ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΚΥΤΤΑΡΟΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΚΑΙ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ»

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

«ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΒΑΣΗ ΜΙΤΟΧΟΝΔΡΙΑΚΩΝ ΝΕΥΡΟΛΟΓΙΚΩΝ ΝΟΣΗΜΑΤΩΝ»

ΛΑΪΔΟΥ ΣΤΑΜΑΤΙΑ
ΒΙΟΛΟΓΟΣ

ΛΑΡΙΣΑ
ΙΟΥΝΙΟΣ 2014

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
06/05/2024 06:07:01 EEST - 3.143.254.184

ΔΙΕΥΘΥΝΤΡΙΑ ΤΟΥ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΟΣ
ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ Α. ΤΣΕΖΟΥ

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

ΔΗΜΑΣ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ
ΓΙΑΠΙΤΖΑΚΗΣ ΧΡΗΣΤΟΣ
ΤΣΕΖΟΥ ΑΣΠΑΣΙΑ

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
06/05/2024 06:07:01 EEST - 3.143.254.184

μελετᾶν οὖν χρὴ τὰ ποιοῦντα
τὴν εὐδαιμονίαν, εἴ περ παρούσης μὲν
αὐτῆς πάντα ἔχομεν, ἀπούσης δὲ πάντα
πράττομεν εἰς τὸ ταύτην ἔχειν
Επίκουρος

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
06/05/2024 06:07:01 EEST - 3.143.254.184

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

Α. ΠΕΡΙΛΗΨΗ....5
Β. ΕΙΣΑΓΩΓΗ....6
Γ. ΤΟ ΜΙΤΟΧΟΝΔΡΙΟ ΩΣ ΟΡΓΑΝΙΔΙΟ....8
1. Δομή μιτοχονδρίου....8
2.Μιτοχονδριακές λειτουργίες....9
3. Το μιτοχονδριακό DNA....11
4.Το φαινόμενο της ετεροπλασμίας....17
Δ.ΜΙΤΟΧΟΝΔΡΙΑΚΕΣ ΝΕΥΡΟΛΟΓΙΚΕΣ ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ....19
1.Κληρονομική οπτική ατροφία του Leber (Σύνδρομο LHON)....19
2.Μιτοχονδριακή μυοπάθεια και μυοκλονική επιληψία με ερυθρές ρακκώδεις ίνες (Σύνδρομο MERRF)....22
3.Μιτοχονδριακή μυοπάθεια, εγκεφαλοπάθεια, γαλακτική οξέωση και αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο (Σύνδρομο MELAS)....24
4.Σύνδρομο Kearns – Sayre (KSS)....25
5.Προϊούσα εξωτερική οφθαλμοπληγία (PEO)....27
6.Άποιος διαβήτης, σακχαρώδης διαβήτης, οπτική ατροφία και νευροαισθητήριος βαρηκοΐα (Σύνδρομο Wolfram)....29
7.Μιτοχονδριακή νευρογαστρεντερική εγκεφαλοπάθεια....30
(Σύνδρομο MINGIE)....30
Ε.ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΕΣ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΕΙΣ ΜΙΤΟΧΟΝΔΡΙΑΚΩΝ ΑΣΘΕΝΕΙΩΝ....34
ΣΤ.ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ....39
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ....41

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
06/05/2024 06:07:01 EEST - 3.143.254.184

