



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ



ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΚΥΤΤΑΡΟΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΚΑΙ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ-ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ»

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

«ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΜΙΤΟΧΟΝΔΡΙΑΚΩΝ ΠΑΘΗΣΕΩΝ ΣΤΗΝ ΠΑΙΔΙΚΗ
ΗΛΙΚΙΑ»

ΠΑΠΠΑ ΤΑΤΙΑΝΗ

ΙΑΤΡΟΣ

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

ΤΣΕΖΟΥ ΑΣΠΑΣΙΑ, ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ ΠΘ, Επιβλέπουσα

ΠΑΠΑΘΑΝΑΣΙΟΥ ΙΩΑΝΝΑ, ΕΠΙΟΥΡΗ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ ΠΘ, Μέλος

ΤΖΕΤΗ ΜΑΡΙΑ, ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ ΕΚΠΑ, Μέλος

ΛΑΡΙΣΑ, 2023



UNIVERSITY OF THESSALY
SCHOOL OF HEALTH SCIENCES
FACULTY OF MEDICINE



POSTGRADUATE MASTER PROGRAM
“HUMAN GENETICS –GENETIC COUNSELING”

MASTER’S THESIS

**“GENETICS OF MITOCHONDRIAL DISEASES IN
CHILDHOOD”**

TATIANI PAPPA

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Ευχαριστώ θερμά την επιβλέπουσα καθηγήτρια μου, κυρία Ασπασία Τσέζου, για την ανάθεση του συγκεκριμένου θέματος και την καθοδήγηση στην ολοκλήρωση της μεταπτυχιακής διπλωματικής μου εργασίας.

Ευχαριστώ επίσης την κυρία Ιωάννα Παπαθανασίου και την κυρία Μαρία Τζέτη, μέλη της τριμελούς επιτροπής, για την συμβολή τους στην ολοκλήρωση αυτής της εργασίας.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένειά μου για τη συμπαράσταση, τη στήριξη και την υπομονή τους κατά τη διάρκεια των σπουδών μου.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η παρούσα διπλωματική εργασία μελετά τη γενετική βάση των μιτοχονδριακών νοσημάτων στην παιδική ηλικία. Πρόκειται για μία κλινικά ετερογενή ομάδα σπάνιων παθήσεων με πολύπλοκο γενετικό υπόβαθρο, που επηρεάζει κυρίως παιδιά έως 18 ετών, με αυξημένη νοσηρότητα και θνητότητα. Τα γενετικά αίτια των μιτοχονδριοπαθειών εντοπίζονται τόσο στο πυρηνικό, όσο και στο μιτοχονδριακό DNA, με ποικίλες μεταλλάξεις να οδηγούν σε διαταραχή των μιτοχονδριακών λειτουργιών. Έως τώρα, οι θεραπευτικές παρεμβάσεις στα μιτοχονδριακά νοσήματα περιορίζονταν σε υποστηρικτική αντιμετώπιση και συμπτωματική ανακούφιση.

Η τρέχουσα έρευνα εξετάζει τα νεότερα βιβλιογραφικά δεδομένα σχετικά με τις γενικές αρχές της μιτοχονδριακής γενετικής και λειτουργικότητας, την εξέλιξη στην ανεύρεση γενετικών αιτιών των μιτοχονδριοπαθειών καθώς και τις νεότερες θεραπευτικές προσεγγίσεις σε παιδιατρικούς ασθενείς. Τα δεδομένα συλλέχθηκαν από τη μηχανή αναζήτησης Pubmed και την ιστοσελίδα <https://clinicaltrials.gov/>.

Λέξεις- Κλειδιά: μιτοχονδριακά νοσήματα, γενετική, διάγνωση, θεραπεία, παιδιά

ABSTRACT

This thesis studies the genetic basis of mitochondrial diseases in childhood. Mitochondrial diseases constitute a clinically heterogeneous group of rare diseases with a complex genetic background, affecting mainly children up to 18 years of age, with increased morbidity and mortality. The genetic causes of mitochondrial diseases are located in both nuclear and mitochondrial DNA, with various mutations leading to disruption of mitochondrial functions. Until now, therapeutic interventions in mitochondrial diseases have been limited to supportive care and symptomatic relief.

The current research examines the latest literature data on the general principles of mitochondrial genetics and functions, the progress in finding genetic causes of mitochondrial diseases as well as the newest therapeutic approaches in pediatric patients. Data were collected from the search engine Pubmed and the website <https://clinicaltrials.gov/>.

Key words: mitochondrial disease, genetics, diagnosis, therapy, children

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

A. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	6
1. Το μιτοχόνδριο	6
1.1 Η δομή του μιτοχονδρίου	6
1.2 Μιτοχονδριακή γενετική	8
1.3 Ο ρόλος του μιτοχονδρίου	16
2. Ενδογενείς διαταραχές του μεταβολισμού	19
B. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	22
1. Μιτοχονδριακά νοσήματα.....	22
1.1 Σύνδρομα σχετιζόμενα με τη πολυμεράση γ (Polγ).....	24
1.2 Διαταραχές διατήρησης του mtDNA	30
1.3 Επικρατής οπτική ατροφία – Dominant optic atrophy (DOA)	37
1.4 Φάσμα συνδρόμου Leigh - Leigh syndrome spectrum (LSS)	39
1.5 Pearson syndrome	47
1.6 Kearns–Sayre syndrome.....	49
1.7 Barth syndrome.....	50
1.8 Σύνδρομο Sengers.....	52
1.9 MELAS - mitochondrial encephalomyopathy with lactic acidosis and stroke-like episodes	54
1.10 MERRF - myoclonus epilepsy with ragged-red fibres.....	55
1.11 Κληρονομική οπτική νευροπάθεια - Leber hereditary optic neuropathy (LHON)	56
1.12 mtARS-σχετιζόμενες μιτοχονδριοπάθειες.....	57
2. Διάγνωση	61
2.1 Βιοχημικές εξετάσεις σε αίμα, ούρα και ENY - Metabolomics	61
2.2 Νευροαπεικόνιση	63
2.3 Βιοδείκτες.....	63
2.4 Ιστοπαθολογία	63
2.5 Γονιδιακός έλεγχος	64
3. Θεραπεία	66
3.1 Φαρμακευτική θεραπεία.....	66
3.2 Υποστηρικτική θεραπεία	66
3.3 Άσκηση	67
3.4 Θεραπεία κατά τη διάρκεια stress.....	67
3.5 Νεότερα θεραπευτικά δεδομένα	67
Βιβλιογραφία	72

A. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. Το μιτοχόνδριο

1.1 Η δομή του μιτοχονδρίου

Τα μιτοχόνδρια είναι κυτταροπλασματικά ημιαυτόνομα οργάνιλια που απαντώνται σε όλα τα ανθρώπινα κύτταρα πλην των ερυθροκυττάρων. Παρουσιάζουν διαφορές ως προς το μέγεθος, τον αριθμό, το σχήμα και τη διάταξή τους στο κυτταρόπλασμα, ανάλογα με τον ιστό στον οποίο βρίσκονται και τις ενεργειακές του ανάγκες. Τέτοιες διαφορές παρατηρούνται ακόμη και μεταξύ ομάδων μιτοχονδρίων του ίδιου κυττάρου την ακριβώς ίδια στιγμή, που ίσως σχετίζονται με την ικανότητα του κυττάρου να απαντά σε τοξικές διεργασίες και καταστάσεις stress (Duchen, 2004). Κάθε ανθρώπινο κύτταρο περιέχει από 5 έως 2000 μιτοχόνδρια, με το σχήμα τους να είναι κυρίως σφαιρικό (απαντώνται στο ήπαρ με διάμετρο 0,5-5 μm) ή κυλινδρικό (έχουν διάμετρο τουλάχιστον 0,2 μm και μήκος έως 20 μm) (Perkins & Frey, 2000).

Τα μιτοχόνδρια διαθέτουν δύο διακριτές μεμβράνες, την εξωτερική και την εσωτερική, με σημαντικές διαφορές στη σύνθεσή τους, το ρόλο, τη διαπερατότητα και το σχήμα τους (Duchen, 2004; Protasoni & Zeviani, 2021).

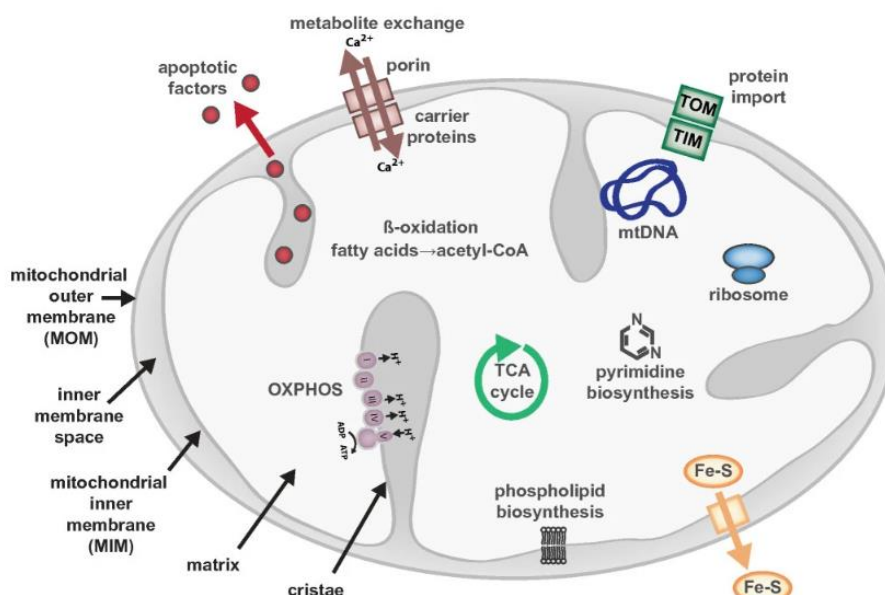
Η εξωτερική μεμβράνη διαθέτει πόρους και είναι εύκολα διαπερατή από ιόντα και μικρά μη φορτισμένα μόρια μέσω των πορινών (Bayrhuber et al., 2008), ενώ μεγαλύτερα μόρια, και ιδίως πρωτεΐνες, εισάγονται στο μιτοχόνδριο μέσω ειδικών τρανσλοκασών της εξωτερικής μεμβράνης. Λόγω της παρουσίας των πόρων η εξωτερική μιτοχονδριακή μεμβράνη δεν έχει μεμβρανικό δυναμικό και η λιπιδική της σύσταση προσομοιάζει αυτή των μεμβρανών των ευκαρυωτικών κυττάρων. Από την άλλη, η εσωτερική μιτοχονδριακή μεμβράνη χαρακτηρίζεται από μεγαλύτερο λόγο πρωτεϊνών/λιπιδίων, μοιάζοντας περισσότερο με τις πλούσιες σε καρδιολιπίνες βακτηριακές μεμβράνες. Η εσωτερική μιτοχονδριακή μεμβράνη είναι ουσιαστικά ένας ισχυρός φραγμός για τη διέλευση όλων των ιόντων και των διάφορων μορίων, τα οποία μπορούν να τη διαπεράσουν μόνο με τη βοήθεια ειδικών μεμβρανικών πρωτεϊνών μεταφοράς. Η κάθε μία από αυτές τις πρωτεΐνες είναι ειδική για ένα συγκεκριμένο ιόν ή μόριο και αυτή η ειδικότητα προσδίδει στην εσωτερική μιτοχονδριακή μεμβράνη το ηλεκτροχημικό δυναμικό της. (Kühlbrandt, 2015; Protasoni & Zeviani, 2021).

Η εξωτερική και η εσωτερική μεμβράνη των μιτοχονδρίων ορίζουν τα τρία διαμερίσματα του οργανιλίου, καθένα από τα οποία έχει διακριτό ρόλο και διαθέτει τα αντίστοιχα πρωτεϊνικά στοιχεία.

Το πλέον εσωτερικό διαμέρισμα, που περιβάλλεται από την εσωτερική μιτοχονδριακή μεμβράνη, ονομάζεται στρώμα (matrix) με pH 7.9-8, το οποίο είναι αυτό που δημιουργεί τη διαμεμβρανική ηλεκτροχημική κλίση, την κινητήριου δηλαδή δύναμη για τη σύνθεση του ATP (Perkins & Frey, 2000). Μέσα στο στρώμα επιτελούνται οι διαδικασίες της αντιγραφής και μετάφρασης του μιτοχονδριακού DNA (mtDNA), της βιοσύνθεσης πρωτεϊνών καθώς και διάφορες ενζυμικές αντιδράσεις, καθώς εκεί ανευρίσκονται ένζυμα που συμμετέχουν στον κύκλο του κιτρικού οξέος ή τα ένζυμα που απαιτούνται για την οξείδωση διάφορων μορίων (πυροσταφυλικό, λιπαρά οξέα) (Duchen, 2004).

Μεταξύ της εξωτερικής και της εσωτερικής μιτοχονδριακής μεμβράνης σχηματίζεται ο λεγόμενος διαμεμβρανικός χώρος, ένα «κενό» πλάτους ~20nm. Όλες οι πρωτεΐνες του στρώματος που προέρχονται από το κυτταρόπλασμα πρέπει να διέλθουν από το χώρο αυτό. Πρωτεϊνικές τρανσλοκάσες της εξωτερικής και της εσωτερικής μεμβράνης σχηματίζουν ένα υπερσύμπλεγμα το οποίο εκτείνεται στο διαμεμβρανικό χώρο (Gold et al., 2014).

Το τρίτο διαμέρισμα είναι η κοιλότητα των ακρολοφιών (cristae lumen). Η εσωτερική μεμβράνη περιέχει αρκετές πρωτεΐνες-μεταφορείς, οι οποίες μεταφέρουν ιόντα, ATP, ADP και μικρούς μεταβολίτες μεταξύ του κυτταροπλάσματος και του μιτοχονδριακού στρώματος. Διαθέτει επίσης τις πρωτεΐνες της αλυσίδας μεταφοράς ηλεκτρονίων αλλά και τη συνθάση του ATP. Προκειμένου να κατανεμηθεί ο μεγάλος αριθμός των απαραίτητων πρωτεϊνών στην εσωτερική μεμβράνη και ταυτόχρονα η παραγωγή του ATP να λάβει χώρα σε μεγαλύτερη έκταση, η εσωτερική μεμβράνη δημιουργεί αναδιπλώσεις που αποκαλούνται ακρολοφίες (cristae). Οι εγκολπώσεις αυτές εκτείνονται εντός του στρώματος και είναι εκείνες που δημιουργούν το αντίστοιχο διαμέρισμα. Η διαμόρφωση των ακρολοφιών διαφέρει μεταξύ των ιστών, χωρίς όμως να είναι γνωστός ο λόγος. (Duchen, 2004; Kühlbrandt, 2015).



Εικόνα 1 Δομή και λειτουργίες του μιτοχονδρίου (Lackner, 2014)

Τα μιτοχόνδρια είναι δυναμικά οργανίδια που σχηματίζουν ένα σύνθετο δίκτυο δομών, το οποίο συνεχώς μεταβάλλεται μέσω των διαδικασιών της σύντηξης και της σχάσης. (Duchen, 2004; Lackner, 2014). Ανάλογα με τις κυτταρικές ενεργειακές ανάγκες, τη μεταβολική κατάσταση του κυττάρου και την εκάστοτε κυτταρική σηματοδότηση συντίθεται ένα συγκεκριμένο μορφολογικά μιτοχονδριακό δίκτυο. Μέσω της σύντηξης των μιτοχονδρίων, αυτά μοιράζονται μεταβολίτες, πρωτεΐνες και mtDNA, ενώ η σχάση, που συνήθως συνδέεται με μιτοχονδριακή δυσλειτουργία και κυτταρικό θάνατο, απαιτείται για την κινητικότητα των μιτοχονδρίων και το διαχωρισμό κατεστραμμένων τμημάτων του δικτύου (Tilokani et al., 2018).

1.2 Μιτοχονδριακή γενετική

1.2.1 Το μιτοχονδριακό DNA

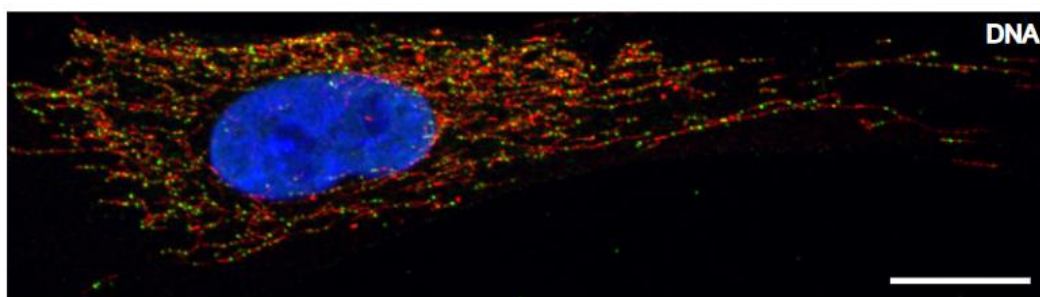
Όπως υποστηρίζεται από τις σύγχρονες θεωρίες, τα μιτοχόνδρια προέρχονται από α-πρωτοβακτήρια, ενώ τα ευκαρυωτικά κύτταρα δημιουργήθηκαν όταν ένα α-πρωτοβακτήριο εισήλθε σε ένα αρχαιοβακτήριο (Martin et al., 2015). Σύμφωνα με την υπόθεση της ενδοσυμβίωσης, αρχικά αναερόβια ευκαρυωτικά κύτταρα «καταβρόχθισαν» τα πρωτόγονα μιτοχόνδρια και μέσω ανάμιξης των γονιδίων τους δημιουργήθηκε μία σχέση αλληλεπίδρασης, όπου τα μιτοχόνδρια παρήγαγαν ενέργεια με τη μορφή του ATP, ενώ ο ξενιστής προσέφερε ένα ασφαλές περιβάλλον για τον πολλαπλασιασμό των βακτηρίων (Protasoni & Zeviani, 2021).

Η πιο ισχυρή ένδειξη αυτής της υπόθεσης είναι η μεγάλη ομολογία των συμπλεγμάτων της αναπνευστικής αλυσίδας των μιτοχονδρίων με τα αντίστοιχα των βακτηρίων (Kühlbrandt, 2015), ενώ σημαντική συνεισφορά είχε και η ανακάλυψη του mtDNA το 1960 (Biology, n.d.) καθώς και ενός ανεξάρτητου μιτοχονδριακού συστήματος μετάφρασης (Protasoni & Zeviani, 2021).

Τα μιτοχόνδρια διαθέτουν το δικό τους γενετικό υλικό, το οποίο διατηρεί τα τυπικά χαρακτηριστικά του βακτηριακού DNA, καθώς είναι ένα κυκλικό δίκλωνο μόριο με 16569 ζεύγη βάσεων που δεν διαθέτει ιντρόνια και είναι πολυσυστρονικά (Gustafsson et al., 2016; Spinazzola, 2011). Σε αντίθεση με το πυρηνικό DNA (nDNA), το mtDNA ανευρίσκεται σε πολλά αντίγραφα μέσα σε ένα κύτταρο, τα οποία υπολογίζονται μεταξύ 100 και 10.000, ανάλογα με τις ενεργειακές απαιτήσεις κάθε ιστού (Gustafsson et al., 2016). Οι δύο αλυσίδες του mtDNA εμφανίζουν διαφορετική νουκλεοτιδική σύσταση, και άρα διαφορετικές μάζες, και χαρακτηρίζονται ως L (light-ελαφριά αλυσίδα) και H (heavy-βαριά αλυσίδα). Η H-αλυσίδα είναι πλούσια σε γουανίνη και η L-αλυσίδα σε κυτοσίνη, ενώ διαφορές παρατηρούνται και σχετικά με την τοποθεσία των γονιδίων. Στο mtDNA κάθε γονίδιο είναι συνεχόμενο με το επόμενο, μολονότι κάποια επικαλύπτονται μερικώς, ενώ υπάρχει και μια μη κωδικοποιούσα περιοχή (NCR) (Gustafsson et al., 2016). Η περιοχή αυτή περιλαμβάνει ρυθμιστικές ακολουθίες για τη μεταγραφή και τη μετάφραση, καθώς περιέχει τη σημείο έναρξης της αντιγραφής του mtDNA, ενώ είναι και η θέση των υποκινητών της μεταγραφής των H-αλυσίδων (HSP1 και HSP2) (Andrews et al., 1999). Ένας τρίτος υποκινητής βρίσκεται στη θέση ενός παρακείμενου tRNA γονιδίου. Έτσι οι πληροφορίες που κωδικοποιούνται από το mtDNA μεταγράφονται από τον έναν από τους τρεις υποκινητές ως πολυσυστρονικά μετάγραφα (Spinazzola, 2011). Η NCR είναι και το σημείο σχηματισμού των D-loops (displacement loop), δομών των οποίων ο ρόλος δεν έχει αποσαφηνιστεί αλλά φαίνεται να εμπλέκονται στην οργάνωση και το διαχωρισμό του mtDNA (Di Re et al., 2009; Spinazzola, 2011).

Το mtDNA πακετάρεται με πρωτεΐνες, όπως ο μιτοχονδριακός μεταγραφικός παράγοντας TFAM και η πρωτεΐνη Abf2, σχηματίζοντας υπερμοριακές μονάδες (πολυγενωμικά νουκλεοπρωτεϊνικά συμπλέγματα) που ονομάζονται νουκλεοειδή. Τα νουκλεοειδή υπάρχουν σε μεγάλο αριθμό (περίπου 1000) μέσα σε κάθε κύτταρο και αλληλεπιδρούν με την εσωτερική μιτοχονδριακή μεμβράνη (Kukat et al., 2011; Xin & Butow, 2005). Είναι σφαιρικά, με διάμετρο ~100nm και το καθένα περιέχει ένα

αντίγραφο του mtDNA (Johnston et al., 2015; Kukat et al., 2015). Κάποιες από τις πρωτεΐνες των νουκλεοειδών, όπως η μιτοχονδριακή DNA πολυμεράση (Polγ), αλληλεπιδρούν παροδικά με διάφορα μόρια του mtDNA, ενώ άλλες πρωτεΐνες είναι αναγκαίες για τη διατήρηση του mtDNA χωρίς να αλληλεπιδρούν άμεσα με αυτό ή με συνδετικές με το mtDNA πρωτεΐνες. Από την άλλη ο TFAM που αποτελεί το σημαντικότερο πρωτεϊνικό συστατικό του νουκλεοειδούς, έχει και επιγενετικό ρόλο, επιδρώντας στο πακετάρισμα και στη μεταγραφή του mtDNA, και έτσι η συσχέτισή του με αυτό είναι πιο παρατεταμένη και εκτενής (Garone et al., 2018; Spinazzola, 2011)



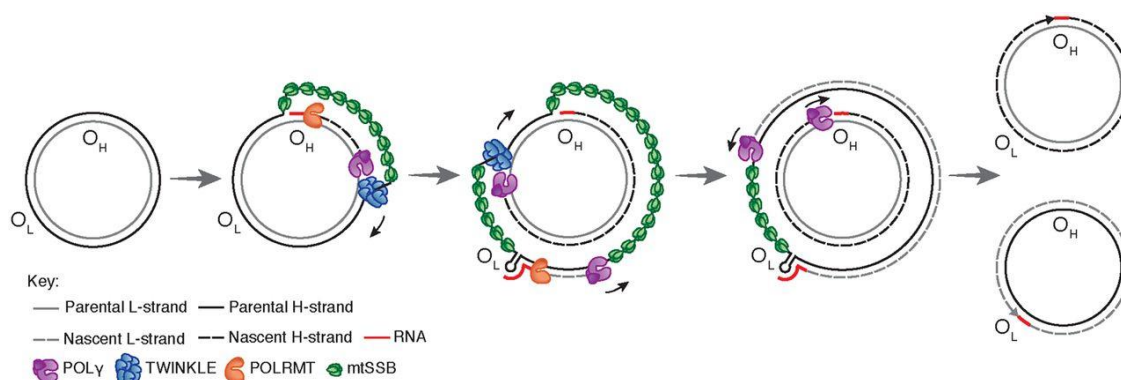
Εικόνα 2 Νουκλεοειδή (Kukat et al., 2011)

1.2.2 Αντιγραφή, μεταγραφή και μετάφραση του mtDNA

Όσον αφορά την αντιγραφή του mtDNA, μέχρι στιγμής λίγες είναι οι γνωστές πρωτεΐνες που εμπλέκονται άμεσα σε αυτόν το μηχανισμό: η POLG, μία μιτοχονδριακή DNA ελικάση, η Twinkle, και η mtSSB (single-stranded DNA binding protein), μία πρωτεΐνη που συνδέεται στο μονόκλωνο mtDNA μετά τη δράση της ελικάσης, προστατεύοντάς το από τη δράση νουκλεασών (Garone et al., 2018; Korhonen et al., 2004).

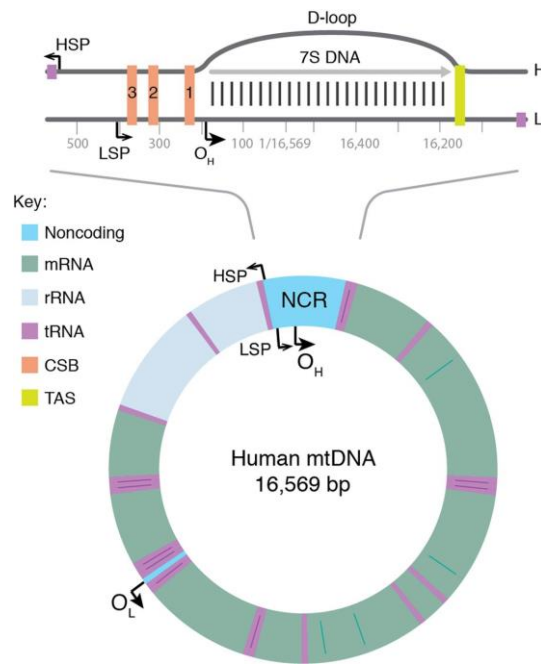
Φαίνεται πως υπάρχουν πολλαπλοί μηχανισμοί αντιγραφής του mtDNA και άρα διαφορετικές μορφές της μιτοχονδριακής μηχανής αντιγραφής (Spinazzola, 2011). Σύμφωνα με το επικρατέστερο μοντέλο η αντιγραφή του mtDNA συμβαίνει μέσω μιας συνεχούς αλλά ασύγχρονης σύνθεσης κάθε κλώνου (Robberson et al., 1972), με ενσωμάτωση ριβονουκλεοτιδίων στον καθυστερημένο κλώνο (Yasukawa et al., 2006). Η αντιγραφή κάθε κλώνου ξεκινά από συγκεκριμένα σημεία (O_H και O_L), με την αντιγραφή της Η αλυσίδας να προηγείται (Robberson et al., 1972). Παρ' όλα αυτά, έχει παρατηρηθεί πως η αντιγραφή του mtDNA μπορεί να είναι και μονής κατεύθυνσης, με έναρξη και τέλος στο O_H ή σε σημείο κοντά σε αυτό και για τις δύο αλυσίδες. Φαίνεται πως αυτοί οι διαφορετικοί τρόποι σύνθεσης mtDNA λαμβάνουν

χώρα σε ανθρώπινα κύτταρα υπό διαφορετικές συνθήκες, ανάλογα με τον αναγκαίο αριθμό αντιγράφων mtDNA (Holt et al., 2000). Τέλος, έχει προταθεί και ένα μοντέλο αμφίδρομης αντιγραφής του mtDNA που μπορεί να ξεκινά από διάφορα σημεία κατά μήκος μια ευρείας ζώνης (Bowmaker et al., 2003).



Εικόνα 3 Αντιγραφή του ανθρώπινου mtDNA (Garone et al., 2018).

Το ανθρώπινο mtDNA κωδικοποιεί 22 tRNAs, 2 rRNAs και 11 mRNAs που μεταφράζονται σε 13 μιτοχονδριακές πρωτεΐνες, ενώ όλες οι υπόλοιπες πληροφορίες για τη δημιουργία και λειτουργία των μιτοχονδρίων εδράζονται σε γονίδια του nDNA (Duchen, 2004; Gorman et al., 2016; Kühlbrandt, 2015). Κατά τη διάρκεια της εξέλιξης τα μιτοχόνδρια μετέφεραν πάνω από το 99% των γονιδίων τους στο πυρήνα, με τις περισσότερες μιτοχονδριακές πρωτεΐνες να παράγονται στο κυτταρόπλασμα και να εισάγονται στο μιτοχόνδριο μέσω των τρανσλοκασών της εξωτερικής μιτοχονδριακής μεμβράνης (Schmidt et al., 2010). Οι 13 μιτοχονδριακές πρωτεΐνες είναι όλες κεντρικές υδρόφοβες υπομονάδες των συμπλεγμάτων της αναπνευστικής αλυσίδας και της ATP συνθάσης (Davis et al., 2018; Kühlbrandt, 2015). Αντίστοιχα, το nDNA κωδικοποιεί περισσότερες από 1300 πρωτεΐνες σχετικές με τη δομή και τη λειτουργία των μιτοχονδρίων, συμπεριλαμβανομένων των υπόλοιπων υπομονάδων των συμπλόκων της αναπνευστικής αλυσίδας και παραγόντων συναρμολόγησης των ενζύμων αυτής, πρωτεΐνες διαγονιδιακής σηματοδότησης, μιτοχονδριακής κινητικότητας και δυναμικής καθώς και πρωτεΐνες που σχετίζονται με τη σύνθεση το λιπιδικού περιβάλλοντος της εσωτερικής μιτοχονδριακής μεμβράνης (Davis et al., 2018).



Εικόνα 4 Ανθρώπινο mtDNA (Garone et al., 2018).

Τα μιτοχόνδρια διαθέτουν ένα πλήρες σύστημα μεταγραφής-μετάφρασης, καθώς και δικά τους ειδικά μιτοχονδριακά ριβοσώματα, τα οποία σχηματίζονται μετά το συνδυασμό των 2 rRNAs του mtDNA με πρωτεΐνες του κυτταροπλάσματος (Spinazzola, 2011). Τα μιτοχονδριακά ριβοσώματα είναι προσκολλημένα στην εσωτερική μεμβράνη και τα προϊόντα τους ενσωματώνονται κατευθείαν στην αυτήν κατά της διάρκεια της μετάφρασης (Kühlbrandt, 2015). Παρ' όλα αυτά, τα μιτοχόνδρια χρησιμοποιούν ελάχιστα τη δική τους ειδική μηχανή παραγωγής πρωτεϊνών (Schmidt et al., 2010) .

Τα μιτοχόνδρια έχουν το δικό γενετικό κώδικα, διαφορετικό τόσο από των ευκαριωτών ξενιστών όσο και από των βακτηριακών προγόνων (Gray et al., 1998). Το mtDNA έχει μόνο δύο κωδικόνια λήξης, τα AGA και AGG, σε αντίθεση με τα κωδικόνια λήξης του nDNA UAA, UGA και UAG. Αντίστοιχα υπάρχουν και διαφορές ως προς την κωδικοποίηση των αμινοξέων, όπως το κωδικόνιο UGA που στο mtDNA κωδικοποιεί το αμινοξύ τρυπτοφάνη, ενώ το AUA που κωδικοποιεί την ισολευκίνη στο nDNA, κωδικοποιεί τη μεθειονίνη στο mtDNA (Chinnery & Hudson, 2013; Protasoni & Zeviani, 2021; Temperley et al., 2010).

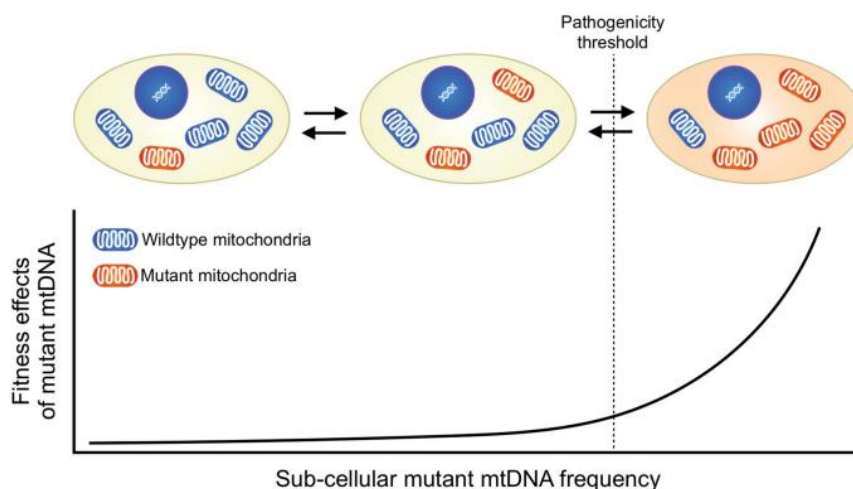
1.2.3 Μητρική κληρονομικότητα

Στον άνθρωπο, τα μιτοχόνδρια κληρονομούνται αποκλειστικά από το ωοκύτταρο κατά το σχηματισμό του ζυγωτού, ενώ τα μιτοχόνδρια των σπερματοζωαρίων καταστρέφονται νωρίς κατά την εμβρυογένεση (Giles et al., 1980), με ελάχιστες περιπτώσεις πατρικής κληρονόμησης του mtDNA να έχουν καταγραφεί (Schwartz & Vissing, 2002). Με τον τρόπο αυτό, κυρίως μητέρες και πολύ σπανιότερα πατέρες μπορεί να κληροδοτήσουν μεταλλάξεις του mtDNA τους στους απογόνους τους (Spinazzola, 2011).

1.2.4 Μιτοχονδριακή πολυπλοειδία

Ένα από τα χαρακτηριστικά της μιτοχονδριακής γενετικής είναι η πολυπλοειδία: σε αντίθεση με το nDNA, όπου για κάθε γονίδιο υπάρχουν δύο αλληλόμορφα, ένα πατρικής και ένα μητρικής προέλευσης, το mtDNA ανευρίσκεται συνήθως σε πολλά αντίγραφα μέσα σε ένα κύτταρο, ο αριθμός των οποίων αντικατοπτρίζει τις ενεργειακές ανάγκες του κυττάρου αυτού. Τα αντίγραφα του mtDNA ενός κυττάρου φυσιολογικά αναμένεται να είναι γενετικά πανομοιότυπα, μια κατάσταση που καλείται ομοιοπλασμία. Σε περιπτώσεις που συμβεί μια επιβλαβής μετάλλαξη σε κάποια από τα μόρια του mtDNA, αλλά όχι σε όλα, προκύπτει η λεγόμενη ετεροπλασμία, καθώς μέσα στο ίδιο κύτταρο συνυπάρχουν μόρια mtDNA διαφορετικής γενετικής σύστασης (Spinazzola, 2011; Wallace & Chalkia, 2013). Η παρουσία μεταλλαγμένων μορίων mtDNA μπορεί να οδηγήσει σε εκδήλωση συγκεκριμένων νοσημάτων, όταν ο αριθμός των παθολογικών μορίων είναι πλέον τέτοιος που προκαλεί βιοχημικές αλλαγές και κατ' επέκταση ιστική δυσλειτουργία (Spinazzola, 2011). Η σοβαρότητα των κλινικών συμπτωμάτων συχνά συσχετίζεται με το επίπεδο της ετεροπλασμίας του mtDNA (Freyer et al., 2012). Λόγω του μεγάλου αριθμού αντιγράφων του mtDNA, οι μεταλλάξεις δεν υπολογίζονται ως ομόζυγες ή ετερόζυγες αλλά ως ποσοστό των αντιγράφων που φέρουν τη μετάλλαξη στο σύνολο των αντιγράφων του mtDNA. Όταν το ποσοστό είναι χαμηλό, οι μεταλλάξεις αυτές συνήθως έχουν αμελητέο αντίκτυπο στο φαινότυπο, όταν όμως το ποσοστό της ετεροπλασμίας ξεπεράσει ένα κατώφλι, που συνήθως είναι 60-90%, τότε συνήθως προκύπτουν παθολογικές καταστάσεις στα πλαίσια ενός μιτοχονδριακού νοσήματος (Dimauro & Moraes, 1993; Rossignol et al., 2003). Το κατώφλι είναι συνήθως ειδικό ως προς τη μετάλλαξη και μπορεί να διαφέρει από κύτταρο σε κύτταρο ή μεταξύ διαφορετικών ιστών (Rossignol et al., 2003), με

αποτέλεσμα οι κλινικές εκδηλώσεις να μην είναι πάντα ίδιες ακόμα και σε περιπτώσεις που ανευρίσκεται η ίδια μετάλλαξη σε διαφορετικούς ιστούς (Spinazzola, 2011).



Εικόνα 5 Η μιτοχονδριακή ετεροπλάσμία (Pereira et al., 2021).

