5 mmol/l) (*porucha aeróbného metabolizmu*)
- bioptické vyšetrenie svalovej vzorky modifik. Gomoriho farbením - ojedinelé vlákna pripomínajúce „red ragged fibers“
- ↑ proteinorachia (940 mg/l)
- CT mozgu - známky mozgovej atrofie
- EMG, STEMG, repet.STEMG - normálny nález

PORUCHY MITOCHONDRIÁLNÍHO ENERGETICKÉHO METABOLIZMU U PACIENTŮ S KEARNS-SAYREOVÝM SYNDROMEM

Čapková M., Tesařová M., Wenchich L., Černá L., Hansíková H.,
¹Hůlková H., ¹Hrubá E., ¹Elleder M., Zeman J.

Klinika dětského a dorostového lékařství a Centrum integrované genomiky 1. LF UK a VFN, Praha

¹Ústav dědičných metabolických poruch 1. LF UK a VFN, Praha

Za spolupráci děkujeme i kolegům z Ústavu biologie a lékařské genetiky (Dr. T. Maříková, CSc.), I. dětské kliniky (Dr. J. Kreisinger, CSc.) a Neurologických klinik FN v Praze Motole (Dr. J. Kraus, CSc., Dr. R. Mazanec, Dr. R. Černý, CSc.), Neurologických klinik VFN v Praze 2 (Dr. L. Šimková) a Bratislavě (Dr. P. Kučera) a I. patologicko-anatomického ústavu 1. LF UK (prof. A. Jirásek, DrSc.).