Α. ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Τα μιτοχόνδρια είναι υποκυτταρικά οργανίδια που κατέχουν ένα κεντρικό ρόλο στη λειτουργία του κυττάρου και ποικίλες λειτουργίες του και μεταβολικά μονοπάτια συντελούν στην ιδιότητα του αυτή. Οι λειτουργίες αυτές, σε μεγαλύτερο ή σε μικρότερο βαθμό συνδέονται με το σύστημα της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης. Οι μιτοχονδριακές νευρολογικές ασθένειες αποτελούν διαταραχές του συστήματος αυτού και εμφανίζουν ιδιαίτερη ετερογένεια τόσο σε επίπεδο φαινοτυπικής έκφρασης όσο και σε επίπεδο γενοτυπικής ποικιλότητας. Αποτελούν νοσήματα τα οποία μπορούν να προκληθούν από μεταλλαγές είτε στο μιτοχονδριακό είτε στο πυρηνικό γονιδίωμα, ενώ είναι τα μοναδικά νοσήματα που υφίστανται αυτό το διπλό έλεγχο. Για την εκδήλωση του κάθε μιτοχονδριακού νοσήματος είναι απαραίτητο η αναλογία μεταλλαγμένων και φυσιολογικών μορίων mtDNA να ξεπεράσει ένα συγκεκριμένο όριο, ειδικό για κάθε νόσημα. Στα μιτοχονδριακά νοσήματα δεν προσβάλλονται όλοι οι ιστοί στον ίδιο βαθμό καθώς η κληρονομούμενες μεταλλαγές κυρίως του mtDNA οδηγούν στη δημιουργία περιοχών διαφορετικής ευαισθησίας στους ιστούς με αποτέλεσμα να γίνονται ευάλωτοι στη μιτοχονδριακή ενεργειακή ανεπάρκεια και να δημιουργούνται διαφορετικοί κλινικοί φαινότυποι. Η ετερογένεια των συμπτωμάτων δυσχεραίνει τόσο την διάγνωση όσο και την εύρεση αποτελεσματικής θεραπείας.

Στην παρούσα εργασία παρατίθενται τα συχνότερα μιτοχονδριακά νοσήματα καθώς και τα γενετικά και κλινικά χαρακτηριστικά τους.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
06/05/2024 06:07:01 EEST - 3.143.254.184

Β. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Οι μιτοχονδριακές ασθένειες αποτελούν μία ετερογενή ομάδα διαταραχών οι οποίες χαρακτηρίζονται κυρίως από διαταραχές στην παραγωγή ενέργειας (Pearce et al., 2012). Μια μιτοχονδριακή νόσος από γενετικής άποψης μπορεί να προκληθεί με έναν από τους ακόλουθους μηχανισμούς (Zeviani et al. 1989) (α) μεταλλαγές στα γονίδια του μιτοχονδριακού DNA που κωδικοποιούν πρωτεΐνες, rRNAs ή tRNAs, (β) βλάβες στη μεταγραφή ή τη μετάφραση των μιτοχονδριακών πρωτεϊνών που κωδικοποιούνται από το πυρηνικό DNA, (γ) βλάβες στη μετα-μεταφραστική διαδικασία των πρωτεϊνών που έχουν συντεθεί στο κυτταρόπλασμα, (δ) βλάβες σε έμμεσους μηχανισμούς που αφορούν σε μη πρωτεϊνικά συστατικά των μιτοχονδρίων, όπως τις προσθετικές ομάδες ή το λιπιδικό περιβάλλον των μεμβρανικών ενζύμων, (ε) βλάβες σε παράγοντες που κωδικοποιούνται από τον πυρήνα και ελέγχουν την έκφραση των μιτοχονδριακών γονιδίων. Τα νοσήματα που σε μεταλλαγές των μιτοχονδριακών γονιδίων ακολουθούν τους νόμους της μητρικής μεταβίβασης ενώ όλες οι ασθένειες που οφείλονται στους υπόλοιπους μηχανισμούς μεταβιβάζονται σύμφωνα με τους κλασικούς Μενδελικούς νόμους.

Τα μιτοχονδριακά νοσήματα περιλαμβάνουν μία μεγάλη ποικιλία κλινικών εκδηλώσεων και ιστοχημικών χαρακτηριστικών που αφορούν κυρίως ιστούς οι οποίοι έχουν μεγάλες απαιτήσεις σε ενέργεια, όπως οι μύες, ο εγκέφαλος και η καρδιά, με διαφορετικό όμως βιοενεργειακό ουδό. Το γεγονός αυτό, σε συνδυασμό με τους διαφορετικούς τύπους κληρονομικότητας που ακολουθούν, οδηγεί στην εκδήλωση διαφόρων φαινοτύπων (DiMauro and Gurgel-Giannetti, 2005). Έτσι, είναι δυνατόν η ίδια μεταλλαγή του mtDNA να προκαλεί εντελώς διαφορετικούς φαινοτύπους όπως και από την άλλη μεριά, διαφορετικές μεταλλαγές να προκαλούν τον ίδιο φαινότυπο (Wallace, 1999). Το γεγονός αυτό προκαλεί δυσκολίες στην ταξινόμηση τους, γι’ αυτό και υπάρχουν διάφορες ταξινομήσεις ανάλογα με το γενετικό τους έλλειμμα, τις κλινικές εκδηλώσεις, την κληρονομικότητα και τις βιοχημικές διαταραχές.