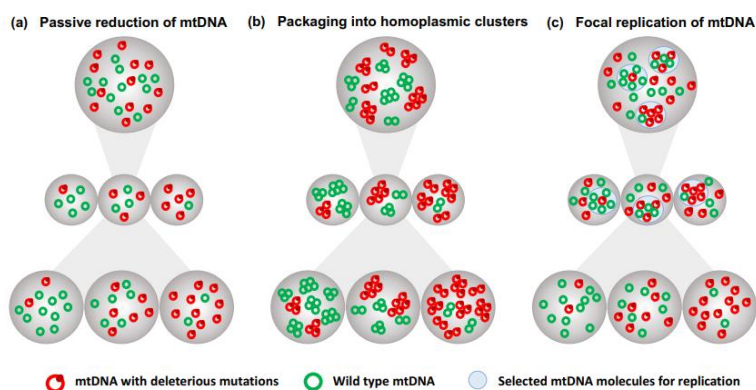
1.2.5 Genetic bottleneck hypothesis

Κατά τη μίτωση τα μιτοχόνδρια κατανέμονται τυχαία στα θυγατρικά κύτταρα. Σε καταστάσεις ετεροπλάσμιας, τα μεταλλαγμένα μόρια του mtDNA θα βρεθούν συνήθως με τυχαίο τρόπο σε τυχαίες ποσότητες στα νέα κύτταρα κατά το μιτωτικό διαχωρισμό. Παρατηρήθηκε πως όταν σε έναν ιστό, με τη συνεχή διαίρεση των κυττάρων, αυξηθεί ο αριθμός των παθολογικά μεταλλαγμένων μορίων mtDNA, προκύπτει στη συνέχεια και μια αντίστοιχη μεταβολή της κλινικής εικόνας (Brown et al., 2001; Holt, 2010). Επίσης, φάνηκε πως ετεροπλάσμιες μεταλλάξεις του mtDNA που κληρονομούνται από τη μητέρα, παρουσιάζουν διαφορές ως προς τον αριθμό των μεταλλαγμένων μορίων μεταξύ απογόνων στην ίδια γενιά (Zhang et al., 2018).

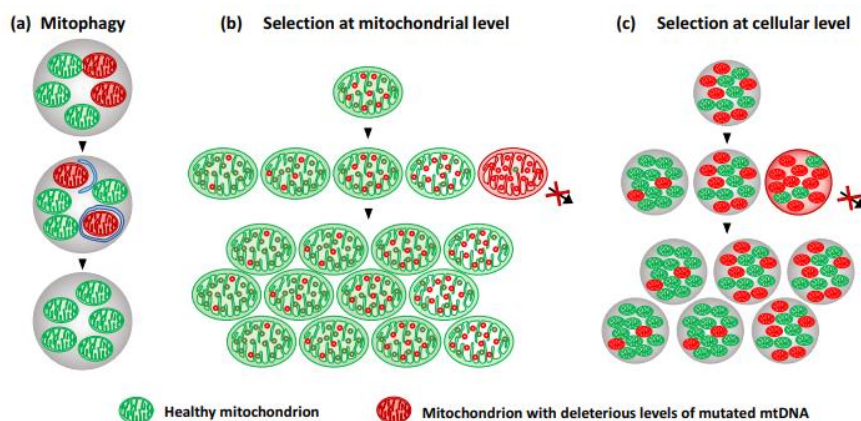
Επομένως, το ποσοστό των κυττάρων που κληρονομούν μια μετάλλαξη στο mtDNA, εξαρτάται από μια απότομη μείωση της ποσότητας του mtDNA που υπάρχει στα αρχέγονα γεννητικά κύτταρα (McFarland et al., 2010) και μόνο ένας περιορισμένος αριθμός τυχαία επιλεγμένων μορίων mtDNA μεταφέρεται σε νέα κύτταρα, είτε στα ωοκύτταρα είτε σε σωματικά κύτταρα (Zhang et al., 2018). Το mtDNA καταστρέφεται και αντιγράφεται συνεχώς, ανεξάρτητα από τον κυτταρικό κύκλο. Αυτό σημαίνει πως αν υπάρχει κάποια μετάλλαξη, τότε τυχαία τα μεταλλαγμένα μόρια μπορούν να αντιγραφούν πιο συχνά από τα φυσιολογικά και το αντίστροφο. Το γεγονός αυτό μπορεί να οδηγήσει σε αλλαγές στη συχνότητα των αλληλομόρφων και άρα στο ποσοστό ετεροπλάσμιας κατά τη διάρκεια ζωής ενός κυττάρου, ανεξάρτητα από την

κυτταρική διαίρεση. Όταν αυτή ξεκινήσει, οι ποσότητες των μεταλλαγμένων και φυσιολογικών αλληλομόρφων που θα κατανεμηθούν στα θυγατρικά κύτταρα μπορεί να διαφέρουν, μέσω μιας διαδικασίας τυχαίας γενετικής επιλογής (Birky, 2001). Διάφοροι παράγοντες επηρεάζουν τη διαδικασία αυτή, με τον πιο σημαντικό να είναι το μέγεθος της δεξαμενής του mtDNA, καθώς μειώνοντάς το παρατηρούνται μεγαλύτερες διαφορές στη συχνότητα των αλληλομόρφων (Diaz et al., 2002; Raap et al., 2012).

Επιπλέον του τυχαίου διαχωρισμού, μιτοχονδριακή βιογένεση ή αποικοδόμηση υπέρ μιας παραλλαγής του mtDNA έναντι μιας άλλης μπορεί να προκαλέσει μη τυχαίες αλλαγές στην ετεροπλάσια του mtDNA (Pereira et al., 2021). Παρ' όλο που τα γενεαλογικά δεδομένα στους ανθρώπους είναι αμφιλεγόμενα, υπάρχουν ενδείξεις πως μπορεί να γίνει επιλογή έναντι συγκεκριμένων μεταλλάξεων στο mtDNA μέσα σε μια αναπτυσσόμενη ανθρώπινη γαμετική σειρά. Πιθανοί μηχανισμοί περιλαμβάνουν την εστιακή αντιγραφή ή την εστιακή καταστροφή (μέσω της αυτοφαγίας ή της μιτοφαγίας) συγκεκριμένων μορίων mtDNA εάν μια μετάλλαξη είναι πλεονεκτική ή επιβλαβής αντίστοιχα, καθώς και το πακετάρισμα του mtDNA σε μεγαλύτερες δομές. Όλοι αυτοί οι μηχανισμοί μπορούν να οδηγήσουν σε αλλαγές στο επίπεδο της ετεροπλάσμις και δεν αλληλοαποκλείονται (Zhang et al., 2018).



Εικόνα 6 Πιθανοί μηχανισμοί του bottleneck του mtDNA (Zhang et al., 2018).



Εικόνα 7 Πιθανοί μηχανισμοί μιτοχονδριακής επιλογής (Zhang et al., 2018).

Τα bottlenecks δεν περιορίζονται μόνο στη γαμετική σειρά, αλλά φαίνεται να υπάρχουν και σε άλλους κυτταρικούς τύπους, πιθανώς δίνοντας έτσι την εξήγηση, γιατί διαφορετικοί ιστοί του ίδιου οργανισμού περιέχουν διαφορετικά επίπεδα μεταλλαγμένου mtDNA (Floros et al., 2018; Stewart & Chinnery, 2015). Ιστοειδικά bottlenecks μπορεί να προκύψουν κατά τη διάρκεια της ζωής ως απάντηση σε περιβαλλοντικές επιρροές, ενώ πιθανολογείται πως διαφορετικές μεταλλάξεις του mtDNA έχουν και διαφορετικό μηχανισμό bottleneck, όπου σε κάποιες περιπτώσεις το ποσοστό ετεροπλασμίας είναι σταθερό μεταξύ των μελών μιας οικογένειας, ενώ σε άλλες παρατηρούνται τεράστιες διαφορές γενετικά και φαινοτυπικά (Zhang et al., 2018).

1.3 Ο ρόλος του μιτοχονδρίου

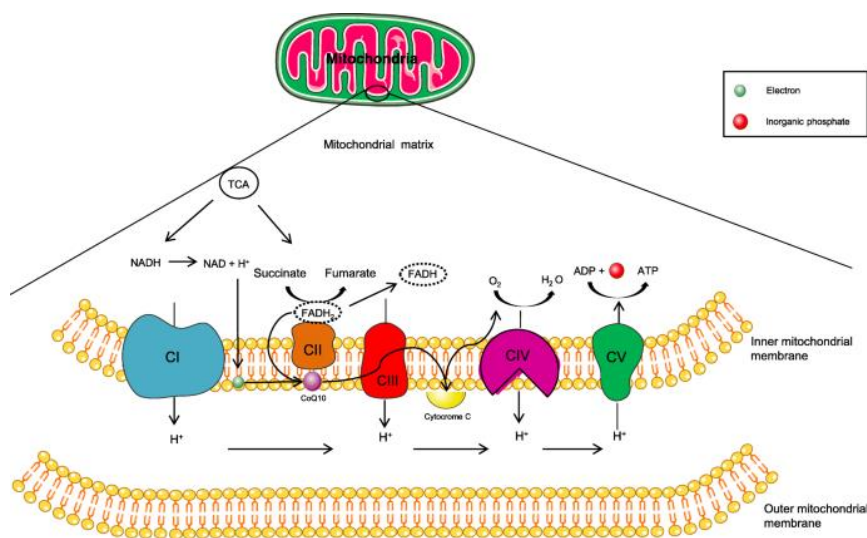
Τα μιτοχόνδρια είναι οργανίδια με κυρίαρχο ρόλο την παραγωγή ενέργειας με τη μορφή του ATP, παράγοντας περίπου 50-70kg ATP την ημέρα στο σώμα ενός υγιούς ενήλικα (Kühlbrandt, 2015; Spinazzola, 2011). Παρέχουν την απαιτούμενη ενέργεια για όλες σχεδόν τις κυτταρικές διεργασίες, όπως η σύσπαση ενός μυός, η κυτταρική σηματοδότηση μέσω ασβεστίου, η διατήρηση της βαθμίδωσης ιόντων απαραίτητη για τη διεγερσιμότητα των κυττάρων, η συγκέντρωση εκκρινόμενων παραγόντων σε κυστίδια αλλά και η διάχυση και κυκλοφορία των κυστιδίων (Duchen, 2004; Spinazzola, 2011). Επιπλέον τα μιτοχόνδρια εμπλέκονται στην παραγωγή NADH και GTP στον κύκλο του κιτρικού οξέος, στη βιοσύνθεση αμινοξέων, στη σύνθεση συμπλεγμάτων αίμης και σιδήρου-θείου, στη σύνθεση φωσφολιπιδίων για τη δημιουργία των μεμβρανών καθώς και στην ανταπόκριση στο stress, στην απόπτωση και στη γήρανση (Kühlbrandt, 2015). Γίνεται έτσι αντιληπτό πως οποιαδήποτε δυσλειτουργία των μιτοχονδρίων έχει ως αποτέλεσμα την εκδήλωση μιτοχονδριακών

παθήσεων που διαφέρουν ως προς τον κλινικό αντίκτυπο και την κλινική εικόνα, ανάλογα με τη βλάβης που έχει προκύψει, εκτεινόμενες από ήπιες αλλαγές στη λειτουργία των ιστών έως και θάνατο (Duchen, 2004).

1.3.1 Παραγωγή ενέργειας

Στα μιτοχόνδρια ολοκληρώνεται ο μεταβολισμός των τροφών, από τις οποίες το πυροσταφυλικό, τα αμινοξέα και τα λιπαρά οξέα χρησιμοποιούνται ως καύσιμα. Αυτά μεταφέρονται μέσω της εσωτερικής μεμβράνης στο στρώμα όπου μετατρέπονται σε ακετυλο-CoA. Το ακετυλο-CoA εισέρχεται σε έναν πολύπλοκο καταβολικό κύκλο στη μιτοχονδριακή μήτρα, τον κύκλο του κιτρικού οξέος, όπου μέσω της οξείδωσης των ακετυλομάδων παράγεται CO₂, ενώ τα μόρια NAD⁺ και FAD ανάγονται σε NADH και FADH₂ αντίστοιχα (Alberts et al., 2018). Στη συνέχεια τα μόρια NADH και FADH₂ μπορούν να χρησιμοποιηθούν στη διαδικασία της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης, όπου ηλεκτρόνια από αυτά τα μόρια καταλήγουν στον τελικό αποδέκτη, το οξυγόνο, μέσω της αλυσίδας μεταφοράς ηλεκτρονίων. Συνολικά, η πλήρης οξείδωση ενός μόνο μορίου γλυκόζης από το κύτταρο οδηγεί στην παραγωγή 30 μορίων ATP (Protasoni & Zeviani, 2021).

Η αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων, μέσω της οποίας συντελείται η κυτταρική αναπνοή, αποτελείται από τέσσερα πρωτεϊνικά σύμπλοκα που εδράζονται στην εσωτερική μιτοχονδριακή μεμβράνη (σμπλέγματα I - NADH αφυδρογονάση, II - αφυδρογονάση του ηλεκτρικού οξέος, III - αναγωγή του κυτοχρώματος c, IV - οξειδάση του κυτοχρώματος c) και δύο κινητούς φορείς ηλεκτρονίων, το συνένζυμο Q και το κυτόχρωμα c. Τα ηλεκτρόνια που παράγονται από τα NADH και FADH₂ κατά τη γλυκόλυση και τον κύκλο του Krebs μεταφέρονται στο συνένζυμο Q και το κυτόχρωμα c και τελικά στο O₂, σχηματίζοντας H₂O. Η ενέργεια που απελευθερώνεται από αυτή την αλυσίδα αντιδράσεων οξειδοαναγωγής οδηγεί στη δημιουργία μιας ηλεκτροχημικής βαθμίδωσης πρωτονίων κατά μήκος της εσωτερικής μιτοχονδριακής μεμβράνης, η οποία χρησιμοποιείται από τη σύμπλεγμα V (συνθάση του ATP) για την παραγωγή ATP (Alberts et al., 2018; Protasoni & Zeviani, 2021; Spinazzola, 2011).



Εικόνα 8 Οξειδωτική φωσφορύλιωση (Schubert & Vilarinho, 2020)

Οι πρωτεΐνες που συμμετέχουν στο σχηματισμό του συμπλέγματος II, κωδικοποιούνται από γονίδια του nDNA, ενώ για τα υπόλοιπα συμπλέγματα τα εμπλεκόμενα ένζυμα αποτελούν ένα κράμα πρωτεϊνών που κωδικοποιούνται από το nDNA και το mtDNA (Duchen, 2004; Zhang et al., 2018).

1.3.2 Απόπτωση

Η απόπτωση αποτελεί μορφή προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου. Υπάρχουν διακριτά αποπτωτικά μονοπάτια με διαφορετικά ερεθίσματα, που όλα καταλήγουν στο ίδια κοινή τελική οδό (Elmore, 2007). Η ενδογενής απόπτωση μέσω των μιτοχονδρίων ξεκινά από εσωτερικά σήματα στρες ή βλάβης, ρυθμίζεται από πρωτεΐνες της οικογένειας Bcl-2 και οδηγεί σε αύξηση της διαπερατότητας της εξωτερικής μιτοχονδριακής μεμβράνης. Τελικό αποτέλεσμα είναι ο κατακερματισμός του DNA, η αποικοδόμηση κυτταροσκελετικών και πυρηνικών πρωτεϊνών, η απελευθέρωση μιτοχονδριακών συστατικών στο κυτταρόπλασμα, όπως το κυτόχρωμα c, και ο σχηματισμός αποπτωτικών σωματιδίων (Tait & Green, 2013). Η βιοενεργειακή ανεπάρκεια οδηγεί συχνά σε μιτοχονδριακή απόπτωση ή μπορεί να προκαλέσει αυτοφαγία μεμονωμένων μιτοχονδρίων ή αφαίρεση τμημάτων δυσλειτουργικών μιτοχονδρίων, καθιστώντας τα φαινόμενα αυτά πιθανά αποτελέσματα μιας μιτοχονδριακής νόσου (Protasoni & Zeviani, 2021). Για παράδειγμα, υπολειπόμενες μεταλλάξεις του AIF1 (apoptosis inducing factor 1, οξειδοαναγωγική πρωτεΐνη που σε συνθήκες στρες απελευθερώνεται από τα μιτοχόνδρια, ενεργοποιεί τις κασπάσες στο κυτταρόπλασμα και οδηγεί σε απόπτωση ανεξάρτητα από το σχηματισμό

αποπτωσώματος) έχουν αναφερθεί σε σοβαρά βρεφικά σύνδρομα που σχετίζονται με πολλαπλά ελαττώματα της μιτοχονδριακής αναπνευστικής αλυσίδας (Ghezzi et al., 2010).

1.3.3 Σύνθεση αίμης και συμπλεγμάτων Fe/S

Η σύνθεση της αίμης πραγματοποιείται μερικώς στο κυτταρόπλασμα και μερικώς στα μιτοχόνδρια. Στα μιτοχόνδρια βρίσκεται το ένζυμο φερροχελάταση που καταλύει στην αντίδραση εισαγωγής σιδήρου στην πρωτοπορφυρίνη IX, προς σχηματισμό της αίμης (Ajioka et al., 2006). Όσον αφορά τα συμπλέγματα Fe/S, η σύνθεσή τους ξεκινά στα μιτοχόνδρια με το ένζυμο ISCU (iron-sulfur cluster assembly). Πάνω σε αυτό προσδένονται σίδηρος και σουλφιδικά ιόντα, σχηματίζοντας τις πρώτες ομάδες Fe/S που αποτελούν τη βάση για το σχηματισμό των μιτοχονδριακών και κυτταροπλασματικών τελικών συμπλεγμάτων Fe/S (Maio & Rouault, 2015).

1.3.4 Ομοιοστασία Ca^{2+}

Το ασβέστιο αποτελεί σηματοδοτικό μόριο που ρυθμίζει, ανάμεσα σε άλλα, τη μιτοχονδριακή λειτουργία, καθώς επηρεάζει διάφορα μιτοχονδρικά ένζυμα, επιδρώντας κυρίως στη μιτοχονδριακή αναπνοή και στη διαπερατότητα της μιτοχονδριακής μεμβράνης. Αντιστρόφως, τα μιτοχόνδρια όπως και το ενδοπλασματικό δίκτυο ρυθμίζουν τη συγκέντρωση των ιόντων ασβεστίου ενδοκυττάρια μέσω δέσμευσης και απελευθέρωσής του (Pozzan & Rizzuto, 2000). Το ασβέστιο διαπερνά την εξωτερική μιτοχονδριακή μεμβράνη μέσω ενός VDAC χωρίς ιδιαίτερη εκλεκτικότητα, ενώ για η δίοδος από την εσωτερική μιτοχονδριακή μεμβράνη είναι πιο ελεγχόμενη και περιλαμβάνει τον MCU (mitochondrial calcium uniporter) και έναν ανταλλάκτη Na^+/Ca^{2+} ή έναν ανταλλάκτη H^+/Ca^{2+} (Protasoni & Zeviani, 2021).

2. Ενδογενείς διαταραχές του μεταβολισμού

Οι ενδογενείς διαταραχές του μεταβολισμού (EAM), γνωστές πλέον ως κληρονομικά μεταβολικά νοσήματα, αποτελούν μια ομάδα 700 κληρονομούμενων νόσων συνήθως με ποικίλες κλινικές εκδηλώσεις (C. R. Ferreira & van Karnebeek, 2019). Ο κλινικός φαινότυπός τους εμφανίζει ένα ευρύ φάσμα από επείγουσα αλλά θεραπεύσιμη κατάσταση της νεογνικής, βρεφικής ή και μεγαλύτερης ηλικίας, έως χρόνια και εξελισσόμενα συμπτώματα, όπως αδυναμία πρόσληψης βάρους, νευρολογική σημειολογία ή άλλα πιο ειδικά συμπτώματα από διάφορα όργανα και συστήματα (Saudubray et al., 2006). Αν και μεμονωμένες πρόκειται για σπάνιες παθήσεις, ως

σύνολο απαντώνται συχνά, με τον επιπολασμό τους να κυμαίνεται από 1/785 έως 1/2555 άτομα ανάλογα με την γεωγραφική περιοχή (Applegarth et al., 2000; Dionisi-Vici et al., 2002; Sanderson et al., 2006). Η πλειονότητα αυτών των καταστάσεων είναι θεραπεύσιμη μέσω διαδικασιών αποκατάστασης του εκάστοτε διαταραγμένου μεταβολικού μονοπατιού και για το λόγο αυτό αναγκαία κρίνεται η έγκαιρη διάγνωση τους (C. R. Ferreira & van Karnebeek, 2019).

Η ταξινόμηση των ενδογενών διαταραχών του μεταβολισμού βασίζεται στο είδος της διαταραχής που προκύπτει σε κάθε περίπτωση. Με τον τρόπο αυτό οι ομάδες νοσημάτων κατηγοριοποιούνται σε αυτές που προκαλούνται από διαταραχές στο μεταβολισμό των ενεργειακών πηγών του οργανισμού (πρωτεΐνες, λιπίδια, υδατάνθρακες) και σε αυτές που προκαλούνται από δυσλειτουργία μονοπατιών εντός κυτταρικών οργανιδίων (μιτοχόνδρια, λυσοσώματα,υπεροξισώματα) (Rice & Steiner, 2016). Η SSIEM (Society for the Study of Inborn Errors of Metabolism) κατηγοριοποιεί τις ΕΔΜ σε 15 ομάδες, βάσει του βιοχημικού μονοπατιού που διαταράσσεται σε κάθε περίπτωση, καθώς διαταραχές της ίδια μεταβολικής οδού δίνουν συνήθως παρόμοιες κλινικές εκδηλώσεις, η διάγνωση στηρίζεται στις ίδιες τεχνικές (απλές ή εξειδικευμένες), ενώ και η θεραπευτική προσέγγιση βασίζεται στις ίδιες αρχές όσον αφορά την επείγουσα αλλά και τη μακροχρόνια διαχείριση των ασθενών

(Balakrishnan, 2021),

<http://www.ssiem.org/images/centralstore/resources/SSIEMClassificationIEM2011.pdf>.

Ένα απλοποιημένο σύστημα κατηγοριοποίησης των ΕΔΜ τις κατατάσσει σε 3 ομάδες ανάλογα με τις κλινικές εκδηλώσεις, χωρίς ωστόσο να λαμβάνονται υπόψη η κυτταρική βιολογία και η ποικιλομορφία των νοσημάτων αυτών.

- Στην Κατηγορία 1 ανήκουν οι εδνογενείς διαταραχές του ενδιάμεσου μεταβολισμού που οδηγούν σε οξεία ή χρόνια συσσώρευση τοξικών μεταβολιτών και περιλαμβάνει αμινοπάθειες, οργανικές οξυουρίες, διαταραχές του κύκλου της ουρίας, δυσανοχή στη γλυκόζη, διαταραχές μετάλλων και πορφυρίες. Οι κλινικές εκδηλώσεις των νοσημάτων αυτής της κατηγορίας μπορεί να είναι οξείες και να αφορούν ένα όργανο ή να είναι συστηματικές. Όσοον αφορά τη χρονική τους εμφάνιση, είναι νοσήματα που μπορεί να εκδηλωθούν κατά τη νεογνική περίοδο έως και την ενήλικη ζωή, ενώ η πλειονότητά τους θεραπεύεται με άμεση αφαίρεση

των τοξικών παραγόντων μέσω ειδικής δίαιτας, συστήματος εξωσωματικής κυκλοφορίας, βιταμινών ή φαρμάκων κάθαρσης.

- Στην Κατηγορία 2 περιλαμβάνονται οι ενδογενείς διαταραχές του ενδιάμεσου μεταβολισμού που επηρεάζουν το ενεργειακό ισοζύγιο του οργανισμού, επιδρώντας στις κυτταροπλασματικές και μιτοχονδριακές διαδικασίες παραγωγής ενέργειας. Ελαττώματα του κυτταροπλάσματος περικλείουν διαταραχές της γλυκόλυσης, της γλυκονεογένεσης, της γλουκονεογένεσης, του υπερινσουλισμού καθώς και των μονοπατιών της κρεατίνης και του πεντοφωσφορικού, ενώ ελαττώματα των μιτοχονδρίων περιλαμβάνουν διαταραχές της αναπνευστικής αλυσίδας, του κύκλου της ουρίας, διαταραχές της οξείδωσης του πυρουβικού, της οξείδωσης των λιπαρών οξέων και των κετονοσωμάτων.
- Στην Κατηγορία 3 ανήκουν τα μεταβολικά νοσήματα που οφείλονται σε εναπόθεση διάφορων βιοχημικών ουσιών στους ιστούς, λόγω διαταραχών των λυσοσωμάτων, των υπεροξεισομάτων, της γλυκοζυλίωσης και της σύνθεσης χοληστερόλης. Κάποιες από τις λυσοσωμικές διαταραχές μπορούν να ιαθούν με ενζυματική υποκατάσταση ή με θεραπείες μείωσης του υποστρώματος.

(Saudubray et al., 2006).

Γίνεται αντιληπτό ότι οι ΕΔΜ προκαλούν τα εκάστοτε συμπτώματα είτε μέσω συσσώρευσης ενός τοξικού υποστρώματος πριν το μεταβολικό εμπόδιο, είτε λόγω της μειωμένης σύνθεσης ενός μεταβολικού προϊόντος μετά το εμπόδιο, είτε λόγω της εκτροπής του μεταβολισμού σε ένα εναλλακτικό μονοπάτι (C. R. Ferreira & van Karnebeek, 2019).

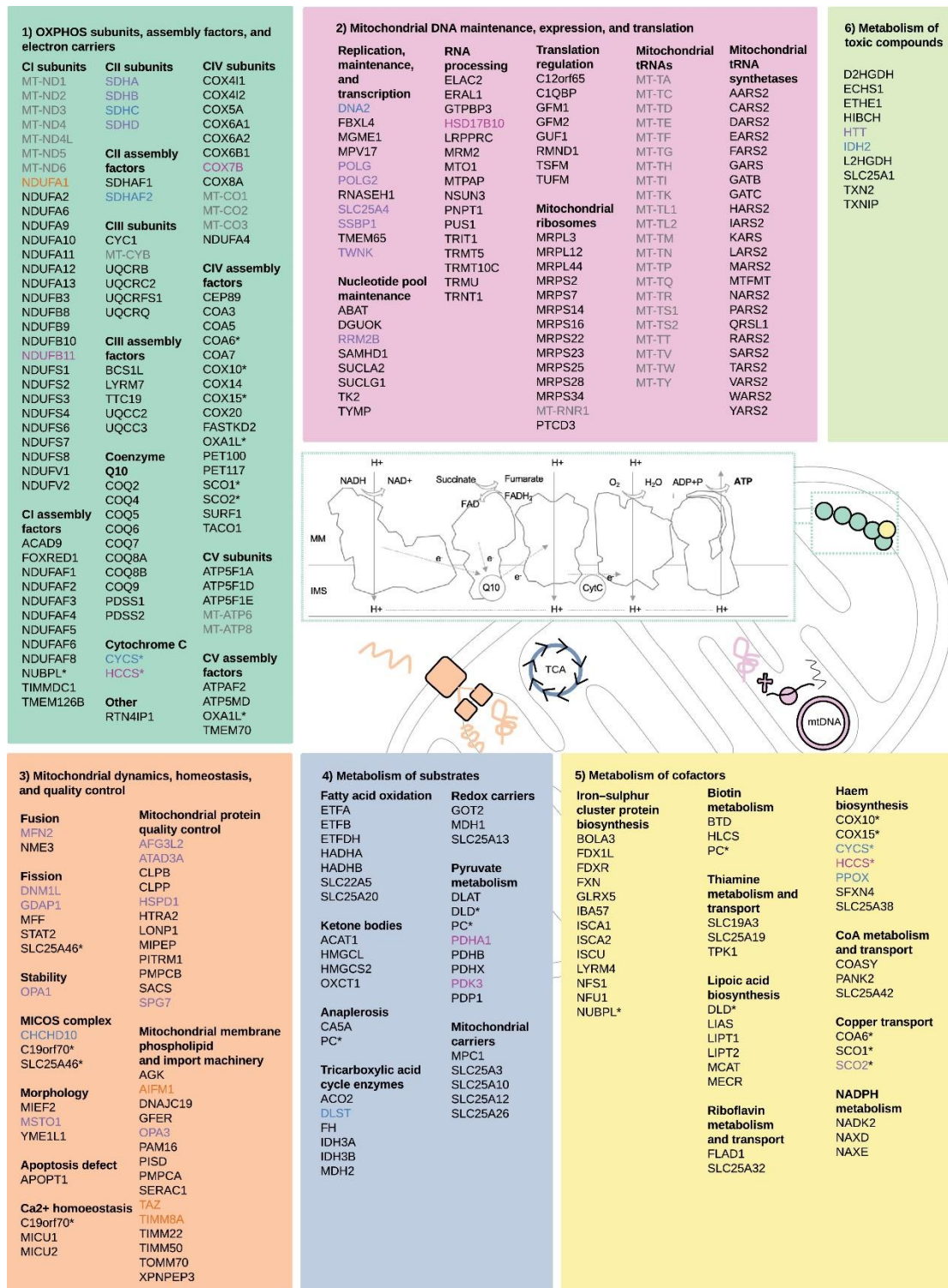
B. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. Μιτοχονδριακά νοσήματα

Παθολογικές καταστάσεις στον άνθρωπο που σχετίζονται με τη δομή και τη λειτουργία του mtDNA έχουν αναγνωρισθεί από το 1988 (Spinazzola, 2011). Πλέον είναι γνωστό πως οι μιτοχονδριακές παθήσεις αποτελούν ετερογενή ομάδα γενετικών νοσημάτων που οφείλονται σε μεταλλάξεις γονιδίων είτε του nDNA, είτε του mtDNA, τα οποία κωδικοποιούν δομικές ή λειτουργικές μιτοχονδριακές πρωτεΐνες. Αυτό πρακτικά σημαίνει πως τα μιτοχονδριακά νοσήματα μπορεί να έχουν οποιοδήποτε τρόπο κληρονομησης, περιλαμβάνοντας μενδελικό πρότυπο για μεταλλάξεις του nDNA και μητρική κληρονομικότητα για μεταλλάξεις του mtDNA (Gorman et al., 2016).

Έως τώρα έχουν προσδιοριστεί περίπου 300 παθολογικές μεταλλάξεις του mtDNA και περισσότερες από 250 του nDNA που προκαλούν μιτοχονδριακά νοσήματα στον άνθρωπο, με τη συχνότητα αυτών να αναγνωρίζεται πλέον μεγαλύτερη από ό,τι πιστευόταν (Spinazzola, 2011) (<https://www.mitomap.org/MITOMAP>). Σύμφωνα με τελευταία δεδομένα ο επιπολασμός των νοσημάτων λόγω μεταλλάξεων στο mtDNA είναι περίπου 1/5000, ενώ ο επιπολασμός για μεταλλάξεις του nDNA που οδηγούν σε μιτοχονδριακό νόσημα είναι 2,9/100.000 (Gorman et al., 2015). Πιο συγκεκριμένα, για μιτοχονδριοπάθειες της παιδικής ηλικίας, δηλαδή με έναρξη των συμπτωμάτων πριν την ηλικία των 16 ετών, ο επιπολασμός φαίνεται να είναι 5-15 περιπτώσεις ανά 100.000 άτομα (Gorman et al., 2016).

Οι πιο συχνές πρωτοπαθείς μεταλλάξεις στο mtDNA είναι σημειακές, που είναι κληρονομικές στο 75% των περιπτώσεων και de novo στο 25%, και η διαγραφή μεγάλου τμήματος του mtDNA. Μεταλλάξεις στο mtDNA μπορούν να προκύψουν επίσης δευτερογενώς από μεταλλάξεις πυρηνικών γονιδίων που επηρεάζουν την ακεραιότητα του mtDNA και τη λειτουργία των μιτοχονδρίων. Οι μεταλλάξεις των πυρηνικών γονιδίων κληρονομούνται με αυτοσωμικό επικρατή ή υπολειπόμενο τρόπο, φυλοσύνδετα ή είναι de novo μεταλλάξεις (Alston et al., 2017).



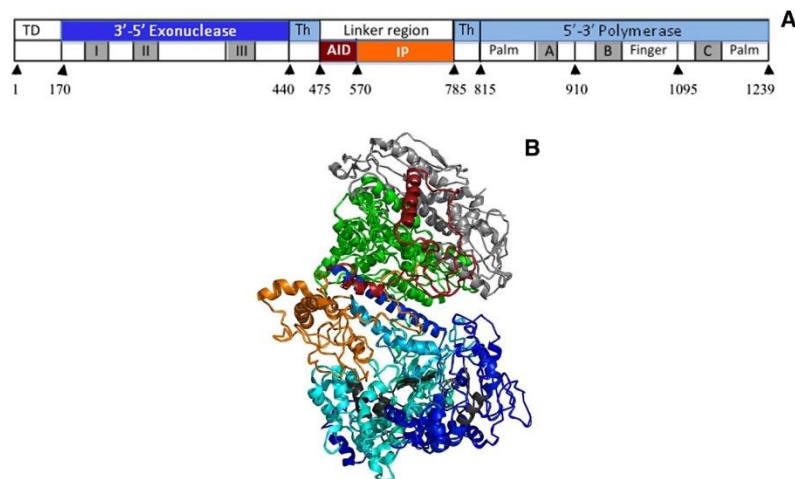
Inheritance mode Autosomal recessive; Autosomal dominant; Autosomal recessive and autosomal dominant; Maternal; X-linked recessive; X-linked dominant

Εικόνα 9 Μιτοχονδριακά και πυρηνικά γονίδια που εμπλέκονται σε μιτοχονδριοπάθειες (Stenton & Prokisch, 2020). Η κλινική εικόνα των μιτοχονδριοπαθειών είναι αρκετά ετερογενής, με τα αρχικά συμπτώματα να είναι ασαφή και μη ειδικά, λόγω της πολύπλοκης γενετικά καθορισμένης παθογένεσης των νοσημάτων αυτών. Τα πιο κοινά χαρακτηριστικά συμπτώματα των μιτοχονδριοπαθειών περιλαμβάνουν γαλακτική οξέωση, μυοπάθεια,

κώφωση, απώλεια όρασης, νευροεκφυλισμό, δυσκινησία εντέρου και περιφερική νευροπάθεια (Vafai & Mootha, 2012). Το ηλικιακό εύρος των κλινικών εκδηλώσεων εκτείνεται από την εμβρυϊκή ηλικία (ενδομήτρια καθυστέρηση της αύξησης, μειωμένη εμβρυϊκή κινητικότητα, μεσοκοιλιακά ελλείμματα, πολυ/ολιγοϋδράμνιο, αρθρογρύπωση κ.α.) έως και την ενήλικη ζωή, με διακυμάνσεις στη βαρύτητα που μπορεί να φτάσει έως και το θάνατο (Spinazzola, 2011). Η πάθηση μπορεί να αφορά οποιοδήποτε όργανο ή ιστό, συνήθως με πολυσυστηματική συμμετοχή, επηρεάζοντας κυρίως όργανα που εξαρτώνται σε μεγάλο βαθμό από τον αερόβιο μεταβολισμό ή ιστούς με υψηλές ενεργειακές ανάγκες, ενώ ορισμένα συπτώματα μπορεί να επιδεινώνονται και από εξωτερικούς ή περιβαλλοντικούς παράγοντες (Davis et al., 2018; McFarland et al., 2010). Η ετερογένεια των κλινικών εκδηλώσεων καθιστά δύσκολη τόσο τη διάγνωση, όσο και την αντιμετώπιση των μιτοχονδριακών νοσημάτων. Η διάγνωση στηρίζεται στο γενετικό έλεγχο και σε βιοψίες πασχόντων ιστών για ιστοχημική και βιοχημική ανάλυση, ενώ και η θεραπεία συνήθως είναι πολύπλευρη στοχεύοντας συνήθως στην αντιμετώπιση των επιπλοκών της νόσου (Gorman et al., 2016).

1.1 Σύνδρομα σχετιζόμενα με τη πολυμεράση γ (Polγ)

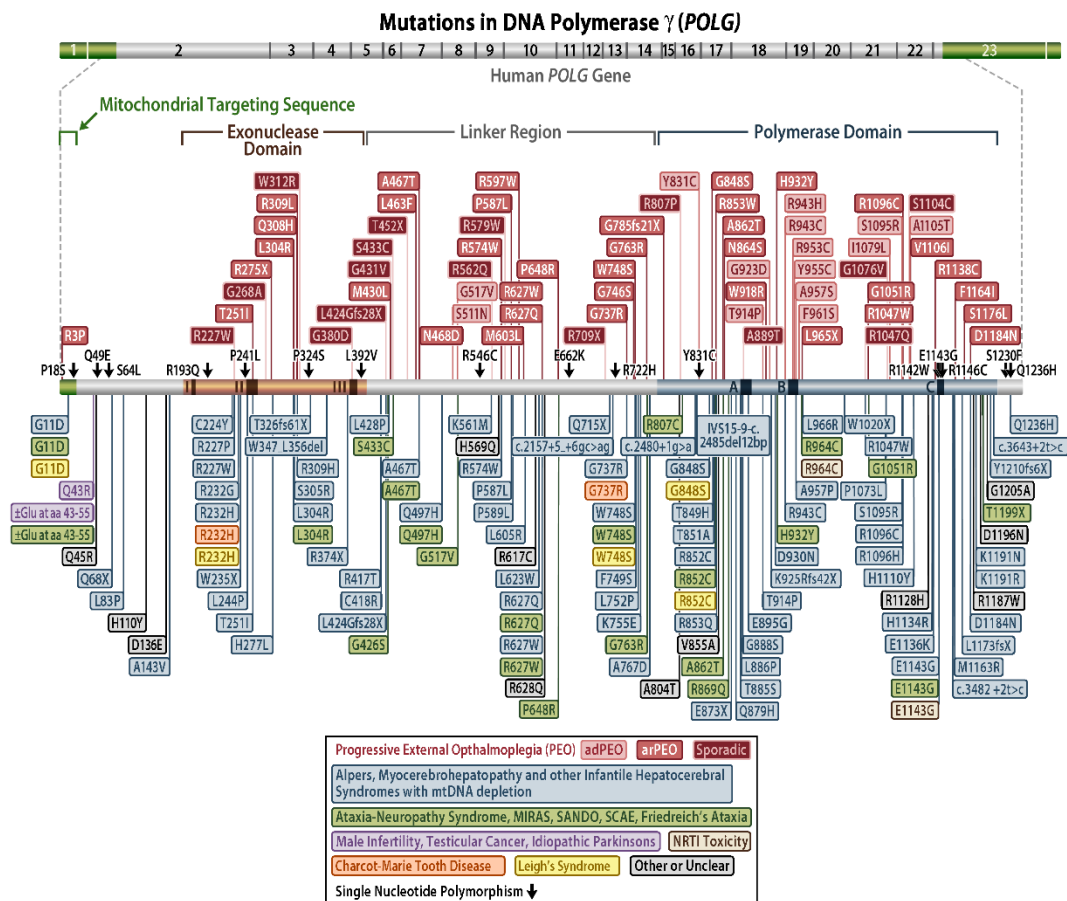
Η Polγ αποτελείται από μία καταλυτική υπομονάδα 140 kDa, με δραστικότητα 5'-3' πολυμεράσης, 3'-5' εξωνουκλεάσης και 5' λυάσης φωσφορικής δεοξυριβόζης, και από μία βοηθητική υπομονάδα 55 kDa που λειτουργεί ως παράγοντας διέγερσης και δέσμευσης του DNA. Η καταλυτική υπομονάδα κωδικοποιείται από το γονίδιο POLG που εδράζεται στο χρωμόσωμα 15q25 και περιέχει 23 εξόνια. Το τμήμα για τη δραστικότητα 3'-5' εξωνουκλεάση εδράζεται στο N-τελικό άκρο του γονιδίου, ενώ το τμήμα για τις δραστικότητες 5'-3' πολυμεράσης και λυάσης εδράζεται στο C-τελικό άκρο και μεταξύ τους παρεμβάλλεται μια περιοχή σύνδεσης. Η βοηθητική υπομονάδα της Polγ κωδικοποιείται από το γονίδιο POLG2 που βρίσκεται στο χρωμόσωμα 17q23 και διαθέτει 8 εξόνια (Nguyen et al., 2006).



Εικόνα 10 Δομικές και λειτουργικές περιοχές της poly (Saneto et al., 2013).

Διαταραχές στη λειτουργία της Polγ οδηγούν σε μείωση του mtDNA και άθροιση πολλαπλών ελλείψεων στο mtDNA σε μεταμιτωτικούς ιστούς. Οι καταγεγραμμένες μεταλλάξεις στο POLG είναι πλέον περισσότερες από 300, αντιπροσωπεύουν τη πιο διαδεδομένη μονογονιδιακή αιτία μιτοχονδριακής νόσου και σχετίζονται με συγκεκριμένα μιτοχονδριακά νοσήματα με αλληλοεπικαλυπτόμενους φαινότυπους που περιλαμβάνουν το σύνδρομο Alpers-Huttenlocher (AHS), το σύνδρομο της μυοεγκεφαλοπατοπάθειας (MCHS), το σύνδρομο της μυοκλονικής επιληψίας, μυοπάθειας και αισθητηριακής αταξίας (MEMSA), τη προοδευτική εξωτερική οφθαλμοπληγία που κληρονομείται με αυτοσωμικό επικρατή και αυτοσωμικό υπολειπόμενο τρόπο (arPEO και adPEO) και το φάσμα αταξίας-νευροπάθειας (ANS) (Jha et al., 2022). Σπανιότερα, μεταλλάξεις στο POLG έχουν συνδεθεί με νοσήματα με φαινότυπο που μοιάζει με MGNIE και MELAS (Hikmat et al., 2017).

Υπολειπόμενες μεταλλάξεις στην περιοχή της 5'-3' πολυμεράσης μειώνουν τη δραστηριότητα της polγ, αλλάζουν τη συγγένεια δέσμευσης του DNA και μειώνουν την ικανότητα κατάλυσης. Μεταλλάξεις στη συνδετική περιοχή επηρεάζουν τη σύνδεση με τη βοηθητική υπομονάδα αποσταθεροποιώντας το σύμπλοκο της polγ ή μειώνουν την ικανότητα επεξεργασίας και σύνδεσης με το DNA και τη δραστηριότητα πολυμεράσης. Τέλος, μεταλλάξεις στην περιοχή 3'-5' μειώνουν την πιστότητα της πολυμεράσης. Οι υπολειπόμενες μεταλλάξεις στο POLG προκαλούν νόσο όταν κληρονομούνται ως ομόζυγες ή ως συνδυασμένες ετερόζυγες. In trans συνδυασμένες μεταλλάξεις συνήθως συνδέονται με πιο σοβαρούς φαινότυπους καθώς επιδρούν συνεργατικά στην ενεργότητα του ενζύμου μειώνοντάς τη δραματικά, ενώ οι ομόζυγες υπολειπόμενες συχνότερα έχουν ηπιότερη κλινική εικόνα (Saneto et al., 2013).



Εικόνα 11 Μεταλλάξεις του POLG <https://tools.niehs.nih.gov/polg/index.cfm/main/home/limitresults/false>

1.1.1 Alpers-Huttenlocher syndrome (AHS)

Το σύνδρομο Alpers-Huttenlocher (AHS) περιγράφηκε αρχικά από τον Bernard Alpers το 1931 ως ένα νόσημα με ανθεκτική επιληψία και αναπτυξιακή καθυστέρηση που συσχετίστηκε με ηπατική κίρρωση από τον Peter Huttenlocher το 1976 (Alpers, 1931; Huttenlocher et al., 1976). Πλέον χαρακτηρίζεται ως η κλινική τριάδα εστιακών σπασμών που εξελίσσονται σε αμφοτερόπλευρους γενικευμένους σπασμούς και συχνά σε status epilepticus, ψυχοκινητική παλινδρόμηση και ηπατοπάθεια, με χαρακτηριστικά παθολογοανατομικά ευρήματα, με ή χωρίς ηπατική ανεπάρκεια (Hikmat et al., 2017). Ηπατική συμμετοχή δεν παρατηρείται σταθερά σε όλους τους ασθενείς και μπορεί να σχετίζεται με θεραπεία με βαλπροϊκό οξύ ή ιογενείς λοιμώξεις. Το AHS είναι πολύ σπάνιο, με επίπτωση 1:40.000 άτομα και με τα δύο φύλα να επηρεάζονται εξίσου. Η έναρξη του συνδρόμου εντοπίζεται στη βρεφική ή στην πρώιμη παιδική ηλικία (3 μηνών – 8 ετών), μετά από μια περίοδο φυσιολογικής ανάπτυξης, ή μεταξύ 17 – 24 ετών. Η πρόγνωση είναι εξαιρετικά πτωχή, με τις

περισσότερες περιπτώσεις να έχουν μία ραγδαία εξέλιξη που οδηγεί εν τέλει στο θάνατο λόγω status epilepticus ή ηπατικής ανεπάρκειας μέσα σε μερικούς μήνες από τις πρώτες εκδηλώσεις (S Rahman, 2020; Saneto et al., 2013).

Γενετική: Έχουν καταγραφεί περισσότερες από 180 μεταλλάξεις που προκαλούν το AHS, με διαφορετική ηλικία εμφάνισης και κλινικές εκδηλώσεις. Ανήκει στα σύνδρομα μείωσης του mtDNA σχετιζόμενα με POLG μεταλλάξεις, καθώς οι περισσότερες μεταλλάξεις αφορούν το γονίδιο POLG που οδηγούν σε μείωση των αντιγράφων του mtDNA (3-40% του φυσιολογικού) ή επηρεάζουν την πιστότητα αντιγραφής του mtDNA (Hikmat et al., 2017; Jha et al., 2022; Saneto et al., 2013). Κληρονομείται με αυτοσωμικό υπολειπόμενο τρόπο και δεν έχουν περιγραφεί επικρατείς μεταλλάξεις για αυτό το σύνδρομο.

Οι μεταλλάξεις στο POLG παρατηρούνται κατα μήκος όλου του γονιδίου και έχουν καταγραφεί τόσο ομόζυγες, όσο και in trans συνδυασμένες ετερόζυγες μεταλλάξεις. Η πιο κοινή μετάλλαξη που παρατηρείται στο σύνδρομο AHS φαίνεται να είναι η c.1399G>A (p.A467T) και ακολουθεί σε συχνότητα η c.2243G>C (p.W748S), οι οποίες μάλιστα θεωρούνται ιδρυτικές μεταλλάξεις για βορειοευρωπαίους πληθυσμούς. Η συχνότητα των φορέων για τη p.A467T είναι 0,6% στο Βέλγιο και 1% στη Νορβηγία, ενώ η αντίστοιχη συχνότητα για το p.W748S στη Φινλανδία είναι 1:125 (Nicholas Russo et al., 2022; Saneto et al., 2013). Αυτές οι μεταλλάξεις συχνά συνδυάζονται με άλλες και συνηθέστερα με τη μετάλλαξη c.2542G>A (p.G848S) που απαντάται και στα σύνδρομα MCHS και MNGIE, δίνοντας τον κλινικό φαινότυπο του AHS (Hakonen et al., 2007). Το κατάλοιπο A467 είναι απαραίτητο για την αλληλεπίδραση της καταλυτικής με τη βοηθητική υπομονάδα της Polγ επιτρέποντας τη σύνθεση DNA, οπότε αλλαγές σε αυτό το αμινοξύ οδηγούν σε μείωση της ενεργότητας του ενζύμου (Chan et al., 2005). Πρόσφατα ανακαλύφθηκε μία νέα παραλλαγή, η c.2425A>G (p.S809R), σε συνδυασμό με την p.A467T σε ένα αγόρι με αλληλοεπικαλυπτόμενο φαινότυπο AHS και MEMSA. Το κατάλοιπο S809 εδράζεται σε μια περιοχή που επιτρέπει στην καταλυτική υπομονάδα να συνδέεται με το DNA και ταυτόχρονα να συνδέεται με τη βοηθητική υπομονάδα. Ετεροζυγώτες για αυτήν την παραλλαγή κατά πάσα πιθανότητα θα έχουν φυσιολογική ενεργότητα ενζύμου, ωστόσο στους ομοζυγώτες ή στους συνδυασμένους ετεροζυγώτες αναμένεται μειωμένη ενεργότητα και φαινότυπος που ταιριάζει με κάποια POLG-σχετιζόμενη μιτοχονδριοπάθεια (Nicholas Russo et al., 2022).

Έχουν καταγραφεί νουκλεοτιδικοί πολυμορφισμοί στο POLG που τροποποιούν την εκδήλωση και το φαινότυπο του AHS. Υπό την επίδραση κάποιου επιγενετικού παράγοντα αλληλεπιδρούν με μια αρχικά σιωπηλή μετάλλαξη, οδηγώντας εν τέλει στην εκδήλωση νόσου, άλλοτε άλλης βαρύτητας (Saneto & Naviaux, 2010). Από αυτούς τους πολυμορφισμούς οι πιο γνωστοί είναι οι c.3428A>G (p.E1143G) και c.3708G>T (p.Q1236H), που απαντώνται σε Βορειοευρωπαίους με συχνότητα 4,5% και 8,6% αντίστοιχα, και που ίσως αυξάνουν την ευαισθησία τους ήπατος στο βαλπροϊκό οξύ, καθώς και ο πολυμορφισμός c.2890C>T (p.R964C) που επάγει γαλακτική οξέωση όταν η Polγ έρχεται σε επαφή με τη σταβουδίνη (νουκλεοσιδικός αναστολέας της αντιστροφής μεταγραφής) (Hynynen et al., 2018; Saneto et al., 2013).

Σπανιότερα περιπτώσεις του συνδρόμου μπορεί να περιλαμβάνουν ελλείμματα στο γονίδιο TWNK που κωδικοποιεί την ελικάση του mtDNA ή στα γονίδια FARS2, NARS2 και PARS2 που κωδικοποιούν 3 μιτοχονδριακές αμινοακυλο-tRNA συνθετάσες, με φαινότυπους ελαφρώς διαφορετικούς από το κλασικό AHS (Elo et al., 2012; S Rahman, 2020; Sofou et al., 2012).

Διάγνωση: Η διάγνωση του συνδρόμου γίνεται κυρίως με αλληλούχιση του γονιδίου POLG, καθώς σε αυτό ανευρίσκονται οι περισσότερες μεταλλάξεις, και με ποσοτική ανάλυση του mtDNA σε ιστικά δείγματα από ήπαρ ή μύες. Βιοχημικές εξετάσεις δεν προτείνονται για την διάγνωση καθώς δεν υπάρχουν ειδικοί και ευαίσθητοι δείκτες για το AHS. Όσον αφορά το ΗΕΓ και τη MRI, υπάρχουν μόνο ενδεικτικά σημεία που σε συνδυασμό με το ιστορικό μπορούν να παραπέμπουν σε πιθανή διάγνωση AHS, που και πάλι θα πρέπει να επιβεβαιωθεί με γονιδιακό έλεγχο (Saneto et al., 2013).

Θεραπεία: Η θεραπεία έγκειται στη διαχείριση των συμπτωμάτων, την υποστηρικτική φροντίδα και την εκπαίδευση της οικογένειας, περιλαμβάνοντας υποστήριξη της αναπνοής, αντιεπιληπτική θεραπεία, αναλγητικά και μυοχαλαρωτικά φάρμακα και γαστροστομία για διατροφική υποστήριξη.

1.1.2 Μυοεγκεφαλοπατοπάθεια (MCHS)

Η μυοεγκεφαλοπατοπάθεια (MCHS) αποτελεί σπανιότερο και διακριτό σύνδρομο από το AHS, με έναρξης των συμπτωμάτων από τη νεογνική περίοδο έως τα 3 έτη, με μέση ηλικία τους 6 μήνες (Hikmat et al., 2017; Wong et al., 2008). Οι κλινικές εκδηλώσεις περιλαμβάνουν μυοπάθεια ή υποτονία, ηπατική ανεπάρκεια με διαφορετική ιστοπαθολογική εικόνα από το AHS, γαλακτική οξέωση, αναπτυξιακή καθυστέρηση

και εγκεφαλοπάθεια, χωρίς απαραίτητη την εκδήλωση σπασμών (Nguyen et al., 2006). Άλλα ευρήματα στο MCHS περιλαμβάνουν δικαρβοξυλική οξυουρία, σπειραματοπάθεια με αμινοζουρία, γλυκοζουρία ή απώλεια διαττανθρακικών από τους νεφρούς, έκπτωση ακοής, παγκρεατίτιδα, εικόνα καθυστερημένης μυελίνωσης ή απώλειας όγκου του εγκεφάλου σε MRI (Hikmat et al., 2017; Nicholas Russo et al., 2022).

Γενετική: Στο MCHS ανευρίσκονται κυρίως μεταλλάξεις που αφορούν το γονίδιο POLG. Η παραλλαγή c.2492A>G (p.Y831C) φαίνεται να είναι αρκετά συχνή στον πληθυσμό, όταν όμως συνυπάρχει με κάποια σοβαρή μετάλλαξη, όπως η c.3401A>G (p.H1134R), γίνεται παθογόνος (Hikmat et al., 2017).

1.1.3 Μυοκλονική επιληψία, μυοπάθεια και αισθητηριακή αταξία – Myoclonic epilepsy, myopathy and sensor ataxia (MEMSA) & Φάσμα αταξικής νευροπάθειας – Ataxia neuropathy spectrum (ANS)

Το MEMSA είναι ένα σύνδρομο που περιλαμβάνει επιληψία, μυοπάθεια και αταξία χωρίς οφθαλμοπληγία. Τυπικά τα συμπτώματα ξεκινούν στην παιδική ηλικία με παρεγκεφαλιδική αταξία δευτερογενώς λόγω αισθητηριακής νευροπάθειας. Ταυτόχρονα, εμφανίζεται μυϊκή αδυναμία που συνήθως αφορά εγγύς μυϊκές ομάδες αλλά μπορεί να είναι και περιφερική, ενώ πολλοί ασθενείς εμφανίζουν εστιακή επιληψία που στη συνέχεια εξελίσσεται σε γενικευμένη ανθεκτική. Από την άλλη, ασθενείς στο φάσμα ANS εμφανίζουν συμπτώματα αταξίας και ποικίλου βαθμού αισθητηριοκινητική νευροπάθεια, μαζί με κεφαλαλγίες, σπασμούς, μυοκλωνίες, απώλειας όρασης, οφθαλμοπληγία, ηπατική ανεπάρκεια και ψυχιατρικές διαταραχές. Και τα δύο σύνδρομα είναι αρκετά σπάνια και οι μεταλλάξεις που παρατηρούνται στο POLG είναι ποικίλες (Nicholas Russo et al., 2022).

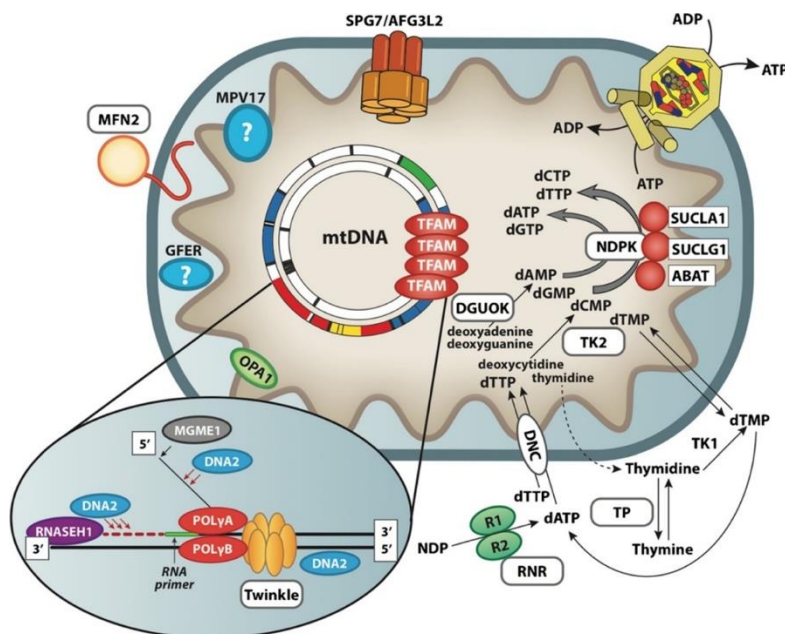
1.1.4 Προϊούσα εξωτερική οφθαλμοπληγία - Progressive external ophthalmoplegia (PEO)

Η προοδευτική εξωτερική οφθαλμοπληγία (PEO) ανήκει στα σύνδρομα μεγάλων διαγραφών του mtDNA, μπορεί να είναι αυτοσωμική υπολειπόμενη (arPEO) ή επικρατής (adPEO) και αποτελεί σπάνια εκδήλωση στην παιδική ηλικία, συνήθως στα πλαίσια κάποιας σύνθετης μιτοχονδριοπάθειας (S Rahman, 2020). Η arPEO χαρακτηρίζεται από προοδευτική αδυναμία των εξοφθάλμιων μυών με βλεφαρόπτωση και οφθαλμοπάρηση, ενώ στην adPEO υπάρχουν και συστηματικά συμπτώματα όπως

γενικευμένη μυοπάθεια, νευροαισθητήρια απώλεια ακοής, νευραξονική νευροπάθεια, αταξία, κατάθλιψη, παρκινσονισμός, υπογοναδισμός και καταρράκτης (Shamima Rahman & Copeland, 2019). Μεταλλάξεις παρατηρούνται στα γονίδια POLG2, TWNK, RRM2B, SLC25A4, MGME1, DNA2, RNASEH1, TK2, DGUOK, MPV17, SPG7 και AFG3L2 (Viscomi & Zeviani, 2017).

1.2 Διαταραχές διατήρησης του mtDNA

Την τελευταία δεκαετία, ένας αυξανόμενος αριθμός γονιδίων έχει εντοπιστεί σε σχέση με διαταραχές στην διατήρηση του mtDNA είτε λόγω πολλαπλών διαγραφών του είτε λόγω μείωσης του αριθμού αντιγράφων του χωρίς σημειακές μεταλλάξεις σε αυτό (mtDNA depletion - MTDPS), με ποικίλους κλινικούς φαινότυπους. Τα εμπλεκόμενα γονίδια αποτελούν κυρίως μέρος του μηχανισμού αντιγραφής του mtDNA (POLG και POLG2, TWNK, DNA2, MGME1) ή συμμετέχουν στην αναπλήρωση και προμήθεια τριφωσφορικών δεοξυριβονουκλεοσιδίων (dNTPs) για τη σύνθεση του mtDNA (TYMP, TK2, DGUOK, RRM2B, SUCLA2, SUCLG1). Επίσης, γονίδια που εμπλέκονται στη μιτοχονδριακή σύντηξη (OPA1 και MFN2) ενέχονται στη συσσώρευση πολλαπλών διαγραφών του mtDNA, όπως και σε μεταλλάξεις του γονιδίου AFG3L2 που διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στον ποιοτικό έλεγχο των πρωτεϊνών των μιτοχονδρίων (Rötig & Poulton, 2009; Viscomi & Zeviani, 2017). Τα MTDPS ορίζονται ως μείωση του αριθμού των αντιγράφων του mtDNA σε λιγότερο του 30% του φυσιολογικού αριθμού και συνήθως κληρονομούνται με αυτοσωμικό υπολειπόμενο τρόπο (Rötig & Poulton, 2009).



Εικόνα 12 Εμπλεκόμενα μονοπάτια διατήρησης του mtDNA (Viscomi & Zeviani, 2017).

DGUOK

Το γονίδιο *DGUOK* εδράζεται στο χρωμόσωμα 2p13 και κωδικοποιεί την κινάση της δεοξυγουανοσίνης (dGK). Μεταλλάξεις σε αυτό το γονίδιο έχουν σχετισθεί με ηπατοεγκεφαλικά σύνδρομα με ηλικία έναρξης των συμπτωμάτων στη βρεφική ηλικία (1 – 24 μηνών), που περιλαμβάνουν ηπατική δυσλειτουργία με ηπατική ανεπάρκεια, αυξημένα επίπεδα γαλακτικού οξέος, διαταραχές σίτισης, υποτονία και/ή υπεργλυκαιμία, με κατάληξη πριν την ηλικία των 2 ετών. Σε αυτούς τους ασθενείς ανευρίσκεται συνήθως στο ήπαρ αριθμός αντιγράφων mtDNA <10% του φυσιολογικού, ενώ στους μύες είναι φυσιολογικός (Rötig & Poulton, 2009).

Θεραπεία: Σε πολύ λίγες, επιλεγμένες περιπτώσεις έχει πραγματοποιηθεί μεταμόσχευση ήπατος, χωρίς αποδεδειγμένο όφελος για όλους τους ασθενείς (Rötig & Poulton, 2009).

TK2

Το γονίδιο *TK2* εδράζεται στο χρωμόσωμα 16 και κωδικοποιεί την κινάση της θυμιδίνης (TK). Παρανοηματικές μεταλλάξεις σε αυτό έχουν αναφερθεί σε ασθενείς με ποικίλο φαινότυπο που μπορεί να περιλαμβάνει μυοπάθεια, εγκεφαλοπάθεια, επιληψία, καρδιομυοπάθεια και σχετίζονται με τη μειωμένη δραστηριότητα του ενζύμου που οδηγεί σε μείωση του mtDNA σε μυϊκά κύτταρα (Rötig & Poulton, 2009).

RRM2B

Το γονίδιο *RRM2B* εδράζεται στο χρωμόσωμα 8q22.3 και κωδικοποιεί την πρωτεΐνη p53R2 η οποία εμπλέκεται στην de novo μετατροπή των διφωσφορικών ριβονουκλεοζιδίων στα αντίστοιχα διφωσφορικά δεοξυριβονουκλεοζίδια και διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην παροχή dNTPs για την αντιγραφή του mtDNA. Ετερόζυγες μεταλλάξεις παρατηρούνται σε περιπτώσεις adPEO, ενώ υπολειπόμενες μεταλλάξεις έχουν βρεθεί σε βρεφικές μυοπάθειες με σωληναριοπάθεια και MNGIE (Viscomi & Zeviani, 2017). Μεταλλάξεις στο γονίδιο *RRM2B* επάγουν επίσης πολλαπλές διαγραφές στο mtDNA με αποτέλεσμα εκδήλωση συνδρόμου Kearns-Sayer (Pitceathly et al., 2011).

SUCLG1 και SUCLA2

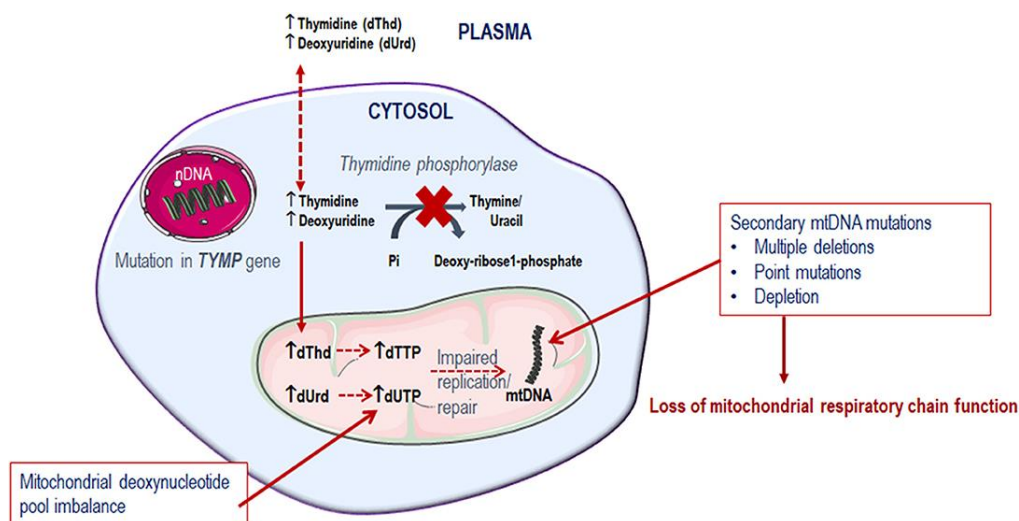
Τα γονίδια *SUCLG1* και *SUCLA2* κωδικοποιούν αντίστοιχα τις υπομονάδες SCS-G και SCS-A του ενζύμου συνθάση του ηλεκτρυλο-CoA (SCS) που καταλύει την αντιστρεπτή αντίδραση σύνθεσης ηλεκτρικού και ATP από ηλεκτρυλο-CoA και ADP. Στους ασθενείς με μεταλλάξεις στα *SUCLG1* και *SUCLA2*, και άρα με επηρεασμένη λειτουργικότητα της SCS, παρατηρείται μεγάλη μείωση των αντιγράφων του mtDNA, πιθανώς μέσω μείωσης της δεξαμενής των dNTPs, στην αναγέννηση των οποίων φαίνεται να συνεργάζονται η SCS με τη νουκλεοσιδική-διφωσφορική κινάση (NDPK) κάτω από ορισμένες συνθήκες και η μείωση αυτή οδηγεί σε συνδυασμένη ανεπάρκεια της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης (διαταραχές της λειτουργίας των συμπλεγμάτων I, III, IV και V) (Lake et al., 2016; Rötig & Poulton, 2009).

Και στα δύο γονίδια έχουν περιγραφεί μεταλλάξεις (κυρίως διαγραφές) σε ασθενείς με συμπτώματα και σημεία εγκεφαλομυοπάθειας ή σε ασθενείς με θανατηφόρο γαλακτική οξέωση σε βρεφική ηλικία. Η μετάλλαξη c.534+1G>A στο γονίδιο *SUCLA2* θεωρείται ιδρυτική για τους κατοίκους των Νήσων Φερόες, με τη συχνότητα των φορέων να υπολογίζεται 1:33. Η μετάλλαξη αυτή σε ομόζυγη κατάσταση παράγει ένα φαινότυπο με εγκεφαλομυοπάθεια και μεθυλμαλονική οξυουρία (Carrozzo et al., 2007).

TYMP

Το σύνδρομο μιτοχονδριακή νευρογαστρεντερική εγκεφαλοπάθεια (mitochondrial neurogastrointestinal encephalomyopathy – MNGIE) είναι μία σπάνια μιτοχονδριακή νόσος, με επίπτωση <1:1.000.000 παγκοσμίως, που κληρονομείται με αυτοσωμικό

υπολειπόμενο τρόπο. Η ηλικία εμφάνισης είναι μεταξύ 1^{ης} και 3^{ης} δεκαετίας και τα συμπτώματα περιλαμβάνουν σοβαρή γαστρεντερική δυσκινησία, εμέτους, κοιλιακά άλγη, αδυναμία πρόσληψης βάρους, εγκεφαλοπάθεια, οφθαλμοπληγία, βλεφαρόπτωση, περιφερική νευροπάθεια και μυϊκή αδυναμία (Nguyen et al., 2006).

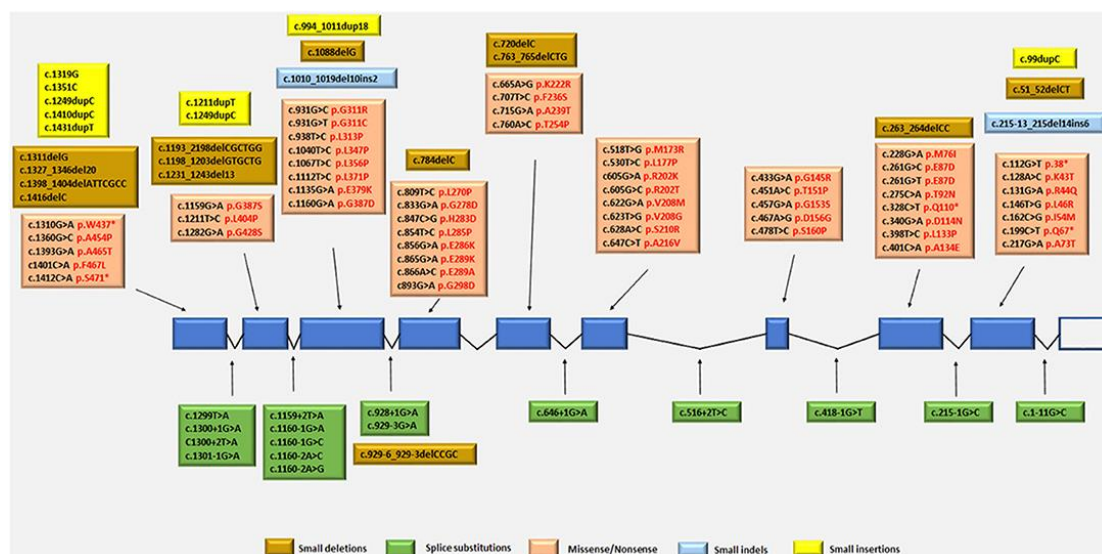


Εικόνα 13 (Pacitti et al., 2018).

Γενετική: Το σύνδρομο MNGIE προκαλείται κυρίως από ομόζυγες ή συνδυασμένες ετερόζυγες μεταλλάξεις στο γονίδιο *TYMP* που εδράζεται στο χρωμόσωμα 22q13.3 και κωδικοποιεί το κυτταροπλασματικό ένζυμο φωσφορυλάση της θυμιδίνης (TP). Το TP εκφράζεται στους περισσότερους ανθρώπινους ιστούς και καταλύει το πρώτο στάδιο της μετατροπής των δεοξυριβονουκλεοσιδίων θυμιδίνη (dThd) και δεοξουριδίνη (dUrd) στα νουκλεοτίδια θυμίνη και ουρακίλη αντίστοιχα, τα οποία στη συνέχεια εισάγονται στο μιτοχόνδριο και χρησιμοποιούνται στη σύνθεση του mtDNA. Μεταλλάξεις στο γονίδιο *TYMP* με ελάττωση της ενεργότητας του ενζύμου <5% έχουν σαν αποτέλεσμα άθροιση των υποστρωμάτων dThd και dUrd, οδηγώντας εν τέλει σε μια ανισορροπία μεταξύ νουκλεοσιδίων και νουκλεοτιδίων που καταλήγει σε διαταραχές της αντιγραφής του mtDNA και δυσλειτουργία των μιτοχονδρίων (Filosto et al., 2018; Pacitti et al., 2018).

Έχουν καταγραφεί 92 διαφορετικές μεταλλάξεις στο γονίδιο *TYMP* που περιλαμβάνουν 56 ανερμηνεύσιμες και παρερμηνεύσιμες μεταλλάξεις, 13 μεταλλάξεις αλλαγής ματίσματος, 13 μικρές ελλείψεις, 6 μικρές προσθήκες, 2 μικρά indels, 1 μεγάλη προσθήκη και 1 μεγάλη διαγραφή. Λόγω της ετεροπλασμίας του mtDNA συγκεκριμένες μεταλλάξεις δεν σχετίζονται απαραίτητα με τον ίδιο φαινότυπο και

όπως και σε άλλα μιτοχondριακά νοσήματα παρατηρείται μεγάλη ετερογένεια στις κλινικές εκδηλώσεις (Pacitti et al., 2018).



Εικόνα 14 Μεταλλάξεις στο γονίδιο *TYMP* που οδηγούν σε MNGIE (Pacitti et al., 2018)

Λόγω της τοξικής άθροισης των dThd και dUrd προκαλούνται δευτερογενείς μεταλλάξεις στο mtDNA και κυρίως ελλείψεις, λανθασμένες προσθήκες και μείωση του mtDNA, που οδηγούν τελικά σε διαταραχές της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης. Φαίνεται πως μεταλλάξεις προκύπτουν σε συγκεκριμένα γονίδια του mtDNA, όπως το MT-ND5, και κυρίως πρόκειται για T>C αλλαγές (Nishigaki et al., 2003, 2004).

Περιπτώσεις MNGIE έχουν περιγραφεί και σε μεταλλάξεις των γονιδίων POLG και RRM2B (Filosto et al., 2018; Mojtabavi et al., 2021).

Διάγνωση: Η διάγνωση του συνδρόμου στηρίζεται στην κλινική υποψία σε άτομα που παρουσιάζονται με γαστρεντερικά και νευρολογικά συμπτώματα και περιλαμβάνει μέτρηση των επιπέδων θυμιδίνης και δεοξουριδίνης στο πλάσμα και στα ούρα, εκτίμηση της ενεργότητας του TP, γονιδιακή αλληλούχιση (είτε στοχευμένα για το TYMP είτε ολόκληρου του πυρηνικού και μιτοχondριακού γονιδιώματος) και απεικονιστικό έλεγχο του νευρικού συστήματος με MRI (Bax, 2020).

Θεραπεία: Όσον αφορά τη θεραπεία του συνδρόμου, προς το παρόν είναι συμπτωματική, με παράλληλη διατροφική υποστήριξη της υποθρεψίας και αποφυγή φαρμάκων που παρεμβαίνουν στη μιτοχondριακή λειτουργία (Pacitti et al., 2018). Η αιμοδιάλυση για μείωση των τοξικών επιπέδων των dThd και dUrd δεν έχει αποφέρει τα επιθυμητά αποτελέσματα, πιθανώς όμως η χρήση περιτοναϊκής διάλυσης για τον

ίδιο σκοπό να είναι πιο ωφέλιμη. Τα τελευταία χρόνια η έρευνα έχει στραφεί στην ενζυμική αντικατάσταση της TP μέσω έγχυσης αιμοπεταλίων υγιών δοτών που εκφράζουν σε μεγάλο βαθμό την TP, μέσω αυτόλογης έγχυσης ερυθροκυττάρων στα οποία έχει ενσωματωθεί η TP, μέσω αλλογενούς μεταμόσχευσης αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων ή μέσω ορθότοπης μεταμόσχευσης ήπατος. Σε όλες τις περιπτώσεις σημειώθηκε μείωση των επιπέδων των νουκλεοσιδίων στο πλάσμα των ασθενών. Σε πειραματικό στάδιο βρίσκονται και μελέτες για ενζυμική υποκατάσταση με νανομόρια που φέρουν την TP και γονιδιακή θεραπεία με αδενοσχετιζόμενο ιό που φέρει το φυσιολογικό γονίδιο *TYMP* στοχεύοντας το ήπαρ (Bax, 2020).