Κατά συνθήκη, ο όρος μιτοχονδριακές ασθένειες αναφέρεται σε διαταραχές της λειτουργίας του συστήματος οξειδωτικής φωσφορυλίωσης του μιτοχονδρίου και συγκεκριμένα σε διαταραχές της αναπνευστικής αλυσίδας, η

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
06/05/2024 06:07:01 EEST - 3.143.254.184

οποία αποτελεί και το μοναδικό μονοπάτι του κύτταρου που υπόκειται σε διπλό έλεγχο τόσο από το μιτοχονδριακό όσο και από το πυρηνικό γονιδίωμα. Μέχρι σχετικά πρόσφατα , οι μιτοχονδριακές διαταραχές θεωρούνταν ασαφείς και σπάνιες ασθένειες οι οποίες πρόσβαλαν ένα με δύο άτομα ανά εκατομμύριο. Μόνο ένας περιορισμένος αριθμός κέντρων παγκοσμίως διέθετε την κλινική δυνατότητα και τον εργαστηριακό εξοπλισμό έτσι ώστε να εξειδικεύεται στη μιτοχονδριακή ιατρική (Schaefer et al. 2004). Με την ολοκλήρωση όμως της αλληλούχισης του μιτοχονδριακού γονιδιώματος και την αναγνώριση των παθογενών μιτοχονδριακών μεταλλαγών το ενδιαφέρον για τις μιτοχονδριακές ασθένειες αυξήθηκε. Οι γενετικές διαταραχές της μιτοχονδριακής αναπνευστικής αλυσίδας αποτελούν πλέον την πιο συχνή ομάδα συγγενών βλαβών του μεταβολισμού , προσβάλλοντας τουλάχιστον 1 στα 5000 άτομα (Skladal et al. 2003).

Η διερεύνηση και η διαχείριση των συγκεκριμένων νοσημάτων θέτει πολλαπλά θέματα σε διαφορετικά επίπεδα με κυριότερο αυτό της διάγνωσης. Η μεγάλη ποικιλομορφία τους καθώς επηρεάζουν σχεδόν όλα τα όργανα του σώματος, μεμονωμένα ή σε συνδυασμό, καθώς και η ποικίλη ηλικία εμφάνισης των συμπτωμάτων δυσχεραίνει τη γρήγορη και αποτελεσματική διάγνωση τους. Σε περίπτωση που υπάρχει η υποψία μιτοχονδριακής προέλευσης της ασθένειας, η πρώτη απόφαση είναι η εύρεση του περισσότερο αποτελεσματικού, λιγότερο επεμβατικού και πιο οικονομικού τρόπου διάγνωσης (Thorburn et al. 2004). Παρά την υψηλή συχνότητα εμφάνισης τους, δεν έχει βρεθεί ακόμα πλήρως αποτελεσματική θεραπεία για το σύνολο των μιτοχονδριακών ασθενειών (Schon et al. 2010).