TWINK

Το γονίδιο *TWINK* στο χρωμόσωμα 10 κωδικοποιεί την ελικάση Twinkle που εμπλέκεται στην αντιγραφή του mtDNA. Μεταλλάξεις σε αυτό το γονίδιο μπορούν να προκαλέσουν νοσήματα που κληρονομούνται με επικρατή τρόπο, όπως η adPEO, ή με υπολειπόμενο τρόπο, όπως το σύνδρομο IOSCA, που ανήκει στα MTDPs. Το σύνδρομο IOSCA (βρεφικής έναρξης μυελοπαρεγκεφαλιδική αταξία) χαρακτηρίζεται από προοδευτική ατροφία της παρεγκεφαλίδας, του εγκεφαλικού στελέχους και του νωτιαίου μυελού με συνοδό αισθητηριακή αξονική νευροπάθεια που εμφανίζεται σε ηλικία 1 – 2 ετών (Rötig & Poulton, 2009; Viscomi & Zeviani, 2017). Χαρακτηριστική για το σύνδρομο είναι η ομόζυγη μετάλλαξη c.1708A>G (p.Y508C) του *TWINK* που μάλιστα θεωρείται ιδρυτική για τους Φινλανδούς (Nikali et al., 2005). Μεταλλάξεις στο *TWINK* έχουν βρεθεί και σε σύνδρομο AHS, όπως αναφέρθηκε και παραπάνω.

MPV17

Το γονίδιο *MPV17* εδράζεται στο χρωμόσωμα 2 και κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη που συνδέεται στην εσωτερική μιτοχondριακή μεμβράνη με άγνωστο έως τώρα ρόλο. Μεταλλάξεις στο *MPV17* έχουν ανευρεθεί σε ασθενείς που συνδυάζουν σοβαρά υπογλυκαιμικά επεισόδια, ίκτερο και αυξημένα επίπεδα γαλακτικού οξέος και τρανσαμινασών στο αίμα, που αν επιβιώσουν μετά το 1^ο έτος ζωής αναπτύσσουν και νευρολογική σημειολογία. Σε όλους αυτούς τους ασθενείς ο αριθμός των αντιγράφων του mtDNA στο ήπαρ είναι <5-15% του φυσιολογικού (Rötig & Poulton, 2009). Η μετάλλαξη p.R50Q στο *MPV17* θεωρείται ιδρυτική σε παιδιά Navajo με το ομώνυμο σύνδρομο που εμφανίζουν ηπατοπάθεια, σοβαρή αισθητηριακή και κινητική νευροπάθεια, λευκοεγκεφαλοπάθεια και μεταβολική οξέωση (Karadimas et al., 2006).

SLC25A4

Το γονίδιο αυτό κωδικοποιεί την ANT1, την ειδική μυϊκή ισομορφή του αντιμεταφορέα ATP/ADP (ADP εξάγεται προς το κυτταρόπλασμα με ταυτόχρονη εισαγωγή ATP στο μιτοχόνδριο) ο οποίος εκφράζεται επίσης σε καρδιά και εγκέφαλο. Διάφορες μεταλλάξεις στο SLC25A4 οδηγούν σε άθροιση διαγραφών στο mtDNA με αποτέλεσμα δύο κλινικούς φαινότυπους: την adPEO που κληρονομείται με αυτοσωμικό επικρατή τρόπο και την σχετικά καλοήγη μιτοχονδριακή μυοπάθεια και καρδιοπάθεια της παιδικής ηλικίας που κληρονομείται με αυτοσωμικό υπολειπόμενο τρόπο και εισβάλλει με συμπτώματα κόπωσης και μειωμένης αντοχής στην άσκηση (Viscomi & Zeviani, 2017). Πρόσφατα περιγράφηκαν και μεταλλάξεις του γονιδίου που οδηγούν σε μείωση της ποσότητας το mtDNA με πρωιμότερη έναρξη, βαρύτερο φαινότυπο και θάνατο σε νεογνική-βρεφική ηλικία (Thompson et al., 2016).

TFAM

Έως τώρα έχει καταγραφεί μόνο μία μετάλλαξη στο γονίδιο *TFAM*, που κωδικοποιεί τον αντίστοιχο μιτοχονδριακό μεταγραφικό παράγοντα. Η μετάλλαξη αυτή είναι η ομόζυγη c.533C>T (p.P178L). Η αντικατάσταση της προλίνης στη θέση 178, που φυσιολογικά είναι απαραίτητη για την αλληλεπίδραση *Tfam* – mtDNA, επηρεάζει την αλληλεπίδραση αυτή με αποτέλεσμα τη μείωση του αριθμού των νουκλεοειδών και τη συσσώρευση του παράγοντα περιπυρηνικά. Τα συμπτώματα περιλαμβάνουν κυρίως ηπατική δυσλειτουργία (Stiles et al., 2016).

OPA1 και MFN2

Η πρωτεΐνη Opa1 είναι μία GTPase που εδράζεται στην εσωτερική μιτοχονδριακή μεμβράνη και εμπλέκεται στη μιτοχονδριακή σύντηξη, την απόπτωση, τη διαμόρφωση των ακρολοφιών, την οξειδωτική φωσφορυλίωση, τη διατήρηση του mtDNA και την ομοιοαστασία του ασβεστίου. Μεταλλάξεις στο αντίστοιχο γονίδιο OPA1, που εδράζεται στο χρωμόσωμα 3q28-29, παρατηρούνται σε ασθενείς με αυτοσωμική επικρατή οπτική ατροφία (DOA) και σε σύνδρομο DOA-plus και οδηγούν σε συσσώρευση πολλαπλών διαγραφών στο mtDNA (Viscomi & Zeviani, 2017).

Φαινότυπος DOA-plus χωρίς CPEO έχει περιγραφεί και σε ασθενείς με την ετερόζυγη μετάλλαξη c.629A>T (p.D210V) στο γονίδιο MFN2, που επίσης κωδικοποιεί μία GTPase απαραίτητη για τη σύντηξη των μιτοχονδρίων (Rouzier et al., 2012).

1.3 Επικρατής οπτική ατροφία – Dominant optic atrophy (DOA)

Η DOA είναι μία σχετικά συχνή κληρονομούμενη οπτική νευροπάθεια με επιπολασμό 1:12.000 με 1:50.000 παγκοσμίως. Χαρακτηρίζεται από μη αναστρέψιμη εξελισσόμενη εκφύλιση των γαγγλιακών κυττάρων του αμφιβληστροειδή (RGC) με έναρξη κατά την 1^η δεκαετία της ζωής και η σοβαρότητα των συμπτωμάτων ποικίλλει από ήπια διαταραχή της αντίληψης των χρωμάτων έως τύφλωση. Το 20% των ατόμων με DOA μπορεί να εμφανίζει επιπλέον νευροαισθητήρια βαρηκοΐα, μυοπάθεια, περιφερική νευροπάθεια, σπαστική παραπάρεση και αταξία, οπότε χαρακτηρίζεται σύνδρομο DOA plus (S Rahman, 2020).

Γενετική: Στο 75% των ασθενών εντοπίζονται μεταλλάξεις στο γονίδιο *OPA1*, με το νόσημα να κληρονομείται με αυτοσωμικό επικρατή τρόπο, ενώ σπάνια έχουν αναφερθεί και *de novo* μεταλλάξεις. Στο *OPA1* οι παρατηρούμενες μεταλλάξεις είναι ανοηματικές, παρανοηματικές, αλλάζουν τη θέση ματίσματος ή το πλαίσιο ανάγνωσης ή πρόκειται για διπλασιασμούς και διαγραφές. Απώλεια της λειτουργικότητας της *Opa1* οδηγεί σε κατακερματισμό των μιτοχονδρίων, με αποτέλεσμα αυξημένη παραγωγή ROS και μειωμένη σύνθεση ATP που τελικά οδηγούν σε απόπτωση των RGC (Lenaers et al., 2012).

Γενικά έχουν προταθεί δύο μοντέλα πρόκλησης της νόσου: απλοανεπάρκεια και φαινόμενο επικρατούς αρνητικής μετάλλαξης. Φαίνεται πως οι ανοηματικές και παρανοηματικές μεταλλάξεις που επηρεάζουν την καταλυτική υπομονάδα της *Opa1* οδηγούν στον πιο σοβαρό φαινότυπο της DOA-plus, οπότε μάλλον πρόκειται για μεταλλάξεις με αρνητική επικρατή επίδραση. Από την άλλη πλευρά, αλλαγές στο μάτισμα ή διαγραφές οδηγούν σε ατελή μετάφραση του παθολογικού αλληλομόρφου αλλά ταυτόχρονα και μειωμένη παραγωγή πρωτεΐνης από το φυσιολογικό αλληλόμορφο (μηχανισμός απλοανεπάρκειας), προκαλώντας τον ηπιότερο φαινότυπο της DOA (Lenaers et al., 2021). Παρ' όλα αυτά, ίδιοι γονότυποι δεν παράγουν πάντα τον ίδιο φαινότυπο και πιθανώς σε αυτό συμβάλλουν επιγενετικοί παράγοντες. Οι πιο συχνά απαντούμενες μεταλλάξεις στο *OPA1* είναι οι c.2873_2876del (p.V958Gfs*3), η c.2635C>T (p.R879*) και η c.2991_3001delinsGGATGCTCCA (p.R998Dfs*25).

Πλέον έχουν αναγνωρισθεί και άλλα υπεύθυνα γονίδια για τα DOA και DOA-plus: *OPA3* (19q13.2-13.3), *TMEM126A* (*OPA7*) (11q14.1), *AFG3L2* (18p11.21), *SPG7*

(16q24.3), DNM1L (12p11.21), WFS1 (4p16.1) και SSBP1 (7q34) (Chun & Rizzo, 2017).

Διάγνωση: Έλεγχος για το σύνδρομο πρέπει να γίνεται σε ασθενείς με αμφοτερόπλευρη ατροφία οπτικού νεύρου μη φλεγμονώδους αιτιολογίας. Λόγω της υψηλής συχνότητας μεταλλάξεων στο *OPA1*, προτείνεται αρχικά στοχευμένη αλληλούχιση αυτού του γονιδίου. Σε περίπτωση αρνητικού αποτελέσματος ακολουθεί αλληλούχιση περισσότερων γονιδίων ή WES με NGS και MLPA για CNVs, που όμως μπορεί να μην ανιχνεύσουν σημειακές μεταλλάξεις σε εσώνια, οπότε μπορεί να χρειασθεί WGS. Δεδομένου του υψηλού κόστους και τεχνικών δυσκολιών του τελευταίου, έδαφος κερδίζει η ανάλυση RNA με την οποία μπορεί να εκτιμηθεί η βιολογική επίδραση μεταλλάξεων που παρεμβαίνουν στη διαδικασία της μεταγραφής (Lenaers et al., 2021).

Θεραπεία: Όπως και σε άλλες μιτοχονδριοπάθειες η γενική θεραπευτική προσέγγιση περιλαμβάνει βιταμινούχα συμπληρώματα (βιταμίνες E και C, άλφα-λιποϊκό οξύ, L-καρνιτίνη, κρεατίνη, L-αργινίνη, κυστεΐνη), αντιοξειδωτικούς παράγοντες (ιμπεδερόνη και το EPI-743), διαιτητική ενίσχυση και νευροπροστατευτική αγωγή για τα RGC, κυρίως με νικοτιναμίδη και ταυρίνη. Το μέλλον της θεραπείας της DOA περιλαμβάνει τη γονιδιακή θεραπεία, κυρίως με την τεχνολογία του CRISPR-Cas9 που επιτρέπει ανασυνδυασμούς του *OPA1*. Πειραματικά έχει δοκιμαστεί σε μοντέλα ζώων η δημιουργία ενός διαγονιδίου που εκφράζεται φυσιολογικό *OPA1*, το οποίο μεταφέρεται στα RGC, με το μειονέκτημα του μη ελέγχου της έκφρασης του *OPA1*. Παράλληλα, έχουν ξεκινήσει να δοκιμάζονται τεχνητοί παράγοντες μεταγραφής (ATF) σε περιπτώσεις απλοανεπάρκειας, που θα επιτρέψουν την ενίσχυση της έκφρασης του φυσιολογικού αλληλομόρφου, ενώ και πάλι σε απλοανεπάρκεια έρευνα γίνεται ως προς την αξιοποίηση εγγενών μηχανισμών μεταγραφής και μετάφρασης. Μία ακόμη προσέγγιση αφορά το μηχανισμό ματίσματος με τη χρήση της μικρής πυρηνικής ριβονουκλεοπρωτεΐνης U1, η οποία με κατάλληλη επεξεργασία θα μπορεί να προσδένεται σε μία μεταλλαγμένη περιοχή ματίσματος, στρατολογώντας άλλους παράγοντες στη θέση και οδηγώντας το σωστό μάτισμα παρά την παρουσία της μετάλλαξης. Τέλος, έχει προταθεί η χρήση του μηχανισμού ματίσματος για σύνδεση του ενδογενούς pre-mRNA με ένα wild-type διαγονιδιακό mRNA για την εξάλειψη της περιοχής της μετάλλαξης. Αυτή η στρατηγική θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί και σε περιπτώσεις απλοανεπάρκειας και επικρατών αρνητικών μεταλλάξεων χωρίς

υπερέκφραση του OPA1, αφού χρησιμοποιείται ενδογενές OPA1 pre-mRNA (Lenaers et al., 2021).

Τα γονίδια-στόχοι μπορούν να χορηγηθούν απευθείας στα RGC μέσω ενδοϋαλοειδούς έγχυσης με τη βοήθεια ιικών φορέων. Ο φορέας που θα επιλεγεί, πρέπει να έχει τη δυνατότητα να διαπεράσει τη διπλή εσωτερική μιτοχονδριακή μεμβράνη, το οποίο είναι αρκετά δύσκολο. Έχει χρησιμοποιηθεί λοιπόν η εναλλακτική της εισαγωγής του επιθυμητού γονιδίου στο pDNA με ιικούς φορείς (όπως AAV) με τροπισμό για τα RGC (Chun & Rizzo, 2017).

1.4 Φάσμα συνδρόμου Leigh - Leigh syndrome spectrum (LSS)

Το σύνδρομο Leigh (LS) αποτελεί την πιο κοινή πρωτοπαθή μιτοχονδριοπάθεια της παιδικής ηλικίας με μεγάλη γονοτυπική ετερογένεια και επίπτωση ~1:40.000. Τα αρχικά συμπτώματα συνήθως εμφανίζονται μέσα στα 2 πρώτα έτη, με σταδιακή νευροεκφύλιση και θάνατο ως επί το πλείστον έως τα 3 έτη, αλλά το σύνδρομο μπορεί να εκδηλωθεί και σε μεγαλύτερη ηλικία ή σπάνια στην ενήλικη ζωή με καλύτερη πρόγνωση (Hong et al., 2020). Χαρακτηρίζεται ως υποξεία νεκρωτική εγκεφαλομυελοπάθεια και περιγράφηκε αρχικά το 1951 από τον Denis Leigh ως λυτικές εστίες σε εγκεφαλικό στέλεχος, μεσεγκέφαλο και βασικά γάγγλια (LEIGH, 1951).

Για τη διάγνωση του LS έχουν θεσπιστεί κριτήρια που περιλαμβάνουν νευροπαθολογοανατομικά ευρήματα συμβατά με LS (εστιακές, αμφοτερόπλευρες, συμμετρικές υποξείες νεκρωτικές βλάβες που εκτείνονται από τον θάλαμο έως το εγκεφαλικό στέλεχος και τις οπίσθιες στήλες του νωτιαίου μυελού) ή επί απουσία αυτών συνδυασμός νευροαπεικονιστικών χαρακτηριστικών με νευρολογική σημειολογία που επιπλέον μπορεί να υποστηρίζονται από συγκεκριμένα βιοχημικά χαρακτηριστικά (S Rahman et al., 1996). Τα απεικονιστικά ευρήματα για το LS περιλαμβάνουν αμφοτερόπλευρες συμμετρικές εστίες αυξημένου σήματος σε T2 λήψεις σε MRI ή υποπυκνωτικές περιοχές σε CT στο εγκεφαλικό στέλεχος ή/και στα βασικά γάγγλια, με ή χωρίς αυξημένο σήμα σε T2 σε MRI ή χαμηλότερης πυκνότητας σε CT σε θάλαμο, παρεγκεφαλίδα, υποφλοιώδη λευκή ουσία ή/και νωτιαίο μυελό (Hong et al., 2020). Από την άλλη, η νευρολογική σημειολογία στα παιδιά περιλαμβάνει αναπτυξιακή καθυστέρηση και παλινδρόμηση, επιληψία, μυϊκή αδυναμία, αταξία και διαταραχές όρασης, ενώ στους ενήλικες εκδηλώνεται κυρίως με νευροψυχιατρικά

συμπτώματα. Επιπλέον, μπορεί να παρατηρηθούν συμπτώματα και από άλλα συστήματα, όπως το καρδιαγγειακό (υπερτροφική μυοκαρδιοπάθεια) και το γαστρεντερικό, ηπατική συμμετοχή ή νεφρική σωληναριοπάθεια (Lake et al., 2016). Στα βιοχημικά ευρήματα συγκαταλέγονται αυξημένα επίπεδα γαλακτικού οξέος στο πλάσμα και/ή στο ENY, ανεπάρκεια (<30%) της ενζυμικής δραστηριότητας της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης στον προσβεβλημένο ιστό (μύες, ήπαρ, νοβλάστες), ανεπάρκεια του συμπλέγματος της πυροσταφυλικής αφυδρογονάσης (PDHc), ελαττώματα στη μιτοχονδριακή σχάση/σύντηξη, αυξημένα επίπεδα γλυκίνης και μειωμένη αναπνευστική δραστηριότητα (Hong et al., 2020).

Ασθενείς που δεν πληρούν αυστηρά τα κριτήρια για LS αλλά έχουν παρόμοιο φαινότυπο αναφέρονται ως Leigh-like syndrome (LLS), το οποίο έχει αποδειχθεί πως έχει κοινό φάσμα παθολογικών μεταλλάξεων με το LS οδηγώντας σε κλινική και βιοχημική αλληλοεπικάλυψη των δύο οντοτήτων, δημιουργώντας πλέον τον όρο φάσμα του συνδρόμου Leigh (Leigh syndrome spectrum – LSS) (S Rahman, 2020).

Ο βασικός παθογενετικός μηχανισμός του LSS είναι η δυσλειτουργία των ενζύμων της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης, με λίγους ασθενείς να διατηρούν φυσιολογική ενζυμική δραστηριότητα. Πιο συχνά παρατηρείται μεμονωμένη ανεπάρκεια του συμπλέγματος I, ακολουθεί των IV και V και τέλος η συδυασμένη ανεπάρκεια κυρίως συμπλεγμάτων I και IV (Chang et al., 2020). Ανεπάρκεια του PDHc ή του συνενζύμου Q10 μπορούν επίσης να οδηγήσουν σε εκδήλωση LSS (Baertling et al., 2014). Το PDHc φυσιολογικά μετατρέπει το πυροσταφυλικό σε ακέτυλο-CoA, το βασικό υπόστρωμα της αλυσίδας μεταφοράς ηλεκτρονίων. Μεταλλάξεις που αφορούν το PDHc οδηγούν σε αύξηση του πυροσταφυλικού που μετατρέπεται σε γαλακτικό και το οποίο δεν επιτρέπει τη λειτουργία της αλυσίδας (Schubert & Vilarinho, 2020).

Γενετική: Πρόσφατα καταγράφηκαν 114 μονογονιδιακές αιτίες του συνδρόμου, τόσο στο nDNA όσο και στο mtDNA, με τις 31 από αυτές να σχετίζονται απόλυτα με LSS, 38 μέτρια, 43 ελάχιστα και 2 αμφίβολα. (McCormick et al., 2023). Σχεδόν το ένα τρίτο όλων των γονιδίων της νόσου του LS σχετίζονται με ανεπάρκεια του συμπλέγματος I (Lake et al., 2016)

Πίνακας 1 Γονίδια σχετιζόμενα με LSS (McCormick et al., 2023)

Μηχανισμός νόσου	Βιοχημικό έλλειμμα	Γονίδιο(α)	Κληρονομικότητα
Ανεπάρκεια συμπλεγμάτων οξειδωτικής φωσφορυλίωσης	Σύμπλεγμα I	MT-ND1 , MT-ND2, MT-ND3 , MT-ND4 , MT-ND5 , MT-ND6	Μητρική/Σποραδικά
		NDUFA1	Φυλοσύνδετη
		NDUFA2, NDUFA9, NDUFA10, NDUFA12, NDUFA13, NDUFB8, NDUFC2, NDUFS1, NDUFS2 , NDUFS3, NDUFS4 , NDUFS7, NDUFS8, NDUFV1, NDUFV2	AY
	Σύμπλεγμα II	SDHA	AY
	Σύμπλεγμα III	UQCRCQ	AY
	Σύμπλεγμα IV	MT-CO1, MT-CO2, MT-CO3	Μητρική/Σποραδικά
		COX4I1, COX8A, NDUFA4	AY
	Σύμπλεγμα V	MT-ATP6	Μητρική/Σποραδικά
		ATP5MD	AY
Ανεπάρκεια συντελεστών συναρμολόγησης	Σύμπλεγμα I	NDUFAF2 , NDUFAF4, NDUFAF5 , NDUFAF6 , NDUFAF8, FOXRED1, NUBPL, TIMMDC1	AY
	Σύμπλεγμα II	SDHAF1	AY
	Σύμπλεγμα III	BCS1L, TTC19	AY
	Σύμπλεγμα IV	COX10, COX15, LRPPRC , PET100, PET117, SCO2 , SURF1 , TACO1	AY
Διαταραχές του μεταβολισμού του πυροσταφυλικού	Σύμπλεγμα αφυδρογονάσης πυροσταφυλικού	PDHA1	Φυλοσύνδετη
		DLAT, DLD, PDHB, PDHX	AY
Διαταραχές στη μεταφορά και στο	Βιοτίνη	BTD	AY

μεταβολισμό βιταμινών	Θειαμίνη	SLC19A3, SLC25A19, TPK1	AY
Διαταραχές στη βιοσύνθεση συμπαραγόντων	Συνένζυμο Q10	COQ9, PDSS2	AY
	Λιποϊκό οξύ	LIAS, LIPT1, MECR	AY
Διαταραχές διατήρησης mtDNA	Μείωση ή/και πολλαπλές διαγραφές του mtDNA	SUCLA2, SUCLG1, POLG, RNASEH1	AY
		SLC25A4, SSBP1	De novo
Διαταραχές της έκφρασης μιτοχονδριακών γονιδίων	Διαταραγμένη σύνθεση μιτοχονδριακών πρωτεϊνών	MT-TI, MT-TK, MT- TL1, MT-TV, MT-TW	Μητρική/Σποραδικά
		C12ORF65, EARS2, FARS2, GFM1, GFM2, GTPBP3, IARS2, MRPS34, MTFMT, NARS2, PNPT1, PTCD3, TARS2, TRMU, TSFM	AY
Διαταραχές του ποιοτικού ελέγχου των μιτοχονδριακών πρωτεϊνών	Πρωτεόσταση	CLPB, LONP1	AY
Διαταραχές των μιτοχονδριακών μεμβρανών	Αναδιαμόρφωση λιπιδίων	SERAC1	AY
Διαταραχές της μιτοχονδριακής δυναμικής	Σχάση	MFF, SLC25A46, DNM1L	AY
	Σχάση	DNM1L	AE
	Σύντηξη	OPA1	AY
Διαταραχές της μιτοχονδριακής τοξικότητας	Μεταβολισμός σουλφιδίου	ETHE1, SQOR	AT
	Αποικοδόμηση βαλίνης	ECHS1, HIBCH	AY
	Αποτοξίνωση	NAXE	AY

Διαταραχές της αυτοφαγίας και της απόπτωσης	Μιτοχονδριακή σταθερότητα, σχάση, μιτοφαγία	VPS13D	AY
	Άλλα	AIFM1	Φυλοσύνδετη
Άγνωστος μηχανισμός		HPDL, FBXL4	AY
Μη μιτοχονδριακές πρωτεΐνες		ADAR, MORC2, RANBP2, SLC39A8	AY

1.4.1 Μεταλλάξεις στο mtDNA

MT-ND1, MT-ND3, MT-ND4, MT-ND5, MT-ND6: Πρόκειται για γονίδια του mtDNA που κωδικοποιούν υπομονάδες του συμπλέγματος I. Για εκδήλωση LSS συνήθως απαιτείται οι μεταλλάξεις να εντοπίζονται σε >90% των συνολικών mtDNA μορίων, με εξαίρεση την περίπτωση του MT-ND5 που εκδηλώσεις του συνδρόμου παρατηρούνται ακόμα και όταν τα μεταλλαγμένα μόρια είναι <50% του συνολικού αριθμού (Lake et al., 2016). Οι πιο κοινοί γονότυποι περιλαμβάνουν τις μεταλλάξεις m.10191T>C και m.10197G>A για το MT-ND3, m. 13513G>A για το MT-ND5 και m.14487T>C στο MT-ND6 (Chang et al., 2020), ενώ και ο γονότυπος m.3697G>A για το MT-ND1 που έχει συσχετισθεί με MELAS απαντάται και σε ασθενείς με LSS (Schubert & Vilarinho, 2020).

MT-ATP6: Είναι επίσης μιτοχονδριακό γονίδιο που κωδικοποιεί μία υπομονάδα του συμπλέγματος V. Η πλειονότητα των περιστατικών φέρουν τη μετάλλαξη m.8993T>G ή τη λιγότερο σοβαρή m.8993T>C (Chang et al., 2020; Lake et al., 2016). Ανάλογα με το ποσοστό ετεροπλασμίας οι μεταλλάξεις του MT-ATP6 θα δώσουν το φαινότυπο του LSS (ετεροπλασμία >85%) ή του συνδρόμου NARP (neuropathy, ataxia and retinitis pigmentosa) (ετεροπλασμία 60-85%) (Schubert & Vilarinho, 2020).

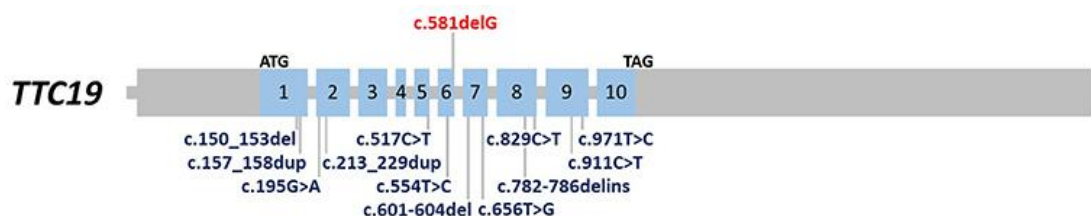
1.4.2 Μεταλλάξεις στο nDNA

NDUFS4: Πρόκειται για πυρηνικό γονίδιο που εδράζεται στο χρωμόσωμα 5q11.1 και κωδικοποιεί μία από τις υπομονάδες του συμπλέγματος I. Μεταλλάξεις σε αυτό το γονίδιο σχεδόν πάντα παράγουν φαινότυπο LSS (αποτελώντας και τη πιο συχνή αιτία του), σε αντίθεση με άλλες μεταλλάξεις γονιδίων του συμπλέγματος I που μπορούν να προκαλέσουν ποικιλία φαινοτύπων. Ασθενείς με μεταλλάξεις στο NDUFS4 τυπικά εμφανίζουν συμπτώματα του συνδρόμου πριν την ηλικία των 30 μηνών και το 1/3 των

παιδιών έχει υπερτροφική μυοκαρδιοπάθεια (Lake et al., 2016). Οι πιο συχνά απαντούμενες μεταλλάξεις του *NDUFS4* στο LSS είναι c.44G>A (p.Trp15*), c.99-1 G>A (p.Ser34Ilefs*4), c.462delA (p.Lys154Asnfs*34) (ιδρυτική για Ashkenazi Εβραίους), c.289delG (p.Tyr97*), c.291delG (p.Trp97*), c.316 C > T (p.Arg106*), c.340 T > C (p.Trp114Arg), c.355 G > (p.Asp119His), c.462delA (p.Lys154Asnfs*34), c.393dupA (p.Glu132Argfs*15), c.462delA (p.Lys154Asnfs*34) (Kahlhöfer et al., 2021).

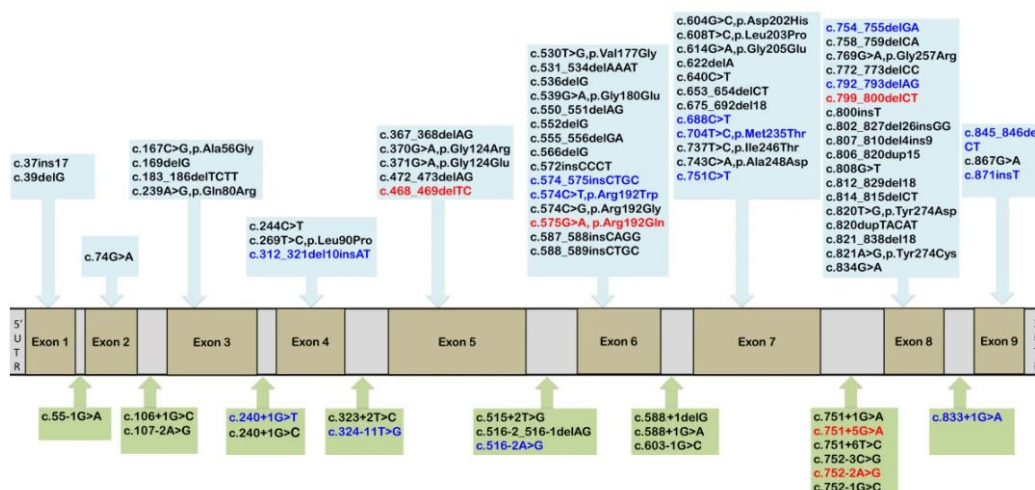
***NDUFS2*:** Όπως και το *NDUFS4*, και αυτό το γονίδιο κωδικοποιεί μία υπομονάδα του συμπλέγματος I και μεταλλάξεις του σχετίζονται με διαταραχές της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης.

***TTC19*:** Το πυρηνικό αυτό γονίδιο κωδικοποιεί ένα πρωτεϊνικό σύμπλοκο το οποίο είναι ενσωματωμένο στην εσωτερική μιτοχονδριακή μεμβράνη και εμπλέκεται στη συναρμολόγηση και την ενεργοποίηση του συμπλέγματος III. Επομένως μεταλλάξεις του *TTC19* που κληρονομούνται με αυτοσωμικό υπολειπόμενο τρόπο, οδηγούν σε διαταραχή της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης ενώ σχεδόν όλοι οι ασθενείς εμφανίζουν νευροαπεικονιστικά ευρήματα συμβατά με LS (Koch et al., 2015; Lake et al., 2016).



Εικόνα 15 Καταγεγραμμένες μεταλλάξεις στο *TTC19* (Habibzadeh et al., 2019)

***SURF1*:** Το *SURF1* έχει αναγνωριστεί ως σημαντική μονάδα στη δημιουργία του συμπλέγματος IV και μεταλλάξεις σε αυτό σχετίζονται με δυσλειτουργία της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης. Μεταλλάξεις στο *SURF1* έχουν καταγραφεί πολύ συχνά σε ασθενείς LSS με χαρακτηριστική υπερτρίχωση και περιλαμβάνουν την ομόζυγη διαγραφή/εισαγωγή c.312_320del10insAT (p.Leu105X), συνδυασμένες ετερόζυγες μεταλλάξεις και μεταλλάξεις που αφορούν το μάτισμα, ενώ σπανιότερα έχουν καταγραφεί ομόζυγες εισαγωγές ή διαγραφές και ομόζυγες παρανοηματικές ή ανοηματικές μεταλλάξεις, χωρίς ειδική συσχέτιση γονοτύπου-φαινοτύπου (Wedatilake et al., 2013).



Εικόνα 16 Μεταλλάξεις στο SURF1 (Wedatilake et al., 2013)

LRPPRC: Μεταλλάξεις σε αυτό το γονίδιο αρχικά αναφέρθηκαν σε ένα μεμονωμένο πληθυσμό Γαλλοκαναδών με LLS με συγκεκριμένα χαρακτηριστικά (ήπιες δυσμορφίες, ηπατοπάθεια και γαλακτική οξέωση), με πιο συχνή τη μετάλλαξη c.1119G>T (p.A354V). Μεταλλάξεις στο LRPPRC σχετίζονται με διαταραχές της μιτοχondριακής μετάφρασης, της ωρίμανσης του mtDNA, της λειτουργίας του συμπλέγματος IV και κατ' επέκταση της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης, αλλά και με διαταραχές του μεταβολισμού των λιπιδίων (Lake et al., 2016; Schubert & Vilarinho, 2020).

MTFMT: Πρόκειται για πυρηνικό γονίδιο που κωδικοποιεί τροποποιητικό ένζυμο του mtDNA για αποτελεσματική μιτοχondριακή μετάφραση. Οι περισσότερες περιπτώσεις ασθενών φέρουν τουλάχιστον 1 αντίγραφο της μετάλλαξης c.626C>T (συχνότητα φορέων 1:100 Ευρωπαίοι) (Lake et al., 2016).

SERAC1: Το SERAC1 είναι ένα γονίδιο που εμπλέκεται στη διακίνηση της χοληστερόλης και στην αναδιαμόρφωση της φωσφατιδυλογλυκερόλης σε καρδιολιπίνη. Μεταλλάξεις του γονιδίου σχετίζονται με το σύνδρομο MEGDEL (3-μεθυλογλουτακονική οξέωση, κώφωση, εγκεφαλοπάθεια και LLS) λόγω μεμονωμένης ή συνδυασμένης ανεπάρκειας ενζύμων της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης (Schubert & Vilarinho, 2020).

PDHA1: Το γονίδιο PDHA1 κωδικοποιεί την υπομονάδα E1α του PDHc και εδράζεται στο χρωμόσωμα X. Μεταλλάξεις του γονιδίου αυτού είναι η κύρια αιτία εμφάνισης LSS σχετιζόμενου με ανεπάρκεια του PDHc (Lake et al., 2016).

SLC19A3: Πρόκειται για γονίδιο που κωδικοποιεί ένα μεταφορέα της θειαμίνης και μεταλλάξεις σε αυτό εμπλέκονται σε LSS μη διαθεσιμότητας πυροφωσφορικής θειαμίνη που οδηγούν σε διαταραχή της λειτουργίας του PDHc. Ουσιαστικά μεταλλάξεις του γονιδίου προκαλούν νόσο που μοιάζει με LS (biotin/thiamine responsive basal ganglia disease - BBGD) με προοδευτική εγκεφαλοπάθεια και παρόμοια νευροαπεικονιστική εικόνα, αλλά που απαντά σε χορήγηση βιοτίνης ή θειαμίνης (Lake et al., 2016).

1.4.3 Διάγνωση

Η διαγνωστική προσέγγιση του LSS περιλαμβάνει αρχικά τη λήψη ιστορικού και την κλινική εξέταση των ασθενών, εκτίμηση εργαστηριακών παραμέτρων (επίπεδα γαλακτικού οξέος σε αίμα και ENY, αμινόγραμμα αίματος, οργανικά οξέα ούρων, ηπατική-νεφρική λειτουργία, πιθανοί βιοδείκτες όπως FGF-21 ή GDF-15) και νευροαπεικόνιση. Ανάλογα με τα ευρήματα των παραπάνω συνήθως γίνεται αρχικά ένας βασικός γονιδιακός έλεγχος για τις πιο συχνές αιτίες του συνδρόμου ή για γονίδια που σχετίζονται με συγκεκριμένα φαινοτυπικά χαρακτηριστικά που παρατηρούνται στον εκάστοτε ασθενή. Μπορεί επίσης να γίνει μέτρηση της ενεργότητας των ενζύμων της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης και του PDHc σε ιστούς βιοψίας (δέρμα και μύες). Εάν τίποτα από αυτά δεν είναι διαγνωστικό, ακολουθεί συνήθως πλήρης γενετική ανάλυση. Αρχικά αναλύεται το mtDNA, το οποίο απομονώνεται από προσβεβλημένο ιστό (συνήθως μυ) καθώς αναμένεται πως το ποσοστό ετεροπλασμίας μιας πιθανής μετάλλαξης θα είναι αρκετά υψηλό για να είναι ανιχνεύσιμο. Αν δεν βρεθεί συγκεκριμένη μιτοχονδριακή μετάλλαξη αλλά ο αριθμός των αντιγράφων του mtDNA είναι μειωμένος, η διερεύνηση συνεχίζεται με έλεγχο πυρηνικών γονιδίων που σχετίζονται με μείωση του mtDNA. Αν το mtDNA είναι φυσιολογικό ως προς την αλληλουχία και τον αριθμό των αντιγράφων του γίνεται WES ή WGS με τη βοήθεια του NGS. Σε περιπτώσεις ανεύρεσης παραλλαγής χωρίς γνωστή σημασία, απαραίτητη είναι η εκτίμησή της με *in silico* μελέτη. Τέλος, τα τελευταία χρόνια έδαφος κερδίζει η ανάλυση των «omics», ειδικά σε περιπτώσεις που η αλληλούχηση του DNA δεν είναι διαγνωστική (Baertling et al., 2014; Schubert & Vilarinho, 2020).

1.4.4 Θεραπεία

Για το LSS δεν υπάρχει προς το παρόν διαθέσιμη αιτιολογική θεραπεία. Στους περισσότερους ασθενείς χορηγούνται θειαμίνη, βιοτίνη, ριβοφλαβίνη, συνένζυμο Q10 και το παράγωγό του ιβεδενόνη, L-καρνιτίνη ή συνδυασμοί τους, ως συμπαράγοντες

της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης με ανιτοξειδωτική δράση. Σε ορισμένους ασθενείς φαίνεται αυτά τα συμπληρώματα να έχουν κάποια ευεγερτική δράση, χωρίς όμως πάντα να παρατηρείται θετικό αποτέλεσμα. Μοναδική περίπτωση βέβαιου οφέλους είναι στη BBGD η άμεση χορήγηση υψηλών δόσεων βιοτίνης και θειαμίνης. Πρόσφατα έγκριση για τη θεραπεία του LSS πήρε και ένα ανάλογο του συνενζύμου Q10, το EPI-743, που αυξάνει τα ενδοκυτταρικά επίπεδα γλουταθειόνης. Σημαντική για τους ασθενείς αυτούς είναι και η επαρκής θερμιδική πρόσληψη, ενώ σε ασθενείς με ανεπάρκεια του PHDc έχει δοκιμασθεί η κετογονική δίαιτα με καλά αποτελέσματα (Baertling et al., 2014; Finsterer, 2008; Schubert & Vilarinho, 2020).

1.5 Σύνδρομο Pearson

Το σύνδρομο Pearson (PS) είναι μία σπάνια μιτοχονδριακή νόσος με επίπτωση 1:1.000.000, που περιγράφηκε αρχικά το 1979 από τον Howard Pearson. Ανήκει στα σύνδρομα μεμονωμένης σε μεγάλη κλίμακα διαγραφής mtDNA (SLSMs) που κυρίως επηρεάζει το μυελό των οστών και το πάγκρεας. Τυπικά SLSMs είναι το σύνδρομο Pearson, το σύνδρομο Kearns-Sayre και η χρόνια προοδευτική εξωτερική οφθαλμοπληγία (CPEO), με κοινή γονιδιακή αιτιολογία (Yoshimi et al., 2022).

Η εκδήλωση των συμπτωμάτων ξεκινά από τη βρεφική ηλικία (0-36 μηνών) περιλαμβάνοντας ορθοκυτταρική ή μακροκυτταρική αναιμία με ανάγκη για μετάγγιση, αναπτυξιακή καθυστέρηση, νεφρική σωληναριοπάθεια, μυϊκή υποτονία, δυσχέρεια σίτισης, ενδοκρινικές διαταραχές και σπάνια γαλακτική οξέωση. Εκτός της αναιμίας, σε κάποιους ασθενείς παρατηρείται και ουδετεροπενία, θρομβοπενία ή πανκυτταροπενία. Τυπικά η αναιμία αποκαθίσταται σε 2 έτη στα 2/3 των ασθενών. Οι περισσότεροι ασθενείς καταλήγουν λόγω λοιμώξεων ή οργανικής ανεπάρκειας έως την ηλικία των 6 ετών, ενώ όσοι επιβιώνουν αναπτύσσουν σύνδρομο Kearns-Sayre (KSS) (S Rahman, 2020).

Η αναιμία είναι συνήθως το μοναδικό σημείο στα πρώτα στάδια του συνδρόμου, χωρίς άλλα στοιχεία να υποδηλώνουν μιτοχονδριοπάθεια. Φαίνεται να οφείλεται σε αδυναμία ή επιβράδυνση της ωρίμανσης των δικτυοερυθροκυττάρων εξαιτίας μειωμένων επιπέδων ATP λόγω διαταραχών της αναπνευστικής αλυσίδας (Farruggia et al., 2018). Άλλα πρώιμα σημεία του PS είναι η αδυναμία πρόσληψης βάρους, η υποτονία και οι διαταραχές σίτισης. Η παγκρεατική ανεπάρκεια προκαλείται από ίνωση και διήθηση λιπαρών οξέων που οδηγούν σε στεατόρροια, δυσσαπορρόφηση και χρόνια διάρροια.

Στο 10-27% των ασθενών εκδηλώνεται σκαχαρώδης διαβήτης ή άλλες ενδοκρινοπάθειες, όπως επινεφριδιακή ανεπάρκεια και υποπαραθυρεοειδισμός (Farruggia et al., 2018).

Γενετική: Το PS παθογενετικά προκαλείται από διαγραφή ενός μεγάλου τμήματος το mtDNA. Πιο συχνά στους ασθενείς η διαγραφή περιλαμβάνει 4977 bp και παρατηρείται στην ίδια θέση του mtDNA μεταξύ των γονιδίων MT-ATP8 και MT-ND5, ενώ στους υπόλοιπους η διαγραφή κυμαίνεται από 2,3 έως 9 kb σε διάφορες θέσεις. Η πλειονότητα των περιπτώσεων PS αφορά de novo μεταλλάξεις στο ωοκύτταρο ή νωρίς κατά την εμβρυογένεση, αλλά σπάνια η υπεύθυνη μετάλλαξη κληρονομείται από τη μητέρα (Farruggia et al., 2018). Καθώς ίδια γενετικά αίτια αναγνωρίζονται σε PS, KSS και CPEO, πιστεύεται πως οι διαφορετικοί φαινότυποι προκύπτουν ανάλογα με τα ποσοστά ετεροπλασμίας σε κάθε ιστό. Για παράδειγμα ο φαινότυπος του PS προκύπτει λόγω διαγραφής μεγάλου τμήματος mtDNA στα κύτταρα του μυελού των οστών. Η αυτόματη αποκατάσταση της αναιμίας πιθανώς οφείλεται σε θετική επιλογή αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων με χαμηλά φορτία παθολογικού mtDNA, ενώ κατά την ανάπτυξη άλλων ιστών φαίνεται να αυξάνεται η ποσότητα μορίων mtDNA με διαγραφή, με αποτέλεσμα αλλαγή στο φαινότυπο και εκδήλωση νευρομυϊκών επιπολκών του KSS (Yoshimi et al., 2022).

Διάγνωση: Η διαγνωστική προσέγγιση του PS ξεκινά με την ανεύρεση της αναιμίας ή πανκυτταροπενίας σε συνδυασμό με κλινική ευρήματα. Ακολουθεί εργαστηριακός έλεγχος με μέτρηση αμινοξέων (υψηλά επίπεδα αλανίνης, μειωμένα επίπεδα κιτρουλίνης και αργινίνης) και οξέων (γαλακτικό σε αίμα και ούρα, λόγος γαλακτικό:πυροσταφυλικό, 3-υδροξυβουτυρικό πλάσματος και ούρων, φουμαρικό ούρων) και στη συνέχεια πραγματοποιείται οστεομυελική βιοψία και αλληλούχιση του mtDNA. Στην αναρρόφηση μυελού των οστών αναγνωρίζονται δακτυλιοειδείς σιδηροβλάστες στο 85% των ασθενών καθώς και κενοτοποιώδη εμφάνιση των μυελωειδών και ευθροειδών προγονικών κυττάρων, ενώ κατά την ανάλυση του mtDNA διαπιστώνεται διαγραφή μεγάλης κλίμακας, που θέτει και την οριστική διάγνωση. Η διαγραφή αυτή είναι πιθανό να ανευρεθεί και σε άλλα κύτταρα, όπως μυϊκά ή επιθηλιακά κύτταρα του ουροποιητικού και ανιχνεύεται με NGS ή ποσοτική PCR (Farruggia et al., 2018; S Rahman, 2020; Yoshimi et al., 2022).

Θεραπεία: Η θεραπεία έως τώρα είναι υποστηρικτική και βασίζεται σε μεταγγίσεις, αποκατάσταση παγκρεατικών ενζύμων και λιποδιαλυτών βιταμινών, αντιμετώπιση των ενδοκρινολογικών και των λοιμώξεων. Σε ουδετεροπενία έχει φανεί να βοηθά η χορήγηση παράγοντα διέγερσης των ουδετεροφύλων, ενώ η ερυθροποιητίνη δεν φαίνεται να προσφέρει κάποιο όφελος. Για την αντιμετώπιση της μεταβολικής οξέωσης χορηγείται διααττανθρακικό νάτριο, με ανάγκη ορισμένες φορές για περιτοναϊκή διάλυση. Σε κάποιες περιπτώσεις οι ασθενείς λαμβάνουν και αντιοξειδωτικά συμπληρώματα, όπως στο LSS, χωρίς ωστόσο αποδεδειγμένο όφελος, ενώ και εδώ σημαντική είναι η θερμιδική ισορροπία. Όσον αφορά μεταμόσχευση αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων προτείνεται η αναμονή μέχρι την ηλικία των 3-4 ετών σε ασθενείς που δεν εμφανίζουν σοβαρή ουδετεροπενία ή θρομβοπενία (Farruggia et al., 2018). Πρόσφατες μελέτες υποδεικνύουν την πιθανότητα οριζόντιας μεταφοράς μιτοχονδρίων μεταξύ υγιών και παθολογικών κυττάρων, θέτοντας έτσι τη βάση για τη διερεύνηση της πιθανότητας μεταμόσχευσης μιτοχονδρίων από μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα, χωρίς ωστόσο επαρκή στοιχεία για βελτίωση της έκβασης σε PS (Lightowlers et al., 2020; Qin et al., 2021; Valenti et al., 2021).

Κυτταρική και γονιδιακή θεραπεία: Στην πρώτη κλινική δοκιμή θεραπείας ενίσχυσης των μιτοχονδρίων (MAT) (NCT03384420), κινητοποιημένα με G-CSF αιμοποιητικά βλαστοκύτταρα ασθενών με PS υποβάλλονται σε ex-vivo μιτοχονδριακή αύξηση με μητρικά μιτοχόνδρια που φέρουν φυσιολογικό mtDNA και επανεισάγονται στον ασθενή, δίνοντας τη δυνατότητα αυτόλογης μεταμόσχευσης (Yoshimi et al., 2022).

1.6 Σύνδρομο Kearns-Sayre

Το σύνδρομο Kearns-Sayre (KSS) είναι μια σπάνια μιτοχονδριοπάθεια που ανήκει στα SLSDs με επιπολασμό 1:40.000. Ορίζεται κλινικά ως η τριάδα PEO, μελαγχρωστική αμφιβληστοειδοπάθεια και κολποκοιλιακός αποκλεισμός που εμφανίζεται πριν την ηλικία των 20 ετών. Άλλα ευρήματα του συνδρόμου είναι η παρεγκεφαλιδική αταξία, νευροαισθητηριακή βαρηκοΐα, νεφροσωληναριοπάθεια, δυσκινησία του γαστρεντερικού συστήματος, ενδοκρινικές διαταραχές, καρδιομυοπάθεια, επασβέσωση βασικών γαγγλίων και λευκοεγκεφαλοπάθεια σχετιζόμενη με ανεπάρκεια φυλλικού οξέος στον εγκέφαλο (S Rahman, 2020). Κάποιοι ασθενείς έχουν ιστορικό με PS, αλλά πολλοί παρουσιάζουν KSS χωρίς ιστορικό καταγεγραμμένης αναιμίας (Broomfield et al., 2015).

Γενετική: Το KSS προκαλείται από διαγραφή τμήματος του mtDNA μεγέθους 1,1-10 kb και στους περισσότερους ασθενείς ανιχνεύεται η ίδια διαγραφή 4977 bp (m.8483_13459del) που περιλαμβάνει 12 γονίδια. Στο 90% των περιπτώσεων πρόκειται για αυτόματες μεταλλάξεις κατά την εμβρυογένεση, ενώ σπάνια σημειακές μεταλλάξεις, διαγραφές μεμονωμένων νουκλεοτιδίων, διπλασιασμοί/διαγραφές στο mtDNA και ελαττώματα πυρηνικών γονιδίων οδηγούν σε πολλαπλές διαγραφές του mtDNA με εκδήλωση KSS. Επίσης, σε ένα 4% των περιπτώσεων μητέρες με CPEO ή KSS μπορούν να μεταφέρουν τη μετάλλαξη στα παιδιά τους (Grigalionienė et al., 2023).

Διάγνωση: Για τη διάγνωση του συνδρόμου διενεργούνται βάσει κλινικής εικόνας ΗΕΓ, ΗΜΓ, ΗΚΓ, οφθαλμολογική και ακουσολογική εκτίμηση, νευροαπεικόνιση με MRI, μεταβολικός έλεγχος αίματος και ούρων, μέτρηση επιπέδων πρωτεϊνών στο ΕΝΥ και τέλος έλεγχος του mtDNA σε δείγματα βιοψίας μυών. Ο έλεγχος του mtDNA μπορεί να γίνεται είτε με PCR για όλο το mtDNA ή στοχευμένα για γνωστές περιοχές διαγραφής είτε με αλληλούχιση (Sanger ή NGS) είτε με MLPA (Grigalionienė et al., 2023).

Θεραπεία: Όπως και σε άλλα μιτοχονδριακά νοσήματα η θεραπεία είναι υποστηρικτική και περιλαμβάνει φυσικοθεραπεία, εμφύτευση βηματοδότη σε κολποκοιλιακό αποκλεισμό, ορμονική υποκατάσταση, χορήγηση φυλλικού οξέος ή άλλων παραγόντων (συνένζυμο Q10 ή το ανάλογο EPI-743, καρνιτίνη, βιταμίνες του συμπλέγματος Β). Πιθανός θεραπευτικός στόχος είναι η αλλαγή της ετεροπλασμίας με τη χρήση ενδονουκλεασών ZFN (zinc-finger nuclease). Πειραματικά μία τέτοια νουκλεάση συνδέεται ειδικά με το μεταλλαγμένο mtDNA και η περιοχή FOK1 διασπά το DNA που στη συνέχεια αποικοδομείται (Schubert & Vilarinho, 2020).

1.7 Σύνδρομο Barth

Το σύνδρομο Barth (BTHS) είναι μια φυλοσύνδετη μιτοχονδριοπάθεια που χαρακτηρίζεται από 3-μεθυλγλουτακονική οξουρία, διατακτική μυοκαρδιοπάθεια, μυοπάθεια, διαταραχές στην ανάπτυξη με κοντό ανάστημα και κυκλική ουδετεροπενία. Άλλες εκδηλώσεις από την καρδιά περιλαμβάνουν την υπερτροφική μυοκαρδιοπάθεια και την ενδοκαρδιακή ινοελάστωση (Clarke et al., 2013; S Rahman, 2020). Η καρδιακή ανεπάρκεια είναι η πιο συχνή αιτία νοσηρότητας και θνητότητας, ενώ η ουδετεροπενία μπορεί να οδηγήσει σε σοβαρές λοιμώξεις. Το σύνδρομο αφορά κυρίως άρρενες με

πρώιμες κλινικές εκδηλώσεις στη βρεφική ηλικία, ενώ τα θήλαα φορείς με φυσιολογικό καρύοτυπο είναι ασυμπτωματικά (C. Ferreira et al., 2020). Με κατάλληλη αντιμετώπιση και παρακολούθηση, οι ασθενείς πλέον έχουν υψηλά ποσοστά επιβίωσης μέχρι και την 4^η δεκαετία της ζωής του (Pang et al., 2022)

Γενετική: Μεταλλάξεις στο γονίδιο TAFAZZIN (παλαιότερα TAZ) οδηγούν σε διαταραχή της παραγωγής καρδιολιπίνης στην εσωτερική μιτοχονδριακή μεμβράνη (S Rahman, 2020). Το TAFAZZIN εδράζεται στο χρωμόσωμα Xq28 και κωδικοποιεί μία τρανσακυλάση της εσωτερικής μιτοχονδριακής μεμβράνης που καταλύει την αναδιαμόρφωση των ακυλικών αλυσίδων της ανώριμης καρδιολιπίνης. Διαταραχές στην αναδιαμόρφωση της καρδιολιπίνης επηρεάζουν τη δομή και λειτουργία των μιτοχονδρίων. Έχουν καταγραφεί >200 παθογόνες μεταλλάξεις του γονιδίου που αφορούν και τα 11 εξώνιά του και που οδηγούν σε μειωμένα επίπεδα ή απώλεια λειτουργικότητας της πρωτεΐνης. Οι πιο συχνές μεταλλάξεις του TAZ είναι η c.348C>T (p.Gly116=), η c.227delC και η c.C153G (C. Ferreira et al., 2020; Pang et al., 2022).

Διάγνωση: Η διάγνωση του BTHS στηρίζεται στο γονιδιακό έλεγχο και σε εργαστηριακές εξετάσεις. Σε αυτές μπορεί να ανευρεθεί γαλακτική οξέωση, υποχοληστερολαιμία, ουδετεροπενία, αυξημένα επίπεδα 3-μεθυλγλουταρικού και 3-μεθυλγλουτακονικού οξέος στα ούρα και αυξημένος λόγος μονολυσοκαρδιολιπίνη:καρδιολοπίνη σε ινοβλάστες ασθενών. Η διάγνωση τεκμηριώνεται με την ανεύρεση υπεύθυνων για το BTHS μεταλλάξεων του γονιδίου TAZ, είτε με στοχευμένη αλληλούχιση, είτε με WES/WGS όταν δεν έχει τεθεί υποψία του συνδρόμου από την κλινική και βιοχημική εικόνα (C. Ferreira et al., 2020).

Θεραπεία: Η βασική αντιμετώπιση των ασθενών με BTHS έγκειται στον έλεγχο της καρδιακής ανεπάρκειας, φαρμακευτικά ή και με εμφυτεύσιμο απινιδωτή, στη διέγερση των ουδετεροφύλων με G-CSF, στην πρόληψη και αντιμετώπιση των λοιμώξεων, την επαρκή θερμιδική πρόσληψη και τη φυσικοθεραπεία. Υποσχόμενοι θεραπευτικοί στόχοι αποτελούν η υποκατάσταση των λιπιδίων για αύξηση των επιπέδων καρδιολιπίνης ενδοκυττάρια, η ενεργοποίηση των πυρηνικών υποδοχέων PPARs για βελτίωση της καρδιακής λειτουργίας με μείωση της μυοκαρδιακής ισχαιμίας (bezafibrate – PPARα αγωνιστής) και η χρήση μιτοχονδριακών αντιοξειδωτικών παραγόντων. Επίσης, υποσχόμενες επιλογές είναι η γονιδιακή θεραπεία αντικατάστασης του TAFAZZIN με σκοπό την αύξηση της έκφρασης τη πρωτεΐνης και

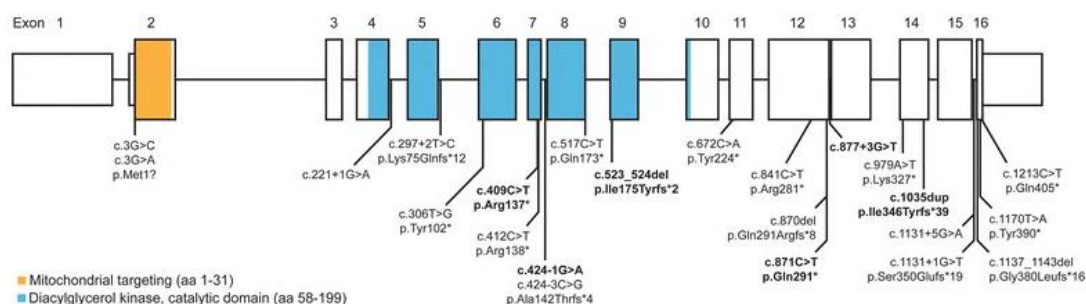
συνεπώς βελτίωση της λειτουργίας των μιτοχονδρίων και η χορήγηση του bendavia, ενός μορίου με υψηλή συγγένεια για την εσωτερική μιτοχονδριακή μεμβράνη που σε ζωικά μοντέλα φαίνεται να βοηθά στη διατήρηση της μορφολογίας των ακρολοφιών, στην αύξηση της παραγωγής ATP και στην αναστολή της υπεροξειδωσής της καρδιολιπίνης (Pang et al., 2022).

1.8 Σύνδρομο Sengers

Το σύνδρομο Sengers (SS) είναι μία σπάνια αυτοσωμικά υπολειπόμενη διαταραχή που αρχικά περιγράφηκε το 1975 με άγνωστη επίπτωση που υπολογίζεται ότι είναι <1:1.000.000 (Fnon et al., 2021). Το σύνδρομο μπορεί να εκδηλωθεί στη νεογνική-βρεφική ηλικία ως θανατηφόρος καρδιοπάθεια με μέση ηλικία θανάτου τους 4 μήνες ή αργότερα με ηπιότερα συμπτώματα και πιο καλοήγη πρόγνωση. Το σύνδρομο χαρακτηρίζεται από συγγενή καταρράκτη, υπετροφική μυοκαρδιοπάθεια που μπορεί να οδηγήσει σε καρδιακή ανεπάρκεια, μυοπάθεια, μη αντοχή σε άσκηση και γαλακτική οξέωση (Haghighi et al., 2014; S Rahman, 2020). Άλλες σπανιότερες εκδηλώσεις περιλαμβάνουν ηωσινοφιλία, εσωτροπία, νυσταγμό και αυχενική μηνιγγοκήλη (Wang et al., 2021).

Γενετική: Το σύνδρομο SS οφείλεται σε μεταλλάξεις του γονιδίου AGK που εδράζεται στο χωρμόσωμα 7q34. Το γονίδιο αυτό φυσιολογικά κωδικοποιεί την κινάσης της ακυλογλυκερόλης που καταλύει τη φωσφορυλίωση της μονοακυλογλυκερόλης και της διακυλογλυκερόλης προς σχηματισμό φωσφατιδικού και λυσοφωσφατιδικού οξέος αντίστοιχα. Αυτά συμμετέχουν στη σύνθεση των φωσφολιπιδίων και κυρίως της καρδιολιπίνης ή δρουν ως σηματοδοτικά μόρια σε διάφορα ενδοκυττάρια μονοπάτια. Η Agk πρόσφατα αποδείχθηκε πως είναι μέρος του συμπλέγματος TIM22, μίας τρανσλοκάσης της εσωτερικής μιτοχονδριακής μεμβράνης. Φάνηκε πως η Agk διαθέτει και λειτουργικότητα εκτός της κινάσης που εμπλέκεται στην σταθεροποίηση του συμπλέγματος TIM22 και στη ρύθμιση της διέλευσης πρωτεϊνών από και προς το μιτοχόνδριο (Kang et al., 2017). Επομένως, μεταλλάξεις του AGK οδηγούν σε διαταραχές της σύνθεσης της καρδιολιπίνης, με αποτέλεσμα παθολογική μιτοχονδριακή μορφολογία, αλλά και σε διαταραχή εισαγωγής πρωτεϊνών στα μιτοχόνδρια που επηρεάζει τη μιτοχονδριακή αναπνοή και μεταβολισμό (Haghighi et al., 2014; Kang et al., 2017; Vukotic et al., 2017) . Οι καταγεγραμμένες μεταλλάξεις του γονιδίου περιλαμβάνουν συνδυασμένες ετερόζυγες ανοηματικές, με αλλαγή πλαισίου ανάγνωσης και αλλαγή θέσης ματίσματος καθώς και ομόζυγες υπολειπόμενες

που επίσης επηρεάζουν το μάτισμα. Όλες οι μεταλλάξεις οδηγούν σε απώλεια λειτουργικότητας και κατανέμονται σε όλο το μήκος του γονιδίου. Ίδιες μεταλλάξεις του AGK μπορούν να οδηγήσουν σε διαφορετικό φαινότυπο με ηπιότερα ή σοβαρότερα συμπτώματα. Στη βρεφική μορφή του συνδρόμου οι μεταλλάξεις που ανευρίσκονται είναι ομόζυγες ανοηματικές και το σύνδρομο χαρακτηρίζεται από καρδιομυοπάθεια πρώιμης έναρξης και γαλακτική οξέωση που οδηγούν στο θάνατο σε βρεφική ηλικία. Στην πιο καλοήγη μορφή παρατηρούνται μεταλλάξεις στο κωδικόνιο έναρξης ή αλλαγή στη θέση ματίσματος και αυτοί οι ασθενείς συνήθως εμφανίζουν καρδιομυοπάθεια αργότερα στη ζωής του, με την επιβίωση να φτάνει έως και 50 ετών. Αν και ο ρόλος του AGK στην καταρρακτογένεση δεν έχει αποσαφηνιστεί, φαίνεται πως το γονίδιο αυτό εμπλέκεται στη σύνθεση των λιπών του φακού (Haghighi et al., 2014). Οι καταγεγραμμένες μεταλλάξεις του AGK απεικονίζονται στην εικόνα και επιπλέον έχουν βρεθεί οι c.1131+2T>C σε ομοζυγωτία, c.390G>A (p.Glu130Glu), c.306C>T (p.Tyr102*), c.412C>T (p.Arg138), c.297G>T (p.K99N) και c.1215dupG (p.Phe406Valfs4) (Wang et al., 2021).



Εικόνα 27 Μεταλλάξεις του AGK στο σύνδρομο Sengers (Haghighi et al., 2014)

Διάγνωση: Η κλινική εικόνα του συνδρόμου μοιάζει με αυτή άλλων παθήσεων με μυοκαρδιοπάθειες οπότε και εν τέλει η διάγνωση στηρίζεται στο γονιδιακό έλεγχο, με ανίχνευση παθολογικών μεταλλάξεων στο AGK (Wang et al., 2021).

Θεραπεία: Δεν υπάρχει θεραπεία και η αντιμετώπιση είναι υποστηρικτική. Πολλοί ασθενείς θα αντιμετωπιστούν χειρουργικά για τον καταρράκτη, όπου όμως απαιτείται ιδιαίτερη προσοχή στη χορήγηση αναισθησίας λόγω της υποκείμενης μυοκαρδιοπάθειας (Fnon et al., 2021). Σε περιπτώσεις καρδιακής ανεπάρκειας, οι ασθενείς λαμβάνουν την αντίστοιχη αγωγή και σε ορισμένους χορηγούνται συμπληρώματα βιταμινών και συνενζύμου Q10, χωρίς όμως πάντα σαφή

αποτελεσματικότητα. Τέλος, όσον αφορά τη γαλακτική οξέωση η έως τώρα προσέγγιση αφορά την αποφυγή άσκησης (Wang et al., 2021)

1.9 MELAS - mitochondrial encephalomyopathy with lactic acidosis and stroke-like episodes

Το σύνδρομο MELAS περιγράφηκε πρώτη φορά το 1984 και είναι μία από τις πιο κοινές μιτοχονδριοπάθειες, με μητρική κληρονομηση και με επιπολασμό 1-16/100.000. Συνήθως τα συμπτώματα εμφανίζονται στην παιδική ηλικία με ένα εύρος 2-40 ετών. Τα κύρια κλινικά χαρακτηριστικά περιλαμβάνουν επεισόδια, που μοιάζουν με αγγειακό εγκεφαλικό (stroke-like) και που μπορεί να ξεκινούν ως ημικρανία, ομώνυμη ημIANOψία ή τετρακυκλική ανοψία, σπασμούς, οι οποίοι είναι συνήθως εστιακοί αλλά μπορεί στη συνέχεια να γενικευθούν, γαλακτική οξέωση, μυϊκή αδυναμία με δυσανοχή στην άσκηση, φυσιολογική ψυχοκινητική εξέλιξη στα αρχικά στάδια, περιφερική νευροπάθεια, κοντό ανάστημα, νευροαισθητήρια βαρηκοΐα, βλεφαρόπτωση, ατροφία οπτικού νεύρου, δυσκινησία γαστρεντερικού συστήματος και επαναλαμβανόμενους εμέτους. Η πρόγνωση διαφέρει μεταξύ των ασθενών αλλά γενικά παρατηρείται μία συνεχής επιδείνωση που συσχετίζεται με τα stroke-like επεισόδια (El-Hattab et al., 2018; Kaufmann et al., 2011).

Γενετική: Το 80% των περιπτώσεων φέρει την ίδια παθογόνο μετάλλαξη m.3243A>G στο μιτοχονδριακό γονίδιο MT-TL1 που κωδικοποιεί το mt-tRNA^{Leu}. Η μετάλλαξη αυτή ανευρίσκεται και σε άλλες μιτοχονδριοπάθειες με άλλοτε άλλη βαρύτητα και ποικίλους φαινότυπους. Στο υπόλοιπο 20% των περιπτώσεων MELAS υπάρχει γονοτυπική ετερογένεια και κυρίως εντοπίζονται άλλες μεταλλάξεις στο MT-TL1 ή άλλα μιτοχονδριακά γονίδια που κωδικοποιούν tRNAs (Gorman et al., 2016; Manwaring et al., 2007; Nesbitt et al., 2013).

Διάγνωση: Για τη διαφορική διάγνωση των stroke-like επεισοδίων απαιτείται απεικονιστικός έλεγχος, ενώ για τα υπόλοιπα συμπτώματα διενεργούνται ΗΜΓ, έλεγχος επιπέδων γαλακτικού σε αίμα και ENY και βιοψία μυός. Χαρακτηριστική είναι η μεγάλη αύξηση της συγκέντρωσης των πρωτεϊνών στο ENY. Η διάγνωση του συνδρόμου στηρίζεται σε κριτήρια. Εάν ένα ασθενής εμφανίζει τουλάχιστον δύο από τα εξής: κεφαλαλγία με εμέτους, σπασμούς, ημιπληγία, τύφλωση, οξείες εστιακές βλάβες σε απεικόνιση εγκεφάλου και τουλάχιστον δύο από τα εξής: αυξημένα επίπεδα γαλακτικού σε αίμα ή ENY, μιτοχονδριακές ανωμαλίες σε βιοψία μυός, τυποποίηση

παθολογικής μετάλλαξης που σχετίζεται με το MELAS, τότε το νόσημα χαρακτηρίζεται σύνδρομο MELAS (Yatsuga et al., 2012). Ο γονιδιακός έλεγχος γίνεται είτε στοχευμένα είτε με WES ή WGS, ανάλογα με το φαινότυπο και προηγούμενα ευρήματα (El-Hattab et al., 2018).

Θεραπεία: Η θεραπεία του συνδρόμου είναι κυρίως υποστηρικτική με ταυτόχρονη αντιμετώπιση των επιμέρους εκδηλώσεων. Σε ορισμένους ασθενείς έχει φανεί βελτίωση των συμπτωμάτων με συμπληρώματα συνενζύμου Q10, L-καρνιτίνης και κρεατίνης. Κατά τη διάρκεια οξέων stroke-like επεισοδίων προτείνεται η ενδοφλέβια χορήγηση υψηλών δόσεων αργινίνης, ενώ μετά το πρώτο επεισόδιο συστήνεται και προφυλακτική χορήγηση αργινίνης ή κιτρουλίνης από το στόμα (El-Hattab et al., 2018; Parikh et al., 2015).

1.10 MERRF - myoclonus epilepsy with ragged-red fibres

Το σύνδρομο MERRF χαρακτηρίζεται από μυοκλονίες, σπασμούς και αταξία με ύπουλη έναρξη στην παιδική ηλικία. Οι μυοκλονίες είναι το πιο συχνό σύμπτωμα και φαίνεται να σχετίζονται σε μεγαλύτερο βαθμό με την αταξία σε σχέση με επιληπτικούς σπασμούς. Παράλληλα οι ασθενείς μπορεί να εμφανίσουν νευροαισθητήρια βαρηκοΐα, ενδοκρινολογικές διαταραχές, λιπομάτωση, PEO, μυοπάθεια, περιφερική νευροπάθεια και καρδιομυοπάθεια με ή χωρίς αρρυθμίες, με φαινότυπο που μπορεί να αλληλοεπικαλύπτεται με σύνδρομο MELAS (Mancuso et al., 2013; Miyahara et al., 2019). Το σύνδρομο είναι αρκετά σπάνιο με υπολογιζόμενο επιπολασμό <1:100.000.

Γενετική: Στο 80% των ασθενών με σύνδρομο MERRF ανευρίσκεται η μετάλλαξη m.8344A>G στο MT-TK γονίδιο του mtDNA, που κωδικοποιεί το μιτοχονδριακό tRNA^{Lys}. Η ίδια μετάλλαξη ωστόσο ανιχνεύεται και σε άλλα μιτοχονδριακά σύνδρομα, με φαινότυπο από ήπιο έως πολύ σοβαρό, ενώ υπάρχουν και φορείς της μετάλλαξης χωρίς κανένα σύμπτωμα (Orsucci et al., 2021). Άλλες μεταλλάξεις που έχουν αναγνωριστεί στο MERRF περιλαμβάνουν τις m.8356T>C, m.8363G>A, m.8315A>C και m.8361G>A στο MT-TK, m.3243A>G, m.3255G>A και m.3291T>C στο MT-TL1, m.611G>A στο MT-TF, m.4284G>A στο MT-TI, m.5521G>A στο MT-TW, m.7512T>C στο MT-TS1, m.12147G>A στο MT-TH, m.12300G>A στο MT-TL2, m.13042A>T στο ND5 και m.15967G>A στο MT-TP (Lorenzoni et al., 2014; Štufková et al., 2022; Velez-Bartolomei et al., 2021). Όλες σχεδόν αυτές οι μεταλλάξεις αφορούν γονίδια που κωδικοποιούν mt-tRNAs, οπότε και προκαλούνται διαταραχές στη

μιτοχονδριακή μετάφραση με αποτέλεσμα συνδυασμένη δυσλειτουργία των υπομονάδων της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης (Štufková et al., 2022).

Διάγνωση: Στο σύνδρομο MERRF παρατηρούνται αυξημένα επίπεδα γαλακτικού οξέος σε αίμα και ENY, αυξημένη συγκέντρωση πρωτεϊνών στο ENY (που δεν φτάνει όμως τις τιμές που παρατηρούνται στο MELAS), πιθανώς παθολογικές δοκιμασίες λειτουργικότητας των ενζύμων της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης, παθολογικά μη ειδικά νευροαπεικονιστικά ευρήματα και ανάλογα με τη συμπτωματολογία παθολογικά HEM, HEG και HKG. Σε βιοψία μυός ασθενούς αναγνωρίζονται κόκκινες ρακώδεις ίνες κάτω από την κυτταροπλασματική μεμβράνη που αντιπροσωπεύουν άθροιση μιτοχονδρίων. Η οριστική διάγνωση τίθεται με συνδυασμό κλινικών κριτηρίων (μυοκλονίες, επιληψία, αταξία), της χαρακτηριστικής εικόνας σε βιοψία μυός και γενετικού ελέγχου.

Θεραπεία: Η θεραπεία προς το παρόν σε αυτό το σύνδρομο είναι υποστηρικτική και συμπτωματική. Όπως και σε άλλες μιτοχονδριοπάθειες, φαίνεται να διαμορφώνονται νέες προοπτικές στην αντιμετώπιση του συνδρόμου, εμπερικλείοντας την θεραπεία αντικατάστασης μιτοχονδρίων και γονιδιακή θεραπεία.

1.11 Κληρονομική οπτική νευροπάθεια - Leber hereditary optic neuropathy (LHON)

Η κληρονομική οπτική νευροπάθεια του Leber (LHON) εμφανίζει μητρικό πρότυπο κληρονόμησης και επηρεάζει κυρίως άρρενες με μέση ηλικία εμφάνισης τα 20 – 30 έτη και σπάνια πριν την ηλικία των 15 ετών. Χαρακτηρίζεται από αμφοτερόπλευρη ανώδυνη υποξεία κεντρική απώλεια όρασης που συνήθως οφείλεται σε μεταλλάξεις του mtDNA. Η πιο συχνή μετάλλαξη είναι η m.11778G>A στο γονίδιο MT-ND4, που κωδικοποιεί την υπομονάδα 4 της NADH αφυδρογονάσης στο σύμπλεγμα I της OXPHOS. Άλλες συχνές μεταλλάξεις είναι η m.3460G>A στο MT-ND1 και η m.14484T>C στο MT-ND6 που κωδικοποιούν τις αντίστοιχες υπομονάδες της NADH αφυδρογονάσης. Περιβαλλοντικοί παράγοντες, όπως το κάπνισμα και η χρήση αλκοόλ, φαίνεται να επιτείνουν την εμφάνιση της LHON σε φορείς των μεταλλάξεων, ενώ ίσως υπάρχει κάποια προστατευτική δράση των οιστρογόνων στις γυναίκες φορείς. Εκτός από την οπτική νευροπάθεια, οι ασθενείς μπορεί να εμφανίζουν δυστονία, διαταραχές αγωγιμότητα ή να έχουν φαινότυπο αλληλοεπικαλυπτόμενο με LSS ή MELAS (Giordano et al., 2011; Orsucci et al., 2021; S Rahman, 2020).