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
06/05/2024 06:07:01 EEST - 3.143.254.184

Γ. ΤΟ ΜΙΤΟΧΟΝΔΡΙΟ ΩΣ ΟΡΓΑΝΙΔΙΟ

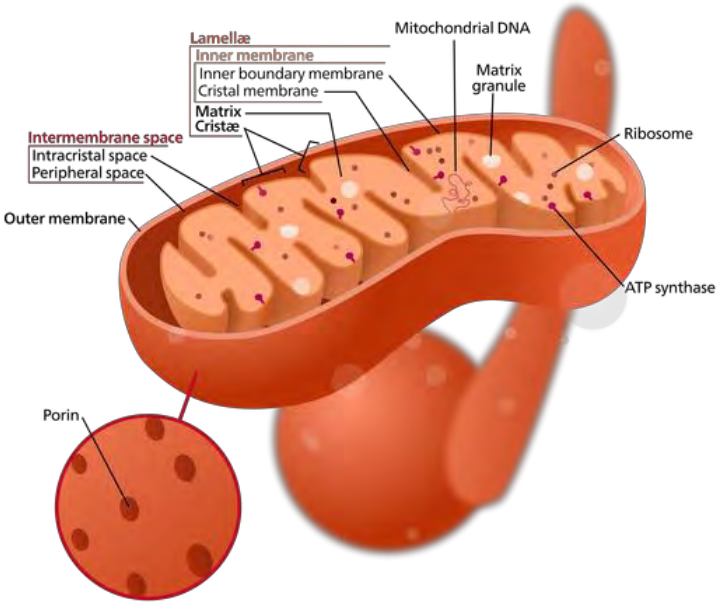
1. Δομή μιτοχονδρίου

Τα μιτοχόνδρια είναι υποκυτταρικά οργανίδια που βρίσκονται στο σύνολο σχεδόν των κυτταρικών τύπων του ανθρώπινου σώματος. Έχουν σχήμα κυλινδρικό ή οωειδές με διάμετρο 0,5 – 5 μm και μήκος 2 – 8 μm. Πρόκειται για διπλομεμβρανικά οργανίδια των οποίων η εξωτερική μεμβράνη διαχωρίζει το μιτοχόνδριο από το υπόλοιπο κυτταρόπλασμα ενώ η εσωτερική μεμβράνη σχηματίζει τις μιτοχονδριακές ακρολοφίες, πολύπλοκες αναδιπλώσεις προς το εσωτερικό του μιτοχονδρίου που δε διακόπτουν τη συνέχεια του εσωτερικού χώρου. Με τον τρόπο αυτό δημιουργούνται δύο ξεχωριστά μιτοχονδριακά διαμερίσματα: ένα εσωτερικό –η μήτρα– και ένα πιο περιορισμένο –το διαμεμβρανικό– μεταξύ των δύο μεμβρανών (Scheffler, 2008). Στην εσωτερική μιτοχονδριακή μεμβράνη βρίσκονται τα σύμπλοκα του συστήματος της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης, ενώ η μήτρα φιλοξενεί τις αντιδράσεις του κύκλου του κιτρικού οξέος και της οξείδωσης των λιπαρών οξέων. Η εξωτερική μιτοχονδριακή μεμβράνη είναι διαπερατή από όλα τα μικρά μόρια και ιόντα καθώς έχει στην επιφάνειά της μεγάλο αριθμό μορίων μιτοχονδριακής πορίνης, η οποία σχηματίζει πόρους και συμμετέχει στη ρυθμιζόμενη ροή των μεταβολιτών (Gray et al., 1999).

Πρόκειται για ημιαυτόνομα οργανίδια, καθώς διαθέτουν γενετικό υλικό και κωδικοποιούν μέρος των πρωτεϊνών που είναι απαραίτητες για τη λειτουργία τους. Τα μιτοχόνδρια προέρχονται βάσει του γεγονότος της ενδοσυμβίωσης μεταξύ ενός ελεύθερου οργανισμού ικανού να διεξάγει οξειδωτική φωσφορυλίωση και κάποιου άλλου κυττάρου. Η διπλή μεμβράνη του μιτοχονδρίου, το κυκλικό DNA και ο ειδικός μηχανισμός μιτοχονδριακής μεταγραφής και μετάφρασης συνηγορούν για αυτό το ενδεχόμενο (Gray, 1989). Τα μιτοχόνδρια χαρακτηρίζονται από αξιοσημείωτη ενδοκυτταρική κινητικότητα και δυνατότητα διαρκούς και δυναμικής αλλαγής σχήματος καθώς και από την ικανότητα μεταξύ τους συγχώνευσης και επαναδιαχωρισμού τους. Η κατανομή και ο προσανατολισμός των

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
06/05/2024 06:07:01 EEST - 3.143.254.184

μιτοχονδρίων μέσα στο κυτταρόπλασμα καθορίζεται από τους συνδεδεμένους σε αυτά μικροσωληνίσκους (Bereiter-Hahn, 1990).