1.12 mtARS-σχετιζόμενες μιτοχονδριοπάθειες

Οι αμινοακυλο-tRNA συνθετάσες είναι σημαντικά ένζυμα που επάγουν την αμινοακυλίωση του tRNA με το συγγενές του αμινοξύ. Οι συνθετάσες αυτές στον άνθρωπο κωδικοποιούνται κυρίως από γονίδια του nDNA και διακρίνονται στις ARS που αφορούν την κυτταροπλασματική αμινοακυλίωση και τις mtARS ή ARS2 που αφορούν τη μιτοχονδριακή, με εξαίρεση τις GARS και KARS που κωδικοποιούν τις GlyRS και LysRS τρανσφεράσες και στα δύο διαμερίσματα. Μεταλλάξεις σε 9 γονίδια των mtARS που κληρονομούνται με αυτοσωμικό υπολειπόμενο τρόπο συσχετίζονται με μιτοχονδριοπάθειες λόγω διαταραχών στη διαδικασία της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης. Η εγκεφαλοπάθεια είναι η πιο συνηθισμένη εκδήλωση αυτών των μεταλλάξεων, ενώ παρατηρούνται επίσης μυοκαρδιοπάθεια, σωληναριοπάθεια, μυοπάθεια και νευροαισθητήρια βαρηκοΐα. Μεταλλάξεις στα GARS και KARS ανευρίσκονται σε ασθενείς με περιφερική νευροπάθεια, αλλά καθώς αυτά τα δύο γονίδια κωδικοποιούν τόσο mtARS όσο και κυτταροπλασματικά ARS είναι δύσκολο να αξιολογηθεί η μιτοχονδριακή συμμετοχή σε αυτό το φαινότυπο. (Kononova & Tyynismaa, 2013).

1.12.1 AARS2

Το γονίδιο AARS2 κωδικοποιεί τη mtAlaRS η οποία έχει το ξεχωριστό χαρακτηριστικό πως διαθέτει μία περιοχή επεξεργασίας πέρα από την καταλυτική περιοχή που διαθέτουν όλες οι συνθετάσες. Η περιοχή επεξεργασίας επιτρέπει στη συνθετάση να διακρίνει την αλανίνη από τη ουδέτερα φορτισμένα αμινοξέα σερίνη και γλυκίνη που έχουν παρόμοια δομή και η λάθος τοποθέτησή τους θα μπορούσε να επηρεάσει τη μιτοχονδριακή μετάφραση (Guo et al., 2009). Μεταλλάξεις του AARS2 έχουν συσχετισθεί με θανατηφόρα υπερτροφική μυοκαρδιοπάθεια πρώιμης έναρξης και γαλακτική οξέωση, με το μέσο όρο ηλικίας θανάτου τους 10 μήνες. Σχεδόν όλοι οι ασθενείς έχουν τη μετάλλαξη p.R592W σε ομόζυγη ή συνδυασμένη ετερόζυγη κατάσταση, η οποία εντοπίζεται στην περιοχή επεξεργασίας, προτείνοντας έτσι ως παθογενετικό μηχανισμό της νόσου τη λανθασμένη μιτοχονδριακή μετάφραση (Götz et al., 2011).

1.12.2 DARS2

Το γονίδιο DARS2 κωδικοποιεί τη mtAspRS και μεταλλάξεις του σχετίζονται με λευκοεγκεφαλοπάθεια του εγκεφαλικού στελέχους και του νωτιαίου μυελού με συνοδό γαλακτική οξέωση της επηρεασμένης λευκής ουσίας (LBSL) που εκδηλώνονται από

την παιδική έως την ενήλικη ζωή. Οι περισσότεροι ασθενείς είναι συνδυασμένοι ετεροζυγώτες με μετάλλαξη σε θέση ματίσματος στο εσώνιο 2 που μπορεί να επιτρέπει κάποια δραστηριότητα του ενζύμου και μία παρερμηνεύσιμη μετάλλαξη που οδηγεί σε απώλεια λειτουργικότητας (Scheper et al., 2007). Παρ' όλα αυτά αναφέρονται περιπτώσεις ομόζυγων μεταλλάξεων για τη θέση ματίσματος με βαρύτερο φαινότυπο και ομόζυγες μεταλλάξεις για παρερμηνεύσιμες μεταλλάξεις με ηπιότερη νόσο (Miyake et al., 2011; Yamashita et al., 2013).

1.12.3 EARS2

Το γονίδιο EARS2 κωδικοποιεί τη mtGluRS και μεταλλάξεις του έχουν περιγραφεί σε περιπτώσεις λευκοεγκεφαλοπάθειας με συμμετοχή του θαλάμου και του εγκεφαλικού στελέχους με υψηλά επίπεδα γαλακτικού (LTBL) ενώ έχουν καταγραφεί και φαινότυποι με αγενεσία μεσολοβίου και πολυσυστηματική συμμετοχή. Τα συμπτώματα εμφανίζονται στη βρεφική ηλικία, με ραγδαία επιδείνωση και καμία βελτίωση στην πορεία της ζωής κάποιων ασθενών, αλλά με μερική ανάρρωση και ανάκτηση χαμένων οροσήμεν σε άλλους, όπου πιθανώς η αρχική βλάβη δεν ήταν σοβαρή επιτρέποντας την κυτταρική επιβίωση κατά την ωρίμανση του εγκεφάλου. Όλοι οι ασθενείς είναι συνδυασμένοι ετεροζυγώτες για μία σοβαρή και μία ηπιότερη μετάλλαξη (Şahin et al., 2016; Steenweg et al., 2012; Talim et al., 2013).

Οι καταγεγραμμένες μεταλλάξεις με παθολογικό φαινότυπο είναι οι: c.502A>G + c.1279_1280insTCC + c.322C>T, c.322C>T + c.1194C>G, c.322C>T + c.328G>A, c.328G>A + c.610G>A, c.286G>A + c.500G>A, c.322C>T + c.949G>T, c.164G>A + c.670G>A, c.1A>G + c.320G>A, c.322C>T + c.1547G>A, c.19A>T + c.322C>T, c.319C>T + c.1546C>T, Ομοζυγωτία c.193A>G, c.320G>A + c.328G>A, c.454_456del, Ομοζυγωτία c.322C>T, c.322C>T + c.814G>A και ομοζυγωτία c.902G>C (Biancheri et al., 2015; Danhauser et al., 2016; Kevelam et al., 2016; Şahin et al., 2016; Steenweg et al., 2012; Talim et al., 2013; Taskin et al., 2016; Taylor et al., 2014).

1.12.4 FARS2

Το γονίδιο FARS2 κωδικοποιεί τη mtPheRS και μεταλλάξεις σε αυτό σχετίζονται με θανατηφόρα βρεφική επιληπτική εγκεφαλοπάθεια με γαλακτική οξέωση, με νευροαπεικονιστική εικόνα που μοιάζει με αυτή του AHS. Οι μεταλλάξεις που έχουν περιγραφεί είναι είτε ομόζυγες είτε συνδυασμένες ετερόζυγες παρερμηνεύσιμες και

επηρεάζουν τη δραστηριότητα της συνθετάσης μέσω μείωσης του ATP, μείωση της φαινυλαλανίνης ή μείωση της ικανότητας σύνδεσης του tRNA (Elo et al., 2012). Επίσης, έχει καταγραφεί η περίπτωση ενός ασθενή με βρεφικής έναρξης επιληψία και ανεπάρκεια του συμπλέγματος IV χωρίς σημεία εκφύλισης της φαιάς ουσίας, όπως συνηθίζεται στο AHS, με συνδυασμένη ετερόζυγη μετάλλαξη c.973G>T (p.D325Y) και διαγραφή του 6p25.1(Almalki et al., 2014). Πρόσφατα περιγράφηκε η περίπτωση ενός ασθενούς με εικόνα επιληψίας της βρεφικής ηλικίας με μεταναστευτικές εστιακές κρίσεις (EIMFS) στο ΗΕΓ, συνδυασμένη με γαλακτική οξέωση, ηπατική δυσλειτουργία, υποθερμία και αδυναμία πρόσληψης βάρους. Ο ασθενής αυτός ήταν συνδυασμένος ετεροζυγώτης για τις μεταλλάξεις p.D62N, p.P108L και p.D265TfsX29 στο γονίδιο FARS2 (Guerrero & Bhatia, 2021; Walker et al., 2016).

1.12.5 HARS2

Μεταλλάξεις του γονιδίου HARS2 που κωδικοποιεί τη mtHisRS έχουν περιγραφεί σε οικογένεια 11 μελών με τα 5 από αυτά να εμφανίζουν νευροαισθητήρια βαρηκοΐα και τα θήλα και δυσγενεσία ωοθηκών. Οι ασθενείς έφεραν συνδυασμό ετερόζυγων μεταλλάξεων: τη c.598C>G (p.L200V ή p.Δ200–211) που επηρεάζει το μάτισμα και τη c.1102G>T (p.V368L) που μειώνει σημαντικά την καταλυτική ενεργότητα της συνθετάσης (Pierce et al., 2011).

1.12.6 MARS2

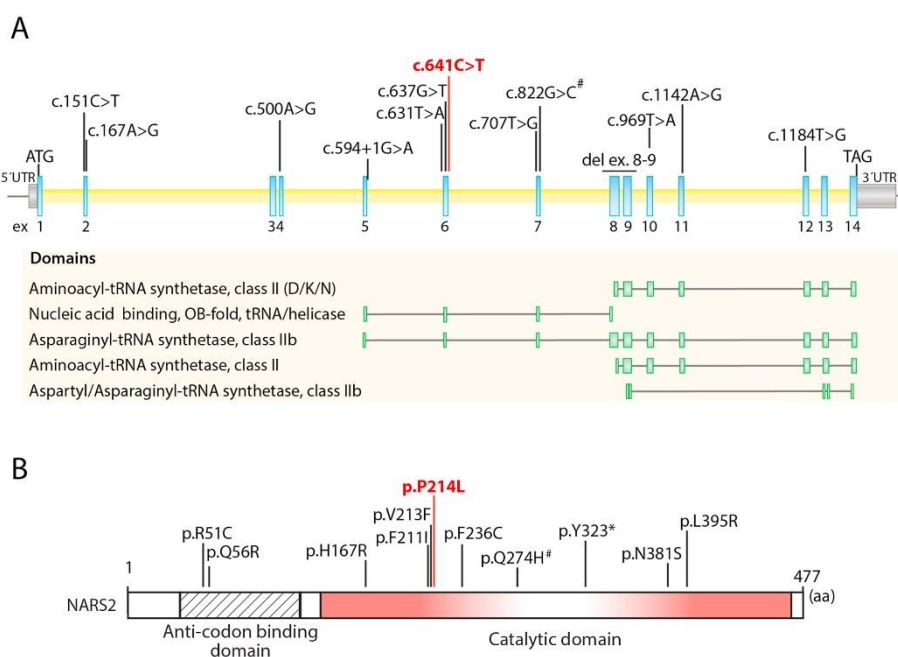
Το γονίδιο MARS2 κωδικοποιεί τη mtMetRS και μεταλλάξεις σε αυτό σχετίζονται με το σύνδρομο αυτοσωμικής υπολειπόμενης σπαστικής αταξίας με λευκοεγκεφελοπάθεια (ARSAL), παρεγκεφαλιδική ατροφία και αγενεσία μεσολοβίου με ένα ευρύ φάσμα έναρξης των συμπτωμάτων από 2 έως 60 ετών. Το ARSAL προκαλείται από σύνθετες ανακατατάξεις στο MARS2 που οδηγούν σε μείωση ή κολοβωμένη mtMetRS (Bayat et al., 2012).

1.12.7 NARS2

Το γονίδιο NARS2 κωδικοποιεί τη mtAsnRS και μεταλλάξεις σε αυτό έχουν μόλις πρόσφατα αναγνωριστεί και συσχετισθεί με AHS (ομόζυγη μετάλλαξη c.641C>T, p.P214L) (Sofou et al., 2015), σύνδρομο Leigh, μη συνδρομική νευροαισθητήρια απώλεια ακοής και μεμονωμένη μιτοχονδριακή μυοπάθεια (Mizuguchi et al., 2017; Seaver et al., 2018; Simon et al., 2015; Vanlander et al., 2015).

Πίνακας 2 Συσχέτιση γονοτύπου-φαινοτύπου σε μεταλλάξεις του NARS2 (Sofou et al., 2021; Štěrbová et al., 2021)

Φαινότυπος	Γονότυπος
Alpers	Ομοζυγωτία c.641C>T (p.P214L)
Alpers	c.707T>G (p.F236C) + c.594p1G>A
Alpers	c.167A>G (p.Q56R) + c.631T>A (p.F211I)
Alpers	Ομοζυγωτία c.500A>G (p.H167R)
Alpers/Leigh	Ομοζυγωτία c.641C>T (p.P214L)
Leigh	c.969T>A (p.Y323*) + c.1142A>G (p.N381S)
Leigh	c.731c>G (p.A244G) + c.1351C>T (p.R451C)
Μιτοχονδριακή μιτοπάθεια	Ομοζυγωτία c.822G>C (p.Q274H)
Επιληψία	Ομοζυγωτία c.822G>C (p.Q274H)
Μη συνδρομική νευροαισθητήρια βαρηκοΐα	Ομοζυγωτία c.637G>T (p.V213F)
Βρεφικής έναρξης νευροεκφυλιστική νόσος	c.151C>T (p.R51C) + c.1184T>G (p.L395R)
Θανατηφόρο ανθεκτικό status epilepticus	c.83_84del, p.(L28Glnfs*17) + c.1339A > G, p.(M447V)
Συνδυασμένη ανεπάρκεια οξειδωτικής φωσφορυλίωσης	c.1253G>A (p.R418H) + c.1300C>T (p.L434F)



Εικόνα 18 Μεταλλάξεις του NRAS2 (Sofou et al., 2021)

1.12.8 PARS2

Το γονίδιο PARS που κωδικοποιεί τη mtProRS έχει συσχετισθεί με περιπτώσεις AHS (συνδυασμένη ετερεζογωτία c.1130dupC, p.K378 fs*1 και c.836C>T, p.S279L) (Sofou et al., 2015)(Mizuguchi et al., 2017).

1.12.9 RARS2

Το γονίδιο RARS2 κωδικοποιεί τη mtArgRS. Μεταλλάξεις του γονιδίου έχουν περιγραφεί σε βρέφη με γεφυροπαρεγκεφαλιδική ατροφία και είναι όλες συνδυασμένες ετερόζυγες για θέσεις ματίσματος και παρερμηνεύσιμες μεταλλάξεις που οδηγούν σε μείωση του RARS2 mRNA ή της mtArgRS στα κύτταρα, αστάθεια του tRNA που συνδέεται με αργινίνη ή μειωμένη λειτουργικότητα της mtArgRS (Cassandrini et al., 2013).

1.12.10 SARS2

Ομόζυγες μεταλλάξεις στο γονίδιο SARS2, που κωδικοποιεί τη mtSerRS, έχουν περιγραφεί σε ασθενείς με σωληναριοπάθεια, υπερουριχαιμία, αλκάλωση, πρωτοπαθή πνευμονική υπέρταση και προοδευτική νεφρική ανεπάρκεια στη βρεφική ηλικία (HUPRA) με θάνατο σε νεαρή ηλικία (Belostotsky et al., 2011).

1.12.11 YARS2

Το γονίδιο YARS2 κωδικοποιεί τη mtTyrRS και μεταλλάξεις του έχουν βρεθεί σε ασθενείς με μυοπάθεια, γαλακτική οξέωση και σιδηροβλαστική αναιμία (MLASA). Έχουν αναφερθεί δύο ομόζυγες παρερμηνεύσιμες μεταλλάξεις που επηρεάζουν την καταλυτική περιοχή της συνθετάσης και επομένως οδηγούν σε διαταραχές της μιτοχονδριακής μετάφρασης στους μυοβλάστες των ασθενών, χωρίς ωστόσο να είναι γνωστό πως οδηγεί στην εκδήλωση αναιμίας (Nakajima et al., 2014; Riley et al., 2010; Sasarman et al., 2012).

1.12.12 GARS και KARS σχετιζόμενη περιφερική νευροπάθεια

Μεταλλάξεις στα γονίδια GARS και KARS σχετίζονται με το σύνδρομο Charcot-Marie-Tooth, με τις μεταλλάξεις του πρώτου να κληρονομούνται με αυτοσωμικό επικρατή τρόπο και του δεύτερου με αυτοσωμικό επικρατή και υπολειπόμενο τρόπο. Η αμιγής εμπλοκή ωστόσο αυτών των γονιδίων στη μιτοχονδριακή δυσλειτουργία δεν έχει αποσαφηνιστεί (Kononvalova & Tyynismaa, 2013).

2. Διάγνωση

2.1 Βιοχημικές εξετάσεις σε αίμα, ούρα και ENY - Metabolomics

Συνήθως ο αρχικός έλεγχος στα μιτοχονδριακά νοσήματα περιλαμβάνει γενική αίματος, εκτίμηση της ηπατικής λειτουργίας, μέτρηση μυϊκών ενζύμων, μεταγευματικού γαλακτικού και πυροσταφυλικού οξέος, αμινόγραμμα αίματος και ούρων και ποσοτικό ή ποιοτικό έλεγχο οργανικών οξέων ούρων. Η μέτρηση των

μεταβολιτών δυστυχώς δεν είναι από μόνη της διαγνωστική και διαταραχές στις συγκεντρώσεις του γαλακτικού, των αμινοξέων και των οργανικών οξέων παρατηρούνται σε διάφορες ενδογενείς διαταραχές του μεταβολισμού (Stenton & Prokisch, 2020).

Μέτρηση επιπέδων γαλακτικού οξέος σε αίμα και ENY: Σημαντική αύξηση του γαλακτικού οξέος στο πλάσμα ($>3 \text{ mmol/l}$) υποδηλώνει μιτοχονδριακή δυσλειτουργία, η οποία μπορεί να οφείλεται είτε σε πρωτοπαθή μιτοχονδριακή νόσο είτε δευτερευόντως σε οργανικές οξυαιμίες, άλλες εγγενείς διαταραχές του μεταβολισμού, τοξίνες ή ιστική ισχαιμία. Σε ασθενείς με αληθείς πρωτοπαθείς μιτοχονδριοπάθειες, η αύξηση του γαλακτικού έχει ευαισθησία 34-62% και ειδικότητα 83-100%. Όταν τα επίπεδα γαλακτικού είναι αυξημένα, ο υπολογισμός του λόγου γαλακτικό/πυροσταφυλικό είναι πιο αξιόπιστος για τη διαφορική διάγνωση νοσημάτων με διαταραχή της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης από νοσήματα με διαταραχή του μεταβολισμού του πυροσταφυλικού, με μεν ευαισθησία 31%, αλλά ειδικότητα 100%. Αντίστοιχα αυξημένα επίπεδα γαλακτικού οξέος στο ENY μπορεί να ανευρεθούν σε πρωτοπαθείς μιτοχονδριοπάθειες με νευρολογική συμμετοχή.

Μέτρηση επιπέδων πυροσταφυλικού οξέος σε αίμα και ENY: Χρησιμεύει στην ανίχνευση διαταραχών των ενζύμων που εμπλέκονται στο μεταβολισμό του πυροσταφυλικού και ειδικά της αφυδρογονάσης και της καρβοξυλάσης του πυροσταφυλικού.

Ποσοτικός προσδιορισμός αμινοξέων σε αίμα, ούρα και ENY: Σε πρωτοπαθείς μιτοχονδριοπάθειες μπορεί να παρατηρηθεί αύξηση συγκεκριμένων αμινοξέων στο αίμα και στο ENY λόγω δυσλειτουργίας της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης. Συνήθως αυξημένα ανευρίσκονται τα αμινοξέα αλανίνη, θρεονίνη, γλυκίνη και προλίνη, χωρίς όμως γνωστή ευαισθησία και ειδικότητα. Το αμινόγραμμα ούρων χρησιμοποιείται κυρίως για αξιολόγηση νεφρικής σωληναριοπάθειας σχετιζόμενη με μιτοχονδριοπάθεια.

Μέτρηση καρνιτίνης: Η καρνιτίνη φυσιολογικά λειτουργεί ως αποδέκτης δυνητικά τοξικών εστέρων του συνενζύμου A. Ποσοτική μέτρηση των επιπέδων ολικής και ελεύθερης καρνιτίνης στο αίμα βοηθάει στην ανίχνευση ελαττωμάτων στην οξείδωση των λιπαρών οξέων καθώς και πρωτοπαθών αμινο- και οργανικών οξυαιμιών.

Μέτρηση οργανικών οξέων ούρων: Σε μιτοχονδριοπάθειες μπορεί να παρατηρηθεί αύξηση των επιπέδων κάποιων οργανικών οξέων στα ούρα, όπως φουμαρικό, μηλικό και 3-μεθυλμαλονικό οξύ. Όσον αφορά το τελευταίο, θεωρείται πιο αξιόπιστη η ταυτόχρονη μέτρηση και σύγκριση των επιπέδων του σε αίμα και ούρα.

Επίπεδα φυλλικού οξέος εγκεφάλου: Η αξιολόγησή τους μπορεί να γίνει έμμεσα με μέτρηση του 5-μεθυλτετραϋδροφυλλικού στο ENY. Ανεπάρκεια φυλλικού οξέος μπορεί να παρατηρηθεί σε πλειάδα νευρολογικών και μεταβολικών νοσημάτων που περιλαμβάνουν τις μιτοχονδριοπάθειες και κυρίως KSS, διαγραφές mtDNA, POLG-σχετιζόμενων μιτοχονδριοπαθειών και ανεπάρκεια του συμπλέγματος I.

Άλλες εξετάσεις: Σε μιτοχονδριακά νοσήματα με μυοπάθεια μπορεί να παρατηρηθεί αύξηση της CPK (κινάση της φωσφοκρεατίνης) και του ουρικού οξέος λόγω καταβολισμού νουκλεϊκών οξέων και νουκλεοτιδίων στα πλαίσια ραβδομύωσης. Διάφορες διαταραχές των ερυθροκυττάρων, των λευκών αιμοσφαιρίων και των αιμοπεταλίων μπορεί να παρατηρηθούν σε μιτοχονδριοπάθειες με αιματολογικές ανωμαλίες, ενώ επίσης σε νοσήματα με ηπατική συμμετοχή μπορεί να παρατηρηθούν αυξημένες τρανσαμινάσες και μειωμένα επίπεδα αλβουμίνης ορού. (Parikh et al., 2015)

2.2 Νευροαπεικόνιση

Ανάλογα με τη μιτοχονδριοπάθεια και τη συμμετοχή του ΚΝΣ μπορεί να υπάρχουν δομικές αλλαγές στον εγκέφαλο ή/και στο νωτιαίο μυελό σε νευροαπεικονιστικές εξετάσεις, όπως εστιακές βλάβες χωρίς αγγειακή συμμετοχή σε stroke-like επεισόδια, διάχυτη βλάβης της λευκής ουσίας ή αμφοτερόπλευρες βλάβες στη φαιά ουσία των βασικών γαγγλίων και του εγκεφαλικού στελέχους (Parikh et al., 2015).

2.3 Βιοδείκτες

Η συνδυαστική μέτρηση αυξημένων επιπέδων των βιοδεικτών FGF21 και GDF15 σχετίζεται με μιτοχονδριοπάθειες με μυοπάθεια σε ενήλικες με καλή ευαισθησία και ειδικότητα, χωρίς να έχει μελετηθεί η χρήση τους σε παιδιά (Ng et al., 2021).

2.4 Ιστοπαθολογία

Σε ιστοτεμάχια από βιοψίες πασχόντων ιστών μπορούν να διενεργηθεί ιστολογική ανάλυση είτε για την ανεύρεση παθογνωμονικών χαρακτηριστικών, όπως είναι οι ρακώδεις κόκκινες ίνες σε MERRF, είτε για τον αποκλεισμό άλλων καταστάσεων με παρόμοια κλινική εικόνα (Ng et al., 2021; Parikh et al., 2015).

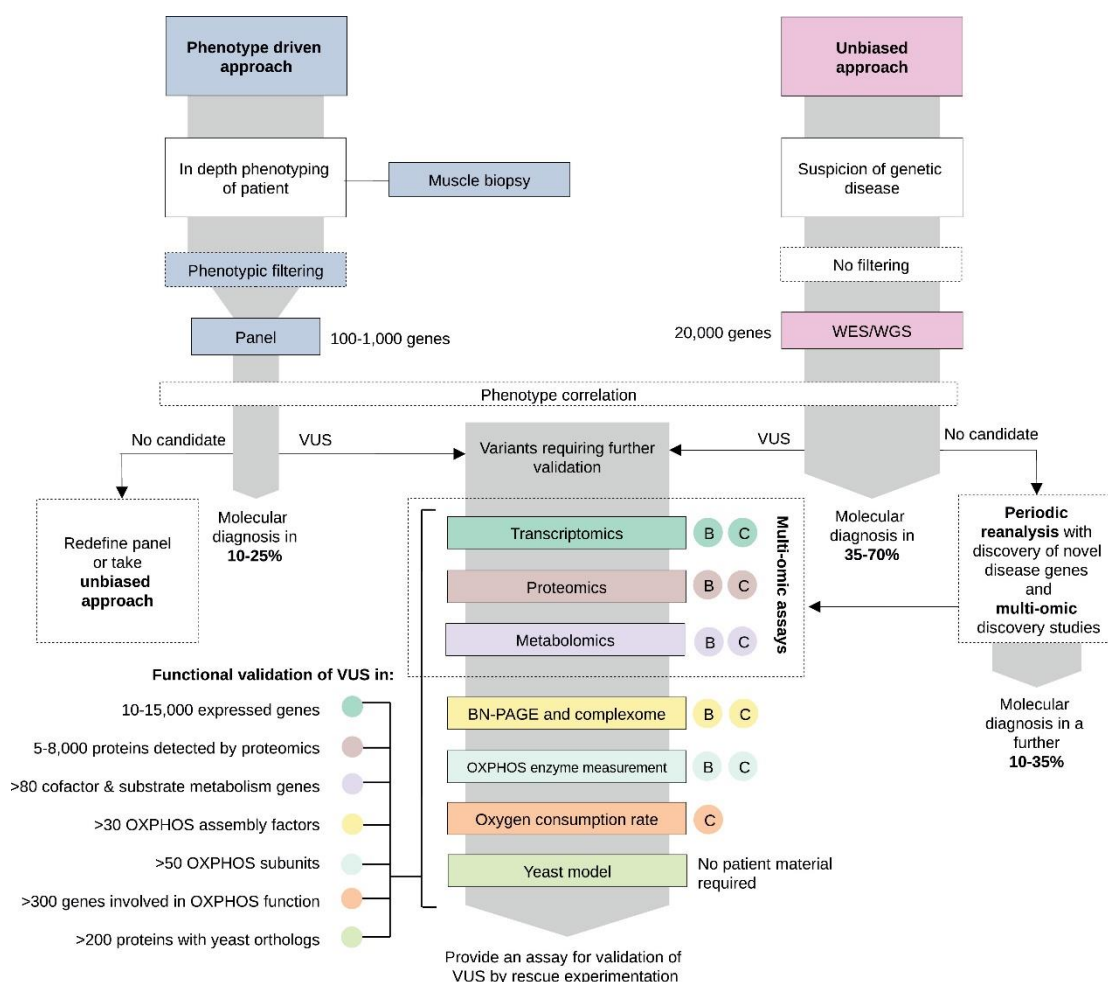
2.5 Γονιδιακός έλεγχος

Γονιδιακός έλεγχος για μιτοχονδριοπάθειες μπορεί να γίνει στο mtDNA και στο nDNA, καθώς μεταλλάξεις ανευρίσκονται και στα δύο γονιδιώματα και θα πρέπει να πραγματοποιείται στο πάσχον παιδί και τους δύο γονείς, για προσδιορισμό de novo και κληρονομούμενων μεταλλάξεων.

Μέθοδος επιλογής για την ανίχνευση μεταλλάξεων στο mtDNA αποτελεί η αλληλούχιση ολόκληρου του γονιδιώματος με NGS καθώς αυτό επιτρέπει ανίχνευση σημειακών μεταλλάξεων και διαγραφών ακόμα και σε χαμηλά επίπεδα ετεροπλασμίας με αυξημένη ευαισθησία και αξιοπιστία. Για την ανίχνευση διαγραφών ή διπλασιασμών στο mtDNA, ο έλεγχος με NGS προτείνεται να γίνεται σε ιστούς υψηλών ενεργειακών απαιτήσεων. Έτσι, ανάλογα με τη συμπτωματολογία και την πιθανή διάγνωση, ο έλεγχος μπορεί να γίνει σε δείγματα αίματος, ούρων ή ειδικών ιστών, αλλά συνήθως προτείνεται η ταυτόχρονη εξέταση τουλάχιστον δύο δειγμάτων διαφορετικής προέλευσης για αύξηση της ευαισθησίας, καθώς οι παθογόνες μεταλλάξεις μπορεί να μην αφορούν όλους τους ιστούς. Στους παιδιατρικούς ασθενείς συνήθως αρκεί η ανάλυση του mtDNA σε αίμα και ούρα. Όσον αφορά τα σύνδρομα μείωσης του mtDNA, έλεγχος της ποσότητας του mtDNA στον πάσχοντα ιστό γίνεται συνήθως με ποσοτική RT-PCR. (Ng et al., 2021; Parikh et al., 2015; Stenton & Prokisch, 2020).

Σε περιπτώσεις ανεύρεσης πολλαπλών διαγραφών ή διπλασιασμών του mtDNA συνιστάται περαιτέρω έλεγχος γονιδίων του nDNA, μεταλλάξεις των οποίων μπορούν να οδηγήσουν σε τέτοιες διαταραχές. Η ανίχνευση μεταλλάξεων στο nDNA γίνεται με την τεχνολογία του NGS και μπορεί να γίνει είτε στοχευμένα για ένα γονίδιο (δεν χρησιμοποιείται ευρέως), είτε ταυτόχρονα για ένα πάνελ γονιδίων, ανάλογα με την κλινική υποψία. Εάν με το τελευταίο δεν ανευρεθεί κάποια παθογόνος μετάλλαξη, πραγματοποιείται WES, το οποίο είναι ιδιαίτερα χρήσιμο διαγνωστικά σε παιδιατρικούς πληθυσμούς, αφού οι μεταλλάξεις των πυρηνικών γονιδίων αφορούν το 75-90% των μιτοχονδριοπαθειών. Προτείνεται έτσι ο έλεγχος με WES να είναι το πρώτο βήμα στο γενετικό διαγνωστικό αλγόριθμο στα παιδιά. Τέλος, WGS μπορεί να χρειαστεί για την ανίχνευση μεταλλάξεων σε εσώνια που μπορεί να επηρεάζουν το μάτισμα. Συνήθως σε αυτές τις περιπτώσεις έχει προηγηθεί έλεγχος του μεταγραφώματος (αλληλούχιση ή ποσοτικός προσδιορισμός RNA) και ακολουθεί το WGS για την ανεύρεση της παθογόνου μετάλλαξης.

Σε περιπτώσεις παραλλαγών αγνώστου σημασίας (VUS), ακολουθεί έλεγχος με δοκιμασίες multi-omics. Η ανάλυση του μεταγραφώματος με αλληλούχιση του RNA παρέχει πληροφορίες για αλλαγές στην έκφραση και το μάτισμα του mRNA λόγω μεταλλάξεων σε κωδικές και μη κωδικές περιοχές που δεν έχουν προηγουμένως αναγνωριστεί. Από την άλλη, πρωτεϊμική ανάλυση επιτρέπει τον ταυτόχρονο ποσοστικό προσδιορισμό των 1500 μιτοχονδριακών πρωτεϊνών. Παρανοηματικές μεταλλάξεις (που αντιπροσωπεύουν το 50% των μεταλλάξεων στις μιτοχονδριοπάθειες) μπορεί να επηρεάσουν τη λειτουργικότητα μιας πρωτεΐνης λόγω αποσταθεροποίησης της δομής της. Εκτός αυτών, σε ανεύρεση VUS διενεργείται λειτουργικός έλεγχος στους πάσχοντες ιστούς που περιλαμβάνει αξιολόγηση της λειτουργίας ενζύμων της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης και της ποσοτικής μέτρησης ορισμένων πρωτεϊνών, όπως το συνένζυμο Q10 (Stenton & Prokisch, 2020).



Εικόνα 19 Διαγνωστικός αλγόριθμος μιτοχονδριοπαθειών (Stenton & Prokisch, 2020)

3. Θεραπεία

3.1 Φαρμακευτική θεραπεία

Για την αντιμετώπιση των μιτοχονδριοπαθειών έχουν χρησιμοποιηθεί διάφοροι παράγοντες και βιταμίνες, χωρίς ωστόσο αποδεδειγμένο όφελος. Σε αυτήν την αγωγή περιλαμβάνονται συνένζυμο Q10, L-καρνιτίνη, κρεατίνη, α-λιποϊκό οξύ, βιταμίνη E και βιταμίνες του συμπλέγματος B. Το συνένζυμο Q10 είναι το πιο συχνά χρησιμοποιούμενο φάρμακο σε μιτοχονδριπάθειες, το οποίο δρα ως μεταφορέας ηλεκτρονίων μεταξύ των συμπλεγμάτων I και II και φαίνεται να επιδρά ευεργετικά κυρίως σε μιτοχονδριακές εγκεφαλομυοπάθειες. Η ιμπεδερόνη είναι επίσης ένα παράγωγο της ουβικινόνης που μπορεί να μειώσει την παραγωγή ROS και να επιτρέψει την άμεση μεταφορά ηλεκτρονίων στο σύμπλεγμα III. Το EPI-743 αναπληρώνει τα αποθέματα γλουταθειόνης και διαθέτει υψηλότερη αντιοξειδωτική δράση από την ιμπεδερόνη (Chun & Rizzo, 2017; Parikh et al., 2015).

3.2 Υποστηρικτική θεραπεία

Ανάλογα με την εκάστοτε σημειολογία οι ασθενείς πρέπει να λαμβάνουν υποστηρικτικές θεραπείες. Οι σπασμοί αντιμετωπίζονται με τα ανάλογα αντιεπιληπτικά φάρμακα, συνήθως αποφεύγοντας τη χρήση βαλπροϊκού οξέος που μπορεί να επιδεινώσει υποκείμενη ηπατοπάθεια, ενώ αντίστοιχα σε νευροαισθητήρια βαρηκοΐα γίνεται τοποθέτηση κοχλιακών εμφυτευμάτων ή ακουστικών βοηθημάτων. Όσον αφορά τις καρδιοπάθειες με καρδιακή ανεπάρκεια χορηγούνται αΜΕΑ, β-blockers και διουρητικά, σε κολποκοιλιακό αποκλεισμό τοποθετείται βηματοδότης και σε κακοήθεις αρρυθμίες με πιθανότητα αιφνιδίου θανάτου τοποθετείται απινιδωτής. Ομοίως, συμπτωματικά αντιμετωπίζονται τα ευρήματα από το γαστρεντερικό με προκινητικά, καθαρτικά, ενίσχυση της θερμιδικής πρόσληψης, διενέργεια γαστροστομίας ή μεταμόσχευσης ήπατος, αναλογα με τις ενδείξεις. Σε ενδοκρινολογικές διαταραχές μπορεί να χρειασθούν θεραπείες ορμονικής υποκατάστασης, σε συμμετοχή από το αναπνευστικό μη επεμβατικός ή επεμβατικός μηχανικός αερισμός και σε νεφρική συμμετοχή οι ασθενείς μπορεί να χρειάζονται αποκατάσταση ηλεκτρολυτικών διαταραχών και σε ορισμένες περιπτώσεις περιτοναϊκή διάλυση. Τέλος, σε βαριές αναιμίες οι ασθενείς χρειάζονται μετάγγιση με συμπυκνωμένα ερυθρά (Ng et al., 2021).

3.3 Άσκηση

Διάφορες μελέτες έχουν δείξει πως ήπια άσκηση σε ασθενείς με μιτοχονδριοπάθεια αυξάνουν την αντιοξειδωτική ενζυμική δραστικότητα, την ενεργότητα διάφορων μιτοχονδριακών ενζύμων στον μυών, την πρόσληψη οξυγόνου, ενώ παράλληλα μειώνουν τα επίπεδα γαλακτικού στο αίμα σε ηρεμία και μετά από άσκηση, βλεπώντας συνολικά τα συμπτώματα και κυρίως την περιφερική μυϊκή αδυναμία (Parikh et al., 2015).

3.4 Θεραπεία κατά τη διάρκεια stress

Καταστάσεις όπως λοιμώξεις, τραύμα, νηστεία ή χειρουργείο επάγουν τον καταβολισμό. Ασθενείς με μιτοχονδριοπάθεια σε συνθήκες stress, θα βρεθούν πιο γρήγορα σε καταβολική φάση, με αποτέλεσμα αυξημένη παραγωγή τοξικών μεταβολιτών και ROS που οδηγούν σε κυτταρική βλάβη και εκδήλωση πιο έντονων συμπτωμάτων από τη νόσο. Στους ασθενείς αυτούς προτείνεται χορήγηση ενδοφλέβιων διαλυμάτων δεξτρόζης, αποφυγή παρατεταμένης νηστείας και αποφυγή έκθεσης σε ουσίες που μπορεί να επηρεάσουν δυσμενώς τη μιτοχονδριακή λειτουργία.