Εικόνα 1. Απεικόνιση του μιτοχονδρίου (α) με ηλεκτρονική μικροσκοπία (Meshia and Ross, 2010) και (β) σχηματικά (τροποποιημένο από www.rosalind.info)

2.Μιτοχονδριακές λειτουργίες

Η κύρια λειτουργία των μιτοχονδρίων είναι η παραγωγή ενέργειας με τη μορφή μορίων ATP διαμέσου της αερόβιας αναπνοής (Hatefi, 1985). Επιπρόσθετα, στα μιτοχόνδρια ανήκει ο έλεγχος της ενδοκυτταρικής συγκέντρωσης ασβεστίου (Pozzan et al., 2000) καθώς και η ρύθμιση ενός τμήματος της διαδικασίας της απόπτωσης (Newmeyer and Ferguson-Miller, 2003). Αποτελούν την κύρια πηγή παραγωγής ενεργών μορφών οξυγόνου (reactive oxygen species – ROS) (Starkov, 2008) και αποτελούν το ενδοκυτταρικό τμήμα στο οποίο επιτελούνται σημαντικά βιοχημικά μονοπάτια, όπως ο κύκλος του κιτρικού οξέος και ο κύκλος της ουρίας (Scheffler, 2008). Τέλος, στα μιτοχόνδρια πραγματοποιείται η βιογένεση συμπλεγμάτων σιδήρου – χαλκού, η μοναδική συντηρημένη λειτουργία σε όλα τα ευκαρυωτικά κύτταρα (van der Giezen, 2005).

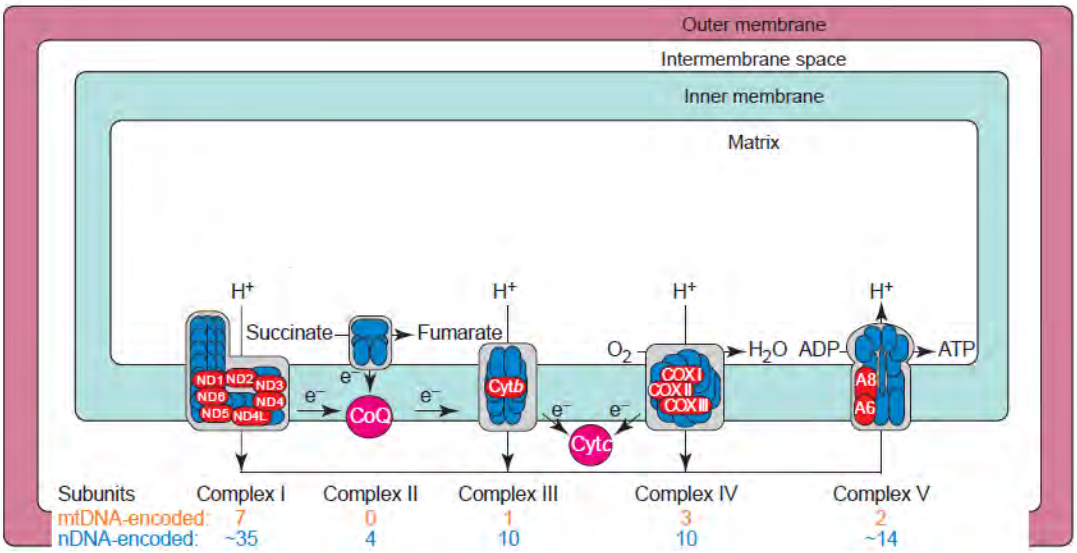
Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
06/05/2024 06:07:01 EEST - 3.143.254.184

Η σημαντικότερη λειτουργία που