3.5 Νεότερα θεραπευτικά δεδομένα

Τα τελευταία χρόνια έχουν μελετηθεί διάφοροι μηχανισμοί αντιμετώπισης των μιτοχονδριοπαθειών που περιλαμβάνουν τη χρήση μικρών μορίων, τη γονιδιακή επιδιόρθωση και την αποτροπή μετάβασης μιτοχονδριακών παθήσεων σε απογόνους.

3.5.1 Μικρά μόρια

Χορηγούμενα μικρά μόρια έχουν διάφορους στόχους όπως την αύξηση της μιτοχονδριακής βιογένεσης, την αποκατάσταση της αναλογίας NAD⁺/NADH, την αύξηση της μιτοφαγίας, το μεταβολικό επαναπρογραμματισμό και τη διαχείριση του κυτταρικού οξειδωτικού stress.

Όπως αναφέρθηκε στο BTHS, η βενζαφιμπράτη είναι ένας αγωνιστής των PPAR που έχουν κυρίαρχο ρόλο στη μιτοχονδριακή βιογένεση, επάγοντας σε μοντέλο ζώων με μεταλλαγμένη mtDNA ελίκωση τη δημιουργία νέων μιτοχονδρίων (Yatsuga & Suomalainen, 2012). Πρόσφατα μελετήθηκε και η επίδραση της ομαβελοξολόνης στη μιτοχονδριακή βιογένεση, η οποία ενεργοποιεί τον NRF2 που επάγει την έκφραση πολλών πυρηνικών γονιδίων, χωρίς όμως να παρατηρηθεί βελτίωση των εξεταζόμενων παραμέτρων στους ασθενείς (Madsen et al., 2020). Η χρήση νικοτιναμίδης σε μοντέλο ζώων με μιτοχονδριακή μυοπάθεια φάνηκε να απεκατέστησε τις χαμηλές τιμές NAD⁺,

αυξάνοντας τη μιτοχονδριακή βιογένεση στους σκελετικούς μύες και αναμένονται αποτελέσματα από αντίστοιχη μελέτη με χορήγηση νιασίνης σε ανθρώπους. Από τη άλλη, μελέτες με ριπαμυκίνη, που στοχεύει το μονοπάτι mTOR, έδειξαν πως επάγει τη μιτοφαγία, με την οποία αποικοδομούνται ελαττωματικά μιτοχόνδρια. Αναφορικά με το οξειδωτικό stress μελέτη με διτρυγική κυστεαμίνη (RP103) σε παιδιατρικό πληθυσμό δεν έδειξε κάποιο όφελος (Russell et al., 2020).

3.5.2 Γενετική επιδιόρθωση

Τεχνικές γενετικής επιδιόρθωσης, όπως το CRISPR-Cas9, που έχουν δοκιμαστεί σε μεταλλάξεις πυρηνικών γονιδίων, είναι δύσκολο προς το παρόν να χρησιμοποιηθούν για την επιδιόρθωση του mtDNA λόγω της αδιαπερατότητας των μιτοχονδριακών μεμβρανών. Αυτό που έχει δοκιμαστεί εναλλακτικά είναι η αλλότοπη έκφραση ενός μιτοχονδριακού γονιδίου, το οποίο εισάγεται σε έναν φορέα και στη συνέχεια ενσωματώνεται στο nDNA. Ακολουθεί η μετάφραση αυτής της αλληλουχίας και η παραγωγή πρωτεΐνης στο κυτταρόπλασμα, η οποία στη συνέχεια μεταφέρεται στα μιτοχόνδρια χάρη σε μια αλληλουχία μιτοχονδριακής στόχευσης που διαθέτει (Ng et al., 2021).

3.5.3 Επιλογές αναπαραγωγής

Για οικογένειες με βλάβη στο nDNA οι επιλογές είναι ίδιες με αυτές που αφορούν οποιαδήποτε άλλη πυρηνική γενετική ασθένεια: γενετική συμβουλευτική, προγεννητικός έλεγχος και προεμφυτευτικός έλεγχος. Από την άλλη, σε περιπτώσεις ελαττωμάτων στο mtDNA η προσέγγιση είναι διαφορετική λόγω του φαινομένου bottleneck, όπου από μητέρα με ετεροπλασμικό mtDNA μπορεί να προκύψουν ωοκύτταρα με διαφορετικό επίπεδο ετεροπλασμίας, χωρίς να μπορεί να προβλεφθεί το αποτέλεσμα κάθε εγκυμοσύνης. Σε αυτές τις περιπτώσεις απαιτείται εξειδικευμένη γενετική συμβουλευτική και οι επιλογές περιλαμβάνουν δωρεά ωοκυττάρων, προγεννητικό και προεμφυτευτικό έλεγχο και μιτοχονδριακή αντικατάσταση. Στο τελευταίο η βασική αρχή είναι η μεταφορά του nDNA από μία μητέρα με παθολογικές μεταλλάξεις στο mtDNA της σε ένα ωοκύτταρο ή ζυγωτό υγιούς γυναίκας-δότη με φυσιολογικό mtDNA. Θα προκύψουν έτσι έμβρυα με nDNA από τους δύο γονείς και mtDNA της γυναίκας-δότη. Παρ' όλα αυτά έχει παρατηρηθεί πως στο 20% των βλαστοκυττάρων που προέρχονται από έμβρυα με μιτοχονδριακή αντικατάσταση προκύπτει μια επιστροφή στο μητρικό γονότυπο, άγνωστης αιτιολογίας και in vivo σημασίας (Ng et al., 2021).

3.5.4 Κλινικές μελέτες σε παιδιατρικούς ασθενείς με μιτοχονδριοπάθειες σε εξέλιξη

Μέχρι στιγμής βρίσκονται σε εξέλιξη οι παρακάτω κλινικές δοκιμές σε παιδιατρικούς ασθενείς με μιτοχονδριοπάθειες.

- NCT04543968: Η συγκεκριμένη κλινική μελέτη έχει στόχο την αξιολόγηση της δωδεκάμηνης χορήγηση υδροξυτυροσόλης ως διαιτητικό συμπλήρωμα σε παιδιατρικούς ασθενείς με μιτοχονδριοπάθειες και την πιθανή αλλαγή στην κλινική εικόνα 6 μήνες μετά τη διακοπή της. Οι παράμετροι που θα μελετηθούν είναι η λειτουργικότητα των ασθενών βάσει του IPMDS (International Paediatric Mitochondrial Disease Score) και οι αλλαγές σε βιοχημικές και ακτινολογικές παραμέτρους.
- NCT04548843: Θα μελετηθεί σε παιδιά 4-18 ετών με μιτοχονδριοπάθεια η αποτελεσματικότητα μίας ενδοφλέβιας έγχυσης αυτόλογων CD34+ κυττάρων που έχουν εμπλουτιστεί με αλλογενή μιτοχόνδρια προερχόμενα από πλακούντα.
- NCT04846036: Η μελέτη KHENERGYC είναι μία διπλή τυφλή τυχαιοποιημένη μελέτη φάσης II για την εκτίμηση της αποτελεσματικότητας της σονλικρομανόλης (KH176) έναντι placebo σε παιδιά 0-17 ετών με μιτοχονδριοπάθεια στην οποία είναι γνωστό το γενετικό ελάττωμα που οδηγεί σε δυσλειτουργία ενός ή περισσότερων συμπλεγμάτων της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης.
- NCT04378075: Πρόκειται για τυχαιοποιημένη διπλή τυφλή μελέτη αποτελεσματικότητας της βατικουινόνης έναντι placebo σε ασθενείς με LSS, MELAS, AHS, φαρμακοανθεκτική επιληψία και PCH6 στον έλεγχο των σπασμών.
- NCT01370447 και NCT02352896: Κλινικές μελέτες παρέμβασης φάσης II για την εκτίμηση της ασφάλειας και της αποτελεσματικότητας του EPI-743 σε ασθενείς με σοβαρές μιτοχονδριοπάθειες που επηρεάζουν την οξειδωτική φωσφορυλίωση.
- NCT04802707: Είναι κλινική δοκιμή φάσης II για την ασφάλεια και αποτελεσματικότητα θεραπείας με δεοξυκυτιδίνη και δεοξυθυμιδίνη σε παιδιά 0-18 ετών με σύνδρομο μείωσης του mtDNA. Πρωταρχικά αποτελέσματα δείχνουν βελτίωση της HEF εικόνας, της συχνότητας επιληπτικών επεισοδίων,

της ποιότητας ζωής και της γενικής κλινικής κατάσταση όπως υπολογίζεται με το NPMDS (Newcastle Paediatric Mitochondrial Disease Scale).

- NCT02616484: Μελέτη φάσης III για την αποτελεσματικότητα του διχλωροξικού άλατος (DCA) συγκριτικά με placebo σε παιδιά με ανεπάρκεια του συμπλέγματος της πυροσταφυλικής αφυδρογονάσης (PCDC). Οι ερευνητές προβλέπουν ότι το DCA θα μπορούσε να αποτελεί στοχευμένη θεραπεία για PCDC καθώς μπορεί να αυξήσει την καταλυτική ενεργότητα και σταθερότητα του συμπλέγματος.
- NCT03845712: Προοπτική μελέτη φάσης II για την ασφάλεια και αποτελεσματικότητα της χορήγησης MT1621 (συνδυασμός νουκλεοσιδίων dC/dT) σε ασθενείς με ανεπάρκεια TK2.

Γ. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Τα μιτοχονδριακά νοσήματα αποτελούν ομάδα σπάνιων, με κλινική ετερογένεια παθήσεων. Η αναγνώρισή τους είναι δυσχερής και απαιτείται υψηλή κλινική υποψία λόγω των μη ειδικών σημείων και συμπτωμάτων αλλά και μη διαγνωστικών εξετάσεων πρώτης γραμμής.

Στην παρούσα διπλωματική εργασία έγινε προσπάθεια αποτύπωσης της σύγχρονης βιβλιογραφίας σχετικά με την αιτιολογία αυτών των νοσημάτων, η οποία έγκειται σε γονιδιακές μεταλλάξεις στο πυρηνικό και μιτοχονδριακό DNA. Οι μεταλλάξεις αυτές μπορεί να λάβουν οποιαδήποτε μορφή και να έχουν διαφορετικό αντίκτυπο στη λειτουργία των μιτοχονδρίων, επηρεάζοντας κυρίως τα συμπλέγματα της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης. Δεδομένου της σημαντικότητας της εύρυθμης λειτουργίας των μιτοχονδρίων στην ομοιοστασία του οργανισμού, οι παθολογικές μεταλλάξεις διαταράσσουν σε πολλά επίπεδα κυτταρικές και ιστικές λειτουργίες, με αποτέλεσμα την εκδήλωση βαριών μιτοχονδριοπαθειών που στην πλειονότητά τους καταλήγουν στο θάνατο.

Έως τώρα έχει γίνει σημαντική πρόοδος στην έρευνα και ανακάλυψη νέων υπεύθυνων μεταλλάξεων, ιδίως μετά την καθολική χρήση του NGS. Μπαίνοντας πια στην εποχή των multi-omics, η συλλογιστική προσέγγιση ενός ασθενή με συμπτώματα μιτοχονδριοπάθειας, θα προσφέρει στοχευμένη αναγνώριση νέων παθογόνων μεταλλάξεων, επαναξιολόγηση των παθογόνων/μη παθογόνων/αγνώστου σημασίας πολυμορφισμών και το πιο σημαντικό, πιθανή εξατομικευμένη αντιμετώπιση. Αν και από το τελευταίο απέχουμε ακόμη αρκετά, οι νέες τεχνολογίες με τη χρήση γενετικής μηχανικής ανοίγουν νέους ορίζοντες για τη βέλτιστη και ίσως μόνιμη αντιμετώπιση παθήσεων που οφείλονται σε γενετικά σφάλματα, όπως τα μιτοχονδριακά νοσήματα.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Ajioka, R. S., Phillips, J. D., & Kushner, J. P. (2006). Biosynthesis of heme in mammals. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1763(7), 723–736. <https://doi.org/10.1016/J.BBAMCR.2006.05.005>
- Alberts, B., Hopkin, K., Johnson, A., Morgan, D., Raff, M., Roberts, K., & Walter, P. (2018). *Essential Cell Biology* (W.W. Norton & Company (ed.); 5th ed.). W.W. Norton & Company.
- Almalki, A., Alston, C. L., Parker, A., Simonic, I., Mehta, S. G., He, L., Reza, M., Oliveira, J. M. A., Lightowlers, R. N., McFarland, R., Taylor, R. W., & Chrzanowska-Lightowlers, Z. M. A. (2014). Mutation of the human mitochondrial phenylalanine-tRNA synthetase causes infantile-onset epilepsy and cytochrome c oxidase deficiency. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1842(1), 56–64. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2013.10.008>
- Alpers, B. J. (1931). DIFFUSE PROGRESSIVE DEGENERATION OF THE GRAY MATTER OF THE CEREBRUM. *Archives of Neurology & Psychiatry*, 25(3), 469–505. <https://doi.org/10.1001/ARCHNEURPSYC.1931.02230030027002>
- Alston, C. L., Rocha, M. C., Lax, N. Z., Turnbull, D. M., & Taylor, R. W. (2017). The genetics and pathology of mitochondrial disease. *The Journal of Pathology*, 241(2), 236–250. <https://doi.org/10.1002/PATH.4809>
- Andrews, R. M., Kubacka, I., Chinnery, P. F., Lightowlers, R. N., Turnbull, D. M., & Howell, N. (1999). Reanalysis and revision of the Cambridge reference sequence for human mitochondrial DNA. *Nature Genetics*, 23(2), 147. <https://doi.org/10.1038/13779>
- Applegarth, D. A., Toone, J. R., & Brian Lowry, R. (2000). *Incidence of Inborn Errors of Metabolism in British Columbia, 1969-1996*. <http://www.pediatrics.org/cgi/content/full/105/1/e10>
- Baertling, F., Rodenburg, R. J., Schaper, J., Smeitink, J. A., Koopman, W. J. H., Mayatepek, E., Morava, E., & Distelmaier, F. (2014). A guide to diagnosis and treatment of Leigh syndrome. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*, 85(3), 257–265. <https://doi.org/10.1136/jnnp-2012-304426>
- Balakrishnan, U. (2021). Inborn Errors of Metabolism—Approach to Diagnosis and Management in Neonates. *Indian Journal of Pediatrics*, 88(7), 679–689. <https://doi.org/10.1007/s12098-021-03759-9>
- Bax, B. E. (2020). Mitochondrial neurogastrointestinal encephalomyopathy: approaches to diagnosis and treatment. *Journal of Translational Genetics and Genomics*, 4. <https://doi.org/10.20517/JTGG.2020.08>
- Bayat, V., Thiffault, I., Jaiswal, M., Tétreault, M., Donti, T., Sasarman, F., Bernard, G., Demers-Lamarche, J., Dicaire, M.-J., Mathieu, J., Vanasse, M., Bouchard, J.-P., Rioux, M.-F., Lourenco, C. M., Li, Z., Haueter, C., Shoubbridge, E. A., Graham, B. H., Brais, B., & Bellen, H. J. (2012). Mutations in the mitochondrial methionyl-tRNA synthetase cause a neurodegenerative phenotype in flies and a recessive ataxia (ARSAL) in humans. *PLoS Biology*, 10(3), e1001288. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1001288>
- Bayrhuber, M., Meins, T., Habeck, M., Becker, S., Giller, K., Villinger, S., Vonnrhein, C., Griesinger, C., Zweckstetter, M., & Zeth, K. (2008). Structure of the human voltage-dependent anion channel. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(40), 15370–15375. <https://doi.org/10.1073/PNAS.0808115105>
- Belostotsky, R., Ben-Shalom, E., Rinat, C., Becker-Cohen, R., Feinstein, S., Zeligson,

- S., Segel, R., Elpeleg, O., Nassar, S., & Frishberg, Y. (2011). Mutations in the mitochondrial seryl-tRNA synthetase cause hyperuricemia, pulmonary hypertension, renal failure in infancy and alkalosis, HUPRA syndrome. *American Journal of Human Genetics*, 88(2), 193–200. <https://doi.org/10.1016/J.AJHG.2010.12.010>
- Biancheri, R., Lamantea, E., Severino, M., Diodato, D., Pedemonte, M., Cassandrini, D., Ploederl, A., Trucco, F., Fiorillo, C., Minetti, C., Santorelli, F. M., Zeviani, M., & Bruno, C. (2015). Expanding the Clinical and Magnetic Resonance Spectrum of Leukoencephalopathy with Thalamus and Brainstem Involvement and High Lactate (LTBL) in a Patient Harboring a Novel EARS2 Mutation. *JIMD Reports*, 23, 85–89. https://doi.org/10.1007/8904_2015_434
- Biology, E. (n.d.). *INTRAMITOCHONDRIAL FIBERS WITH DNA CHARACTERISTICS*. 613–629.
- Birky, C. W. (2001). The Role of Mitochondria in. *Annual Review of Genetics*, 35, 125/148.
- Bowmaker, M., Yang, M. Y., Yasukawa, T., Reyes, A., Jacobs, H. T., Huberman, J. A., & Holt, I. J. (2003). Mammalian Mitochondrial DNA Replicates Bidirectionally from an Initiation Zone. *Journal of Biological Chemistry*, 278(51), 50961–50969. <https://doi.org/10.1074/jbc.M308028200>
- Broomfield, A., Sweeney, M. G., Woodward, C. E., Fratter, C., Morris, A. M., Leonard, J. V., Abulhoul, L., Grunewald, S., Clayton, P. T., Hanna, M. G., Poulton, J., & Rahman, S. (2015). Paediatric single mitochondrial DNA deletion disorders: an overlapping spectrum of disease. *Journal of Inherited Metabolic Disease*, 38(3), 445–457. <https://doi.org/10.1007/s10545-014-9778-4>
- Brown, D. T., Samuels, D. C., Michael, E. M., Turnbull, D. M., & Chinnery, P. F. (2001). Random genetic drift determines the level of mutant mtDNA in human primary oocytes. *American Journal of Human Genetics*, 68(2), 533–536. <https://doi.org/10.1086/318190>
- Carrozzo, R., Dionisi-Vici, C., Steuerwald, U., Luciola, S., Deodato, F., Di Giandomenico, S., Bertini, E., Franke, B., Kluijtmans, L. A. J., Meschini, M. C., Rizzo, C., Piemonte, F., Rodenburg, R., Santer, R., Santorelli, F. M., van Rooij, A., Vermunt-de Koning, D., Morava, E., & Wevers, R. A. (2007). SUCLA2 mutations are associated with mild methylmalonic aciduria, Leigh-like encephalomyopathy, dystonia and deafness. *Brain: A Journal of Neurology*, 130(Pt 3), 862–874. <https://doi.org/10.1093/brain/awl389>
- Cassandrini, D., Cilio, M. R., Bianchi, M., Doimo, M., Balestri, M., Tessa, A., Rizza, T., Sartori, G., Meschini, M. C., Nesti, C., Tozzi, G., Petruzzella, V., Piemonte, F., Bisceglia, L., Bruno, C., Dionisi-Vici, C., D'Amico, A., Fattori, F., Carrozzo, R., ... Bertini, E. (2013). Pontocerebellar hypoplasia type 6 caused by mutations in RARS2: definition of the clinical spectrum and molecular findings in five patients. *Journal of Inherited Metabolic Disease*, 36(1), 43–53. <https://doi.org/10.1007/s10545-012-9487-9>
- Chan, S. S. L., Longley, M. J., & Copeland, W. C. (2005). The Common A467T Mutation in the Human Mitochondrial DNA Polymerase (POLG) Compromises Catalytic Efficiency and Interaction with the Accessory Subunit. *Journal of Biological Chemistry*, 280(36), 31341–31346. <https://doi.org/10.1074/JBC.M506762200>
- Chang, X., Wu, Y., Zhou, J., Meng, H., Zhang, W., & Guo, J. (2020). A meta-analysis and systematic review of Leigh syndrome: clinical manifestations, respiratory chain enzyme complex deficiency, and gene mutations. *Medicine*, 99(5), e18634.

- <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000018634>
- Chinnery, P. F., & Hudson, G. (2013). Mitochondrial genetics. *British Medical Bulletin*, 106(1), 135–159. <https://doi.org/10.1093/BMB/LDT017>
- Christodoulou, J., Thorburn, D. R., Rahman, S., Danks, D. M., Kirby, D. M., & Chow, C. W. (1996). Leigh Syndrome: Clinical Features and Biochemical DNA Abnormalities. *American Neurological Association*, 39, 343–351.
- Chun, B. Y., & Rizzo, J. F. (2017). Dominant Optic Atrophy and Leber's Hereditary Optic Neuropathy: Update on Clinical Features and Current Therapeutic Approaches. *Seminars in Pediatric Neurology*, 24(2), 129–134. <https://doi.org/10.1016/J.SPEN.2017.06.001>
- Clarke, S. L. N., Bowron, A., Gonzalez, I. L., Groves, S. J., Newbury-Ecob, R., Clayton, N., Martin, R. P., Tsai-Goodman, B., Garratt, V., Ashworth, M., Bowen, V. M., McCurdy, K. R., Damin, M. K., Spencer, C. T., Toth, M. J., Kelley, R. I., & Steward, C. G. (2013). Barth syndrome. *Orphanet Journal of Rare Diseases*, 8(1). <https://doi.org/10.1186/1750-1172-8-23>
- Danhauser, K., Haack, T. B., Alhaddad, B., Melcher, M., Seibt, A., Strom, T. M., Meitinger, T., Klee, D., Mayatepek, E., Prokisch, H., & Distelmaier, F. (2016). EARS2 mutations cause fatal neonatal lactic acidosis, recurrent hypoglycemia and agenesis of corpus callosum. *Metabolic Brain Disease*, 31(3), 717–721. <https://doi.org/10.1007/s11011-016-9793-2>
- Davis, R. L., Liang, C., & Sue, C. M. (2018). Mitochondrial diseases. In *Handbook of Clinical Neurology* (1st ed., Vol. 147). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63233-3.00010-5>
- Di Re, M., Sembongi, H., He, J., Reyes, A., Yasukawa, T., Martinsson, P., Bailey, L. J., Goffart, S., Boyd-kirkup, J. D., Wong, T. S., Fersht, A. R., Spelbrink, J. N., & Holt, I. J. (2009). The accessory subunit of mitochondrial DNA polymerase γ determines the DNA content of mitochondrial nucleoids in human cultured cells. *Nucleic Acids Research*, 37(17), 5701–5713. <https://doi.org/10.1093/NAR/GKP614>
- Diaz, F., Bayona-Bafaluy, M. P., Rana, M., Mora, M., Hao, H., & Moraes, C. T. (2002). Human mitochondrial DNA with large deletions repopulates organelles faster than full-length genomes under relaxed copy number control. *Nucleic Acids Research*, 30(21), 4626–4633. <https://doi.org/10.1093/NAR/GKF602>
- Dimauro, S., & Moraes, C. T. (1993). Mitochondrial encephalomyopathies. *Archives of Neurology*, 50(11), 1197–1208. <https://doi.org/10.1001/ARCHNEUR.1993.00540110075008>
- Dionisi-Vici, C., Rizzo, C., Burlina, A. B., Caruso, U., Sabetta, G., Uziel, G., & Abeni, D. (2002). Inborn errors of metabolism in the Italian pediatric population: A national retrospective survey. *Journal of Pediatrics*, 140(3), 321–329. <https://doi.org/10.1067/MPD.2002.122394>
- Duchen, M. R. (2004). Mitochondria in health and disease: Perspectives on a new mitochondrial biology. *Molecular Aspects of Medicine*, 25(4), 365–451. <https://doi.org/10.1016/J.MAM.2004.03.001>
- El-Hattab, A. W., Almannai, M., & Scaglia, F. (2018). MELAS. *MELAS*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1233/>
- Elmore, S. (2007). Apoptosis: a review of programmed cell death. *Toxicologic Pathology*, 35(4), 495–516. <https://doi.org/10.1080/01926230701320337>
- Elo, J. M., Yadavalli, S. S., Euro, L., Isohanni, P., Götz, A., Carroll, C. J., Valanne, L., Alkuraya, F. S., Uusimaa, J., Paetau, A., Caruso, E. M., Pihko, H., Ibba, M., Tyynismaa, H., & Suomalainen, A. (2012). Mitochondrial phenylalanyl-tRNA

- synthetase mutations underlie fatal infantile Alpers encephalopathy. *Human Molecular Genetics*, 21(20), 4521–4529. <https://doi.org/10.1093/HMG/DDS294>
- Farruggia, P., Di Marco, F., & Dufour, C. (2018). Pearson syndrome. *Expert Review of Hematology*, 11(3), 239–246. <https://doi.org/10.1080/17474086.2018.1426454>
- Ferreira, C., Pierre, G., Thompson, R., & Vernon, H. (2020). Barth Syndrome. *GeneReviews®*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK247162/>
- Ferreira, C. R., & van Karnebeek, C. D. M. (2019). Inborn errors of metabolism. In *Handbook of Clinical Neurology* (1st ed., Vol. 162). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64029-1.00022-9>
- Filosto, M., Piccinelli, S. C., Caria, F., Cassarino, S. G., Baldelli, E., Galvagni, A., Volonghi, I., Scarpelli, M., & Padovani, A. (2018). Mitochondrial Neurogastrointestinal Encephalomyopathy (MNGIE-MTDPS1). *Journal of Clinical Medicine*, 7(11). <https://doi.org/10.3390/JCM7110389>
- Finsterer, J. (2008). Leigh and Leigh-like syndrome in children and adults. *Pediatric Neurology*, 39(4), 223–235. <https://doi.org/10.1016/j.pediatrneurol.2008.07.013>
- Floros, V. I., Pyle, A., Dietmann, S., Wei, W., Tang, W. W. C., Irie, N., Payne, B., Capalbo, A., Noli, L., Coxhead, J., Hudson, G., Crosier, M., Strahl, H., Khalaf, Y., Saitou, M., Ilic, D., Surani, M. A., & Chinnery, P. F. (2018). Segregation of mitochondrial DNA heteroplasmy through a developmental genetic bottleneck in human embryos. *Nature Cell Biology*, 20(2), 144–151. <https://doi.org/10.1038/S41556-017-0017-8>
- Fnon, N. F., Hassan, H. H., Ali, H. M., & Sobh, Z. K. (2021). Sengers syndrome: a rare case of cardiomyopathy combined with congenital cataracts in an infant: post-mortem case report. In *Cardiovascular pathology: the official journal of the Society for Cardiovascular Pathology* (Vol. 54, p. 107371). <https://doi.org/10.1016/j.carpath.2021.107371>
- Freyer, C., Cree, L. M., Mourier, A., Stewart, J. B., Koolmeister, C., Milenkovic, D., Wai, T., Floros, V. I., Hagström, E., Chatzidaki, E. E., Wiesner, R. J., Samuels, D. C., Larsson, N. G., & Chinnery, P. F. (2012). Variation in germline mtDNA heteroplasmy is determined prenatally but modified during subsequent transmission. *Nature Genetics*, 44(11), 1282–1285. <https://doi.org/10.1038/NG.2427>
- Garone, C., Minczuk, M., & Falkenberg, M. (2018). Mitochondrial DNA replication in mammalian cells: overview of the pathway. *Essays in Biochemistry*, 62(3), 287–296. <https://doi.org/10.1042/EBC20170100>
- Ghezzi, D., Sevrioukova, I., Invernizzi, F., Lamperti, C., Mora, M., D’Adamo, P., Novara, F., Zuffardi, O., Uziel, G., & Zeviani, M. (2010). Severe X-Linked Mitochondrial Encephalomyopathy Associated with a Mutation in Apoptosis-Inducing Factor. *The American Journal of Human Genetics*, 86(4), 639–649. <https://doi.org/10.1016/J.AJHG.2010.03.002>
- Giles, R. E., Blanc, H., Cann, H. M., & Wallace aD., C. (1980). Maternal inheritance of human mitochondrial DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 77(11), 6715–6719. <https://doi.org/10.1073/PNAS.77.11.6715>
- Giordano, C., Montopoli, M., Perli, E., Orlandi, M., Fantin, M., Ross-Cisneros, F. N., Caparrotta, L., Martinuzzi, A., Ragazzi, E., Ghelli, A., Sadun, A. A., D’Amati, G., & Carelli, V. (2011). Oestrogens ameliorate mitochondrial dysfunction in Leber’s hereditary optic neuropathy. *Brain: A Journal of Neurology*, 134(Pt 1), 220–234. <https://doi.org/10.1093/BRAIN/AWQ276>
- Gold, V. A. M., Ieva, R., Walter, A., Pfanner, N., Van Der Laan, M., & Kühlbrandt, W. (2014). Visualizing active membrane protein complexes by electron

- cryotomography. *Nature Communications*, 5. <https://doi.org/10.1038/NCOMMS5129>
- Gorman, G. S., Chinnery, P. F., DiMauro, S., Hirano, M., Koga, Y., McFarland, R., Suomalainen, A., Thorburn, D. R., Zeviani, M., & Turnbull, D. M. (2016). Mitochondrial diseases. *Nature Reviews. Disease Primers*, 2. <https://doi.org/10.1038/NRDP.2016.80>
- Gorman, G. S., Schaefer, A. M., Ng, Y., Gomez, N., Blakely, E. L., Alston, C. L., Feeney, C., Horvath, R., Yu-Wai-Man, P., Chinnery, P. F., Taylor, R. W., Turnbull, D. M., & McFarland, R. (2015). Prevalence of nuclear and mitochondrial DNA mutations related to adult mitochondrial disease. *Annals of Neurology*, 77(5), 753–759. <https://doi.org/10.1002/ANA.24362>
- Götz, A., Tyynismaa, H., Euro, L., Ellonen, P., Hyötyläinen, T., Ojala, T., Hämäläinen, R. H., Tommiska, J., Raivio, T., Oresic, M., Karikoski, R., Tammela, O., Simola, K. O. J., Paetau, A., Tyni, T., & Suomalainen, A. (2011). Exome sequencing identifies mitochondrial alanyl-tRNA synthetase mutations in infantile mitochondrial cardiomyopathy. *American Journal of Human Genetics*, 88(5), 635–642. <https://doi.org/10.1016/J.AJHG.2011.04.006>
- Gray, M. W., Lang, B. F., Cedergren, R., Golding, G. B., Lemieux, C., Sankoff, D., Turmel, M., Brossard, N., Delage, E., Littlejohn, T. G., Plante, I., Rioux, P., Saint-Louis, D., Zhu, Y., & Burger, G. (1998). Genome structure and gene content in protist mitochondrial DNAs. *Nucleic Acids Research*, 26(4), 865–878. <https://doi.org/10.1093/nar/26.4.865>
- Grigalionienė, K., Burnytė, B., Balkelienė, D., Ambrozaitytė, L., & Utkus, A. (2023). Kearns-Sayre syndrome case. Novel 5,9 kb mtDNA deletion. *Molecular Genetics and Genomic Medicine*, 11(1), 1–6. <https://doi.org/10.1002/mgg3.2059>
- Guerrero, C., & Bhatia, S. (2021). FARS2 (Phenylalanyl-tRNA Synthetase 2) Deficiency: A Novel Mutation Associated with EEG Phenotype of Epilepsy of Infancy with Migrating Focal Seizures (EIMFS). *Journal of Pediatric Neurosciences*, 16(4), 323–326. https://doi.org/10.4103/JPN.JPN_207_20
- Guo, M., Chong, Y. E., Shapiro, R., Beebe, K., Yang, X. L., & Schimmel, P. (2009). Paradox of mistranslation of serine for alanine caused by AlaRS recognition dilemma. *Nature*, 462(7274), 808–812. <https://doi.org/10.1038/NATURE08612>
- Gustafsson, C. M., Falkenberg, M., & Larsson, N. G. (2016). Maintenance and Expression of Mammalian Mitochondrial DNA. *Annual Review of Biochemistry*, 85, 133–160. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV-BIOCHEM-060815-014402>
- Habibzadeh, P., Inaloo, S., Silawi, M., Dastsooz, H., Farazi Fard, M. A., Sadeghipour, F., Faghihi, Z., Rezaeian, M., Yavarian, M., Böhm, J., & Faghihi, M. A. (2019). A Novel TTC19 Mutation in a Patient With Neurological, Psychological, and Gastrointestinal Impairment. *Frontiers in Neurology*, 10. <https://doi.org/10.3389/FNEUR.2019.00944>
- Haghighi, A., Haack, T. B., Atiq, M., Mottaghi, H., Haghighi-Kakhki, H., Bashir, R. A., Ahting, U., Feichtinger, R. G., Mayr, J. A., Rötig, A., Lebre, A. S., Klopstock, T., Dworschak, A., Pulido, N., Saeed, M. A., Saleh-Gohari, N., Holzerova, E., Chinnery, P. F., Taylor, R. W., & Prokisch, H. (2014). Sengers syndrome: Six novel AGK mutations in seven new families and review of the phenotypic and mutational spectrum of 29 patients. *Orphanet Journal of Rare Diseases*, 9(1), 1–12. <https://doi.org/10.1186/S13023-014-0119-3/FIGURES/4>
- Hakonen, A. H., Davidzon, G., Salemi, R., Bindoff, L. A., Van Goethem, G., DiMauro, S., Thorburn, D. R., & Suomalainen, A. (2007). Abundance of the POLG disease mutations in Europe, Australia, New Zealand, and the United States explained by

- single ancient European founders. *European Journal of Human Genetics : EJHG*, 15(7), 779–783. <https://doi.org/10.1038/SJ.EJHG.5201831>
- Hikmat, O., Tzoulis, C., Chong, W. K., Chentouf, L., Klingenberg, C., Fratter, C., Carr, L. J., Prabhakar, P., Kumaraguru, N., Gissen, P., Cross, J. H., Jacques, T. S., Taanman, J.-W., Bindoff, L. A., & Rahman, S. (2017). The clinical spectrum and natural history of early-onset diseases due to DNA polymerase gamma mutations. *Genetics in Medicine : Official Journal of the American College of Medical Genetics*, 19(11), 1217–1225. <https://doi.org/10.1038/gim.2017.35>
- Holt, I. J. (2010). Zen and the art of mitochondrial DNA maintenance. *Trends in Genetics*, 26(3), 103–109. <https://doi.org/10.1016/J.TIG.2009.12.011>
- Holt, I. J., Lorimer, H. E., & Jacobs, H. T. (2000). Coupled leading- and lagging-strand synthesis of mammalian mitochondrial DNA. *Cell*, 100(5), 515–524. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)80688-1](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)80688-1)
- Hong, C. M., Na, J. H., Park, S., & Lee, Y. M. (2020). Clinical Characteristics of Early-Onset and Late-Onset Leigh Syndrome. *Frontiers in Neurology*, 11. <https://doi.org/10.3389/FNEUR.2020.00267>
- Huttenlocher, P. R., Solitare, G. B., & Adams, G. (1976). Infantile diffuse cerebral degeneration with hepatic cirrhosis. *Archives of Neurology*, 33(3), 186–192. <https://doi.org/10.1001/ARCHNEUR.1976.00500030042009>
- Hynynen, J., Pokka, T., Komulainen-Ebrahim, J., Myllynen, P., Kärppä, M., Pylvänen, L., Kälviäinen, R., Sokka, A., Jyrkilä, A., Lähdetie, J., Haataja, L., Mäkitalo, A., Ylikotila, P., Eriksson, K., Haapala, P., Ansakorpi, H., Hinttala, R., Vieira, P., Majamaa, K., ... Uusimaa, J. (2018). Variants p.Q1236H and p.E1143G in mitochondrial DNA polymerase gamma POLG1 are not associated with increased risk for valproate-induced hepatotoxicity or pancreatic toxicity: A retrospective cohort study of patients with epilepsy. *Epilepsia*, 59(11), 2125–2136. <https://doi.org/10.1111/epi.14568>
- Jha, R., Patel, H., Dubey, R., Goswami, J. N., Bhagwat, C., Saini, L., K. Manokaran, R., John, B. M., Kovilapu, U. B., Mohimen, A., Saxena, A., & Sondhi, V. (2022). Clinical and molecular spectrum associated with Polymerase-γ related disorders. *Journal of Child Neurology*, 37(4), 246–255. <https://doi.org/10.1177/08830738211067065>
- Johnston, I. G., Burgstaller, J. P., Havlicek, V., Kolbe, T., Rüllicke, T., Brem, G., Poulton, J., & Jones, N. S. (2015). Stochastic modelling, Bayesian inference, and new in vivo measurements elucidate the debated mtDNA bottleneck mechanism. *ELife*, 4(JUNE2015). <https://doi.org/10.7554/ELIFE.07464>
- Kahlhöfer, F., Gansen, M., & Zickermann, V. (2021). Accessory Subunits of the Matrix Arm of Mitochondrial Complex I with a Focus on Subunit NDUFS4 and Its Role in Complex I Function and Assembly. *Life (Basel, Switzerland)*, 11(5). <https://doi.org/10.3390/LIFE11050455>
- Kang, Y., Stroud, D. A., Baker, M. J., De Souza, D. P., Frazier, A. E., Liem, M., Tull, D., Mathivanan, S., McConville, M. J., Thorburn, D. R., Ryan, M. T., & Stojanovski, D. (2017). Sengers Syndrome-Associated Mitochondrial Acylglycerol Kinase Is a Subunit of the Human TIM22 Protein Import Complex. *Molecular Cell*, 67(3), 457–470.e5. <https://doi.org/10.1016/J.MOLCEL.2017.06.014>
- Karadimas, C. L., Vu, T. H., Holve, S. A., Chronopoulou, P., Quinzii, C., Johnsen, S. D., Kurth, J., Eggers, E., Palenzuela, L., Tanji, K., Bonilla, E., De Vivo, D. C., DiMauro, S., & Hirano, M. (2006). Navajo neurohepatopathy is caused by a mutation in the MPV17 gene. *American Journal of Human Genetics*, 79(3), 544–

548. <https://doi.org/10.1086/506913>
- Kaufmann, P., Engelstad, K., Wei, Y., Kulikova, R., Oskoui, M., Sproule, D. M., Battista, V., Koenigsberger, D. Y., Pascual, J. M., Shanske, S., Sano, M., Mao, X., Hirano, M., Shungu, D. C., Dimauro, S., & De Vivo, D. C. (2011). Natural history of MELAS associated with mitochondrial DNA m.3243A>G genotype. *Neurology*, 77(22), 1965–1971. <https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e31823a0c7f>
- Kevelam, S. H., Klouwer, F. C. C., Fock, J. M., Salomons, G. S., Bugiani, M., & Van Der Knaap, M. S. (2016). Absent Thalami Caused by a Homozygous EARS2 Mutation: Expanding Disease Spectrum of LTBL. *Neuropediatrics*, 47(1), 64–67. <https://doi.org/10.1055/S-0035-1568987>
- Koch, J., Freisinger, P., Feichtinger, R. G., Zimmermann, F. A., Rauscher, C., Wagentristl, H. P., Konstantopoulou, V., Seidl, R., Haack, T. B., Prokisch, H., Ahting, U., Sperl, W., Mayr, J. A., & Maier, E. M. (2015). Mutations in TTC19: expanding the molecular, clinical and biochemical phenotype. *Orphanet Journal of Rare Diseases*, 10, 40. <https://doi.org/10.1186/s13023-015-0254-5>
- Konovalova, S., & Tyynismaa, H. (2013). Mitochondrial aminoacyl-tRNA synthetases in human disease. *Molecular Genetics and Metabolism*, 108(4), 206–211. <https://doi.org/10.1016/J.YMGME.2013.01.010>
- Korhonen, J. A., Pham, X. H., Pellegrini, M., & Falkenberg, M. (2004). Reconstitution of a minimal mtDNA replisome in vitro. *The EMBO Journal*, 23(12), 2423–2429. <https://doi.org/10.1038/SJ.EMBOJ.7600257>
- Kühlbrandt, W. (2015). Structure and function of mitochondrial membrane protein complexes. *BMC Biology*, 13(1). <https://doi.org/10.1186/S12915-015-0201-X>
- Kukat, C., Davies, K. M., Wurm, C. A., Spähr, H., Bonekamp, N. A., Kühl, I., Joos, F., Polosa, P. L., Park, C. B., Posse, V., Falkenberg, M., Jakobs, S., Kühlbrandt, W., & Larsson, N. G. (2015). Cross-strand binding of TFAM to a single mtDNA molecule forms the mitochondrial nucleoid. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 112(36), 11288–11293. <https://doi.org/10.1073/PNAS.1512131112>
- Kukat, C., Wurm, C. A., Spähr, H., Falkenberg, M., Larsson, N. G., & Jakobs, S. (2011). Super-resolution microscopy reveals that mammalian mitochondrial nucleoids have a uniform size and frequently contain a single copy of mtDNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108(33), 13534–13539. <https://doi.org/10.1073/PNAS.1109263108>
- Lackner, L. L. (2014). Shaping the dynamic mitochondrial network. *BMC Biology*, 12. <https://doi.org/10.1186/1741-7007-12-35>
- Lake, N. J., Compton, A. G., Rahman, S., & Thorburn, D. R. (2016). Leigh syndrome: One disorder, more than 75 monogenic causes. *Annals of Neurology*, 79(2), 190–203. <https://doi.org/10.1002/ANA.24551>
- LEIGH, D. (1951). Subacute necrotizing encephalomyelopathy in an infant. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*, 14(3), 216–221. <https://doi.org/10.1136/JNNP.14.3.216>
- Lenaers, G., Hamel, C., Delettre, C., Amati-Bonneau, P., Procaccio, V., Bonneau, D., Reynier, P., & Milea, D. (2012). Dominant optic atrophy. *Orphanet Journal of Rare Diseases*, 7(1). <https://doi.org/10.1186/1750-1172-7-46>
- Lenaers, G., Neutzner, A., Le Dantec, Y., Jüschke, C., Xiao, T., Decembrini, S., Swirski, S., Kieninger, S., Agca, C., Kim, U. S., Reynier, P., Yu-Wai-Man, P., Neidhardt, J., & Wissinger, B. (2021). Dominant optic atrophy: Culprit mitochondria in the optic nerve. *Progress in Retinal and Eye Research*, 83. <https://doi.org/10.1016/J.PRETEYERES.2020.100935>

- Lightowlers, R. N., Chrzanowska-Lightowlers, Z. M., & Russell, O. M. (2020). Mitochondrial transplantation-a possible therapeutic for mitochondrial dysfunction?: Mitochondrial transfer is a potential cure for many diseases but proof of efficacy and safety is still lacking. *EMBO Reports*, 21(9). <https://doi.org/10.15252/EMBR.202050964>
- Lorenzoni, P. J., Scola, R. H., Kay, C. S. K., Silvado, C. E. S., & Werneck, L. C. (2014). When should MERRF (myoclonus epilepsy associated with ragged-red fibers) be the diagnosis? *Arquivos de Neuro-Psiquiatria*, 72(10), 803–811. <https://doi.org/10.1590/0004-282X20140124>
- Madsen, K. L., Buch, A. E., Cohen, B. H., Falk, M. J., Goldsberry, A., Goldstein, A., Karaa, A., Koenig, M. K., Muraresku, C. C., Meyer, C., O'Grady, M., Scaglia, F., Shieh, P. B., Vockley, J., Zolkipli-Cunningham, Z., Haller, R. G., & Vissing, J. (2020). Safety and efficacy of omaveloxolone in patients with mitochondrial myopathy: MOTOR trial. *Neurology*, 94(7), e687–e698. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000008861>
- Maio, N., & Rouault, T. A. (2015). Iron-sulfur cluster biogenesis in mammalian cells: New insights into the molecular mechanisms of cluster delivery. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1853(6), 1493–1512. <https://doi.org/10.1016/J.BBAMCR.2014.09.009>
- Mancuso, M., Orsucci, D., Angelini, C., Bertini, E., Carelli, V., Comi, G. Pietro, Minetti, C., Moggio, M., Mongini, T., Servidei, S., Toninc, P., Toscano, A., Uziel, G., Bruno, C., Ienco, E. C., Filosto, M., Lamperti, C., Martinelli, D., Moroni, I., ... Siciliano, G. (2013). Phenotypic heterogeneity of the 8344A>G mtDNA “MERRF” mutation. *Neurology*, 80(22), 2049–2054. <https://doi.org/10.1212/WNL.0B013E318294B44C>
- Manwaring, N., Jones, M. M., Wang, J. J., Rochtchina, E., Howard, C., Mitchell, P., & Sue, C. M. (2007). Population prevalence of the MELAS A3243G mutation. *Mitochondrion*, 7(3), 230–233. <https://doi.org/10.1016/J.MITO.2006.12.004>
- Martin, W. F., Garg, S., & Zimorski, V. (2015). Endosymbiotic theories for eukaryote origin. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 370(1678). <https://doi.org/10.1098/RSTB.2014.0330>
- McCormick, E. M., Keller, K., Taylor, J. P., Coffey, A. J., Shen, L., Krotoski, D., Harding, B., Alves, C. A. P. F., Ardisson, A., Bai, R., de Barcelos, I. P., Bertini, E., Bluske, K., Christodoulou, J., Clause, A. R., Copeland, W. C., Diaz, G. A., Diodato, D., Dulik, M. C., ... Rahman, S. (2023). Expert panel curation of 113 primary mitochondrial disease genes for the Leigh syndrome spectrum. *Annals of Neurology*. <https://doi.org/10.1002/ANA.26716>
- McFarland, R., Taylor, R. W., & Turnbull, D. M. (2010). A neurological perspective on mitochondrial disease. *The Lancet Neurology*, 9(8), 829–840. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(10\)70116-2](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(10)70116-2)
- Miyahara, H., Matsumoto, S., Mokuno, K., Dei, R., Akagi, A., Mimuro, M., Iwasaki, Y., & Yoshida, M. (2019). Autopsied case with MERRF/MELAS overlap syndrome accompanied by stroke-like episodes localized to the precentral gyrus. *Neuropathology: Official Journal of the Japanese Society of Neuropathology*, 39(3), 212–217. <https://doi.org/10.1111/NEUP.12551>
- Miyake, N., Yamashita, S., Kurosawa, K., Miyatake, S., Tsurusaki, Y., Doi, H., Saitsu, H., & Matsumoto, N. (2011). A novel homozygous mutation of DARS2 may cause a severe LBSL variant. *Clinical Genetics*, 80(3), 293–296. <https://doi.org/10.1111/J.1399-0004.2011.01644.X>
- Mizuguchi, T., Nakashima, M., Kato, M., Yamada, K., Okanishi, T., Ekhilevitch, N.,

- Mandel, H., Eran, A., Toyono, M., Sawaishi, Y., Motoi, H., Shiina, M., Ogata, K., Miyatake, S., Miyake, N., Saitsu, H., & Matsumoto, N. (2017). PARS2 and NARS2 mutations in infantile-onset neurodegenerative disorder. *Journal of Human Genetics*, 62(5), 525–529. <https://doi.org/10.1038/jhg.2016.163>
- Mojtabavi, H., Fatehi, F., Shahkarami, S., Rezaei, N., & Nafissi, S. (2021). Novel Mutations of the TYMP Gene in Mitochondrial Neurogastrointestinal Encephalomyopathy: Case Series and Literature Review. *Journal of Molecular Neuroscience : MN*, 71(12), 2526–2533. <https://doi.org/10.1007/s12031-021-01822-w>
- Nakajima, J., Eminoglu, T. F., Vatansever, G., Nakashima, M., Tsurusaki, Y., Saitsu, H., Kawashima, H., Matsumoto, N., & Miyake, N. (2014). A novel homozygous YARS2 mutation causes severe myopathy, lactic acidosis, and sideroblastic anemia 2. *Journal of Human Genetics*, 59(4), 229–232. <https://doi.org/10.1038/jhg.2013.143>
- Nesbitt, V., Pitceathly, R. D. S., Turnbull, D. M., Taylor, R. W., Sweeney, M. G., Mudanohwo, E. E., Rahman, S., Hanna, M. G., & McFarland, R. (2013). The UK MRC Mitochondrial Disease Patient Cohort Study: clinical phenotypes associated with the m.3243A>G mutation--implications for diagnosis and management. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*, 84(8), 936–938. <https://doi.org/10.1136/jnnp-2012-303528>
- Ng, Y. S., Bindoff, L. A., Gorman, G. S., Klopstock, T., Kornblum, C., Mancuso, M., McFarland, R., Sue, C. M., Suomalainen, A., Taylor, R. W., Thorburn, D. R., & Turnbull, D. M. (2021). Mitochondrial disease in adults: recent advances and future promise. *The Lancet. Neurology*, 20(7), 573–584. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(21\)00098-3](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(21)00098-3)
- Nguyen, K. V., Sharief, F. S., Chan, S. S. L., Copeland, W. C., & Naviaux, R. K. (2006). Molecular diagnosis of Alpers syndrome. *Journal of Hepatology*, 45(1), 108–116. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2005.12.026>
- Nicholas Russo, S., Shah, E. G., Copeland, W. C., & Koenig, M. K. (2022). A new pathogenic POLG variant. *Molecular Genetics and Metabolism Reports*, 32. <https://doi.org/10.1016/J.YMGMR.2022.100890>
- Nikali, K., Suomalainen, A., Saharinen, J., Kuokkanen, M., Spelbrink, J. N., Lönnqvist, T., & Peltonen, L. (2005). Infantile onset spinocerebellar ataxia is caused by recessive mutations in mitochondrial proteins Twinkle and Twinky. *Human Molecular Genetics*, 14(20), 2981–2990. <https://doi.org/10.1093/HMG/DDI328>
- Nishigaki, Y., Martí, R., Copeland, W. C., & Hirano, M. (2003). Site-specific somatic mitochondrial DNA point mutations in patients with thymidine phosphorylase deficiency. *The Journal of Clinical Investigation*, 111(12), 1913–1921. <https://doi.org/10.1172/JCI17828>
- Nishigaki, Y., Martí, R., & Hirano, M. (2004). ND5 is a hot-spot for multiple atypical mitochondrial DNA deletions in mitochondrial neurogastrointestinal encephalomyopathy. *Human Molecular Genetics*, 13(1), 91–101. <https://doi.org/10.1093/HMG/DDH010>
- Orsucci, D., Ienco, E. C., Rossi, A., Siciliano, G., & Mancuso, M. (2021). Mitochondrial Syndromes Revisited. *Journal of Clinical Medicine*, 10(6), 1–18. <https://doi.org/10.3390/JCM10061249>
- Pacitti, D., Levene, M., Garone, C., Nirmalananthan, N., & Bax, B. E. (2018). Mitochondrial Neurogastrointestinal Encephalomyopathy: Into the Fourth Decade, What We Have Learned So Far. *Frontiers in Genetics*, 9. <https://doi.org/10.3389/FGENE.2018.00669>

- Pang, J., Bao, Y., Mitchell-Silbaugh, K., Veevers, J., & Fang, X. (2022). Barth Syndrome Cardiomyopathy: An Update. *Genes*, 13(4). <https://doi.org/10.3390/GENES13040656>
- Parikh, S., Goldstein, A., Koenig, M. K., Scaglia, F., Enns, G. M., Saneto, R., Anselm, I., Cohen, B. H., Falk, M. J., Greene, C., Gropman, A. L., Haas, R., Hirano, M., Morgan, P., Sims, K., Tarnopolsky, M., Van Hove, J. L. K., Wolfe, L., & DiMauro, S. (2015). Diagnosis and management of mitochondrial disease: a consensus statement from the Mitochondrial Medicine Society. *Genetics in Medicine : Official Journal of the American College of Medical Genetics*, 17(9), 689–701. <https://doi.org/10.1038/GIM.2014.177>
- Pereira, C. V., Gitschlag, B. L., & Patel, M. R. (2021). *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology Cellular mechanisms of mtDNA heteroplasmy dynamics*. <https://doi.org/10.1080/10409238.2021.1934812>
- Perkins, G. ., & Frey, T. . (2000). Recent structural insight into mitochondria gained by microscopy. *Micron (Oxford, England : 1993)*, 31(1), 97–111. [https://doi.org/10.1016/S0968-4328\(99\)00065-7](https://doi.org/10.1016/S0968-4328(99)00065-7)
- Pierce, S. B., Chisholm, K. M., Lynch, E. D., Lee, M. K., Walsh, T., Opitz, J. M., Li, W., Klevit, R. E., & King, M. C. (2011). Mutations in mitochondrial histidyl tRNA synthetase HARS2 cause ovarian dysgenesis and sensorineural hearing loss of Perrault syndrome. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108(16), 6543–6548. <https://doi.org/10.1073/PNAS.1103471108>
- Pitceathly, R. D. S., Fassone, E., Taanman, J. W., Sadowski, M., Fratter, C., Mudanohwo, E. E., Woodward, C. E., Sweeney, M. G., Holton, J. L., Hanna, M. G., & Rahman, S. (2011). Kearns-Sayre syndrome caused by defective R1/p53R2 assembly. *Journal of Medical Genetics*, 48(9), 610–617. <https://doi.org/10.1136/JMG.2010.088328>
- Pozzan, T., & Rizzuto, R. (2000). The renaissance of mitochondrial calcium transport. *European Journal of Biochemistry*, 267(17), 5269–5273. <https://doi.org/10.1046/J.1432-1327.2000.01567.X>
- Protasoni, M., & Zeviani, M. (2021). Mitochondrial structure and bioenergetics in normal and disease conditions. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(2), 1–55. <https://doi.org/10.3390/ijms22020586>
- Qin, Y., Jiang, X., Yang, Q., Zhao, J., Zhou, Q., & Zhou, Y. (2021). The Functions, Methods, and Mobility of Mitochondrial Transfer Between Cells. *Frontiers in Oncology*, 11. <https://doi.org/10.3389/FONC.2021.672781>
- Raap, A. K., Jahangir Tafrechi, R. S., van de Rijke, F. M., Pyle, A., Wählby, C., Szuhai, K., Ravelli, R. B. G., de Coo, R. F. M., Rajasimha, H. K., Nilsson, M., Chinnery, P. F., Samuels, D. C., & Janssen, G. M. C. (2012). Non-random mtDNA segregation patterns indicate a metastable heteroplasmic segregation unit in m.3243A>G cybrid cells. *PloS One*, 7(12). <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0052080>
- Rahman, S. (2020). Mitochondrial disease in children. *Journal of Internal Medicine*, 287(6), 609–633. <https://doi.org/10.1111/joim.13054>
- Rahman, S., Blok, R. B., Dahl, H. H., Danks, D. M., Kirby, D. M., Chow, C. W., Christodoulou, J., & Thorburn, D. R. (1996). Leigh syndrome: clinical features and biochemical and DNA abnormalities. *Annals of Neurology*, 39(3), 343–351. <https://doi.org/10.1002/ana.410390311>
- Rahman, Shamima, & Copeland, W. C. (2019). POLG-related disorders and their neurological manifestations. *Nature Reviews Neurology*, 15(1), 40–52.

- <https://doi.org/10.1038/s41582-018-0101-0>
- Rice, G. M., & Steiner, R. D. (2016). Inborn Errors of Metabolism (Metabolic Disorders). *Pediatrics in Review*, 37(1), 3-7,47. <https://doi.org/10.1542/pir.2014-0122>
- Riley, L. G., Cooper, S., Hickey, P., Rudinger-Thirion, J., McKenzie, M., Compton, A., Lim, S. C., Thorburn, D., Ryan, M. T., Giegé, R., Bahlo, M., & Christodoulou, J. (2010). Mutation of the mitochondrial tyrosyl-tRNA synthetase gene, YARS2, causes myopathy, lactic acidosis, and sideroblastic anemia--MLASA syndrome. *American Journal of Human Genetics*, 87(1), 52–59. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2010.06.001>
- Robberson, D. L., Kasamatsu, H., & Vinograd, J. (1972). Replication of mitochondrial DNA. Circular replicative intermediates in mouse L cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 69(3), 737–741. <https://doi.org/10.1073/PNAS.69.3.737>
- Rossignol, R., Faustin, B., Rocher, C., Malgat, M., Mazat, J. P., & Letellier, T. (2003). Mitochondrial threshold effects. *The Biochemical Journal*, 370(Pt 3), 751–762. <https://doi.org/10.1042/BJ20021594>
- Rötig, A., & Poulton, J. (2009). Genetic causes of mitochondrial DNA depletion in humans. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*, 1792(12), 1103–1108. <https://doi.org/10.1016/J.BBADIS.2009.06.009>
- Rouzier, C., Bannwarth, S., Chaussenot, A., Chevrollier, A., Verschueren, A., Bonello-Palot, N., Fragaki, K., Cano, A., Pouget, J., Pellissier, J.-F., Procaccio, V., Chabrol, B., & Paquis-Flucklinger, V. (2012). The MFN2 gene is responsible for mitochondrial DNA instability and optic atrophy “plus” phenotype. *Brain : A Journal of Neurology*, 135(Pt 1), 23–34. <https://doi.org/10.1093/brain/awr323>
- Russell, O. M., Gorman, G. S., Lightowers, R. N., & Turnbull, D. M. (2020). Mitochondrial Diseases: Hope for the Future. *Cell*, 181(1), 168–188. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2020.02.051>
- Şahin, S., Cansu, A., Kalay, E., Dinçer, T., Kul, S., Çakır, İ. M., Kamaşak, T., & Budak, G. Y. (2016). Leukoencephalopathy with thalamus and brainstem involvement and high lactate caused by novel mutations in the EARS2 gene in two siblings. *Journal of the Neurological Sciences*, 365, 54–58. <https://doi.org/10.1016/j.jns.2016.04.008>
- Sanderson, S., Green, A., Preece, M. A., & Burton, H. (2006). The incidence of inherited metabolic disorders in the West Midlands, UK. *Archives of Disease in Childhood*, 91(11), 896–899. <https://doi.org/10.1136/adc.2005.091637>
- Saneto, R. P., Cohen, B. H., Copeland, W. C., & Naviaux, R. K. (2013). Alpers-Huttenlocher syndrome. *Pediatric Neurology*, 48(3), 167–178. <https://doi.org/10.1016/J.PEDIATRNEUROL.2012.09.014>
- Saneto, R. P., & Naviaux, R. K. (2010). Polymerase gamma disease through the ages. *Developmental Disabilities Research Reviews*, 16(2), 163–174. <https://doi.org/10.1002/ddrr.105>
- Sasarman, F., Nishimura, T., Thiffault, I., & Shoubbridge, E. A. (2012). A novel mutation in YARS2 causes myopathy with lactic acidosis and sideroblastic anemia. *Human Mutation*, 33(8), 1201–1206. <https://doi.org/10.1002/HUMU.22098>
- Saudubray, J. M., Sedel, F., & Walter, J. H. (2006). Clinical approach to treatable inborn metabolic diseases: An introduction. *Journal of Inherited Metabolic Disease*, 29(2–3), 261–274. <https://doi.org/10.1007/s10545-006-0358-0>
- Scheper, G. C., Van Der Klok, T., Van Anel, R. J., Van Berkel, C. G. M., Sissler, M.,

- Smet, J., Muravina, T. I., Serkov, S. V., Uziel, G., Bugiani, M., Schiffmann, R., Krägeloh-Mann, I., Smeitink, J. A. M., Florentz, C., Van Coster, R., Pronk, J. C., & Van Der Knaap, M. S. (2007). Mitochondrial aspartyl-tRNA synthetase deficiency causes leukoencephalopathy with brain stem and spinal cord involvement and lactate elevation. *Nature Genetics*, 39(4), 534–539. <https://doi.org/10.1038/NG2013>
- Schmidt, O., Pfanner, N., & Meisinger, C. (2010). Mitochondrial protein import: from proteomics to functional mechanisms. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 2010 11:9, 11(9), 655–667. <https://doi.org/10.1038/nrm2959>
- Schubert, M. B., & Vilarinho, L. (2020). Molecular basis of Leigh syndrome: a current look. *Orphanet Journal of Rare Diseases*, 15(1). <https://doi.org/10.1186/S13023-020-1297-9>
- Schwartz, M., & Vissing, J. (2002). Paternal Inheritance of Mitochondrial DNA. *New England Journal of Medicine*, 347(8), 576–580. <https://doi.org/10.1056/NEJMOA020350>
- Seaver, L. H., DeRoos, S., Andersen, N. J., Betz, B., Prokop, J., Lannen, N., Jordan, R., & Rajasekaran, S. (2018). Lethal NARS2-Related Disorder Associated With Rapidly Progressive Intractable Epilepsy and Global Brain Atrophy. *Pediatric Neurology*, 89, 26–30. <https://doi.org/10.1016/j.pediatrneurol.2018.07.014>
- Simon, M., Richard, E. M., Wang, X., Shahzad, M., Huang, V. H., Qaiser, T. A., Potluri, P., Mahl, S. E., Davila, A., Nazli, S., Hancock, S., Yu, M., Gargus, J., Chang, R., Al-sheqaih, N., Newman, W. G., Abdenur, J., Starr, A., Hegde, R., ... Riazuddin, S. (2015). Mutations of human NARS2, encoding the mitochondrial asparaginyl-tRNA synthetase, cause nonsyndromic deafness and Leigh syndrome. *PLoS Genetics*, 11(3). <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PGEN.1005097>
- Sofou, K., Kollberg, G., Hedberg-Oldfors, C., & Oldfors, A. (2021). The phenotypic variability and natural history of NARS2 associated disease. *European Journal of Paediatric Neurology : EJPN : Official Journal of the European Paediatric Neurology Society*, 31, 31–37. <https://doi.org/10.1016/j.ejpn.2021.01.012>
- Sofou, K., Kollberg, G., Holmström, M., Dávila, M., Darin, N., Gustafsson, C. M., Holme, E., Oldfors, A., Tulinius, M., & Asin-Cayuela, J. (2015). Whole exome sequencing reveals mutations in NARS2 and PARS2, encoding the mitochondrial asparaginyl-tRNA synthetase and prolyl-tRNA synthetase, in patients with Alpers syndrome. *Molecular Genetics & Genomic Medicine*, 3(1), 59–68. <https://doi.org/10.1002/MGG3.115>
- Sofou, K., Moslemi, A.-R., Kollberg, G., Bjarnadóttir, I., Oldfors, A., Nennesmo, I., Holme, E., Tulinius, M., & Darin, N. (2012). Phenotypic and genotypic variability in Alpers syndrome. *European Journal of Paediatric Neurology : EJPN : Official Journal of the European Paediatric Neurology Society*, 16(4), 379–389. <https://doi.org/10.1016/j.ejpn.2011.12.006>
- Spinazzola, A. (2011). Mitochondrial DNA mutations and depletion in pediatric medicine. *Seminars in Fetal & Neonatal Medicine*, 16(4), 190–196. <https://doi.org/10.1016/j.siny.2011.04.011>
- Steenweg, M. E., Ghezzi, D., Haack, T., Abbink, T. E. M., Martinelli, D., van Berkel, C. G. M., Bley, A., Diogo, L., Grillo, E., Te Water Naudé, J., Strom, T. M., Bertini, E., Prokisch, H., van der Knaap, M. S., & Zeviani, M. (2012). Leukoencephalopathy with thalamus and brainstem involvement and high lactate “LTBL” caused by EARS2 mutations. *Brain : A Journal of Neurology*, 135(Pt 5), 1387–1394. <https://doi.org/10.1093/brain/aws070>
- Stenton, S. L., & Prokisch, H. (2020). Genetics of mitochondrial diseases: Identifying

- mutations to help diagnosis. *EBioMedicine*, 56. <https://doi.org/10.1016/J.EBIOM.2020.102784>
- Štěrbová, K., Vlčková, M., Hansíková, H., Sebroňová, V., Sedláčková, L., Pavlíček, P., & Lašuthová, P. (2021). Novel variants in the NARS2 gene as a cause of infantile-onset severe epilepsy leading to fatal refractory status epilepticus: case study and literature review. *Neurogenetics*, 22(4), 359–364. <https://doi.org/10.1007/S10048-021-00659-0>
- Stewart, J. B., & Chinnery, P. F. (2015). The dynamics of mitochondrial DNA heteroplasmy: implications for human health and disease. *Nature Reviews. Genetics*, 16(9), 530–542. <https://doi.org/10.1038/NRG3966>
- Stiles, A. R., Simon, M. T., Stover, A., Eftekharian, S., Khanlou, N., Wang, H. L., Magaki, S., Lee, H., Partynski, K., Dorrani, N., Chang, R., Martinez-Agosto, J. A., & Abdenur, J. E. (2016). Mutations in TFAM, encoding mitochondrial transcription factor A, cause neonatal liver failure associated with mtDNA depletion. *Molecular Genetics and Metabolism*, 119(1–2), 91–99. <https://doi.org/10.1016/j.ymgme.2016.07.001>
- Štufková, H., Kolářová, H., Lokvencová, K., Honzík, T., Zeman, J., Hansíková, H., & Tesařová, M. (2022). A Novel MTTK Gene Variant m.8315A>C as a Cause of MERRF Syndrome. *Genes*, 13(7). <https://doi.org/10.3390/GENES13071245>
- Tait, S. W. G., & Green, D. R. (2013). Mitochondrial Regulation of Cell Death. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 5(9), a008706. <https://doi.org/10.1101/CSHPERSPECT.A008706>
- Talim, B., Pyle, A., Griffin, H., Topaloglu, H., Tokatli, A., Keogh, M. J., Santibanez-Koref, M., Chinnery, P. F., & Horvath, R. (2013). Multisystem fatal infantile disease caused by a novel homozygous EARS2 mutation. *Brain : A Journal of Neurology*, 136(Pt 2). <https://doi.org/10.1093/BRAIN/AWS197>
- Taskin, B. D., Karalok, Z. S., Gurkas, E., Aydin, K., Aydogmus, U., Ceylaner, S., Karaer, K., Yilmaz, C., & Pearl, P. L. (2016). Early-Onset Mild Type Leukoencephalopathy Caused by a Homozygous EARS2 Mutation. *Journal of Child Neurology*, 31(7), 938–941. <https://doi.org/10.1177/0883073816630087>
- Taylor, R. W., Pyle, A., Griffin, H., Blakely, E. L., Duff, J., He, L., Smertenko, T., Alston, C. L., Neeve, V. C., Best, A., Yarham, J. W., Kirschner, J., Schara, U., Talim, B., Topaloglu, H., Baric, I., Holinski-Feder, E., Abicht, A., Czermin, B., ... Chinnery, P. F. (2014). Use of whole-exome sequencing to determine the genetic basis of multiple mitochondrial respiratory chain complex deficiencies. *JAMA*, 312(1), 68–77. <https://doi.org/10.1001/jama.2014.7184>
- Temperley, R., Richter, R., Dennerlein, S., Lightowlers, R. N., & Chrzanowska-Lightowlers, Z. M. (2010). Hungry codons promote frameshifting in human mitochondrial ribosomes. *Science (New York, N.Y.)*, 327(5963), 301. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1180674>
- Thompson, K., Majd, H., Dallabona, C., Reinson, K., King, M. S., Alston, C. L., He, L., Lodi, T., Jones, S. A., Fattal-Valevski, A., Fraenkel, N. D., Saada, A., Haham, A., Isohanni, P., Vara, R., Barbosa, I. A., Simpson, M. A., Deshpande, C., Puusepp, S., ... Taylor, R. W. (2016). Recurrent De Novo Dominant Mutations in SLC25A4 Cause Severe Early-Onset Mitochondrial Disease and Loss of Mitochondrial DNA Copy Number. *American Journal of Human Genetics*, 99(4), 860–876. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2016.08.014>
- Tilokani, L., Nagashima, S., Paupe, V., & Prudent, J. (2018). Mitochondrial dynamics: overview of molecular mechanisms. *Essays in Biochemistry*, 62(3), 341–360. <https://doi.org/10.1042/EBC20170104>

- Vafai, S. B., & Mootha, V. K. (2012). Mitochondrial disorders as windows into an ancient organelle. *Nature*, 491(7424), 374–383. <https://doi.org/10.1038/NATURE11707>
- Valenti, D., Vacca, R. A., Moro, L., & Atlante, A. (2021). Mitochondria Can Cross Cell Boundaries: An Overview of the Biological Relevance, Pathophysiological Implications and Therapeutic Perspectives of Intercellular Mitochondrial Transfer. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(15). <https://doi.org/10.3390/IJMS22158312>
- Vanlander, A. V., Menten, B., Smet, J., De Meirleir, L., Sante, T., De Paepe, B., Seneca, S., Pearce, S. F., Powell, C. A., Vergult, S., Michotte, A., De Latter, E., Vantomme, L., Minczuk, M., & Van Coster, R. (2015). Two Siblings with Homozygous Pathogenic Splice-Site Variant in Mitochondrial Asparaginyl-tRNA Synthetase (NARS2). *Human Mutation*, 36(2), 222–231. <https://doi.org/10.1002/HUMU.22728>
- Velez-Bartolomei, F., Lee, C., & Enns, G. (2021). MERRF. *GeneReviews®*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1520/>
- Viscomi, C., & Zeviani, M. (2017). MtDNA-maintenance defects: syndromes and genes. *Journal of Inherited Metabolic Disease*, 40(4), 587–599. <https://doi.org/10.1007/S10545-017-0027-5>
- Vukotic, M., Nolte, H., König, T., Saita, S., Ananjew, M., Krüger, M., Tatsuta, T., & Langer, T. (2017). Acylglycerol Kinase Mutated in Sengers Syndrome Is a Subunit of the TIM22 Protein Translocase in Mitochondria. *Molecular Cell*, 67(3), 471–483.e7. <https://doi.org/10.1016/J.MOLCEL.2017.06.013>
- Walker, M. A., Mohler, K. P., Hopkins, K. W., Oakley, D. H., Sweetser, D. A., Ibba, M., Frosch, M. P., & Thibert, R. L. (2016). Novel Compound Heterozygous Mutations Expand the Recognized Phenotypes of FARS2-Linked Disease. *Journal of Child Neurology*, 31(9), 1127–1137. <https://doi.org/10.1177/0883073816643402>
- Wallace, D. C., & Chalkia, D. (2013). Mitochondrial DNA genetics and the heteroplasmy conundrum in evolution and disease. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 5(11). <https://doi.org/10.1101/CSHPERSPECT.A021220>
- Wang, B., Du, Z., Shan, G., Yan, C., Zhang, V. W., & Li, Z. (2021). Case Report: Two Chinese Infants of Sengers Syndrome Caused by Mutations in AGK Gene. *Frontiers in Pediatrics*, 9. <https://doi.org/10.3389/FPED.2021.639687>
- Wedatilake, Y., Brown, R. M., McFarland, R., Yapfite-Lee, J., Morris, A. A. M., Champion, M., Jardine, P. E., Clarke, A., Thorburn, D. R., Taylor, R. W., Land, J. M., Forrest, K., Dobbie, A., Simmons, L., Aasheim, E. T., Ketteridge, D., Hanrahan, D., Chakrapani, A., Brown, G. K., & Rahman, S. (2013). SURF1 deficiency: a multi-centre natural history study. *Orphanet Journal of Rare Diseases*, 8, 96. <https://doi.org/10.1186/1750-1172-8-96>
- Wong, L.-J. C., Naviaux, R. K., Brunetti-Pierri, N., Zhang, Q., Schmitt, E. S., Truong, C., Milone, M., Cohen, B. H., Wical, B., Ganesh, J., Basinger, A. A., Burton, B. K., Swoboda, K., Gilbert, D. L., Vanderver, A., Saneto, R. P., Maranda, B., Arnold, G., Abdenur, J. E., ... Copeland, W. C. (2008). Molecular and clinical genetics of mitochondrial diseases due to POLG mutations. *Human Mutation*, 29(9), E150–72. <https://doi.org/10.1002/humu.20824>
- Xin, J. C., & Butow, R. A. (2005). The organization and inheritance of the mitochondrial genome. *Nature Reviews Genetics*, 6(11), 815–825. <https://doi.org/10.1038/nrg1708>
- Yamashita, S., Miyake, N., Matsumoto, N., Osaka, H., Iai, M., Aida, N., & Tanaka, Y.

- (2013). Neuropathology of leukoencephalopathy with brainstem and spinal cord involvement and high lactate caused by a homozygous mutation of DARS2. *Brain & Development*, 35(4), 312–316. <https://doi.org/10.1016/J.BRAINDEV.2012.05.007>
- Yasukawa, T., Reyes, A., Cluett, T. J., Yang, M. Y., Bowmaker, M., Jacobs, H. T., & Holt, I. J. (2006). Replication of vertebrate mitochondrial DNA entails transient ribonucleotide incorporation throughout the lagging strand. *The EMBO Journal*, 25(22), 5358–5371. <https://doi.org/10.1038/SJ.EMBOJ.7601392>
- Yatsuga, S., Povalko, N., Nishioka, J., Katayama, K., Kakimoto, N., Matsuishi, T., Kakuma, T., & Koga, Y. (2012). MELAS: a nationwide prospective cohort study of 96 patients in Japan. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1820(5), 619–624. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2011.03.015>
- Yatsuga, S., & Suomalainen, A. (2012). Effect of bezafibrate treatment on late-onset mitochondrial myopathy in mice. *Human Molecular Genetics*, 21(3), 526–535. <https://doi.org/10.1093/HMG/DDR482>
- Yoshimi, A., Ishikawa, K., Niemeyer, C., & Grünert, S. C. (2022). Pearson syndrome: a multisystem mitochondrial disease with bone marrow failure. *Orphanet Journal of Rare Diseases*, 17(1), 1–11. <https://doi.org/10.1186/S13023-022-02538-9/TABLES/2>
- Zhang, H., Burr, S. P., & Chinnery, P. F. (2018). The mitochondrial DNA genetic bottleneck: inheritance and beyond. *Essays in Biochemistry*, 62(3), 225–234. <https://doi.org/10.1042/EBC20170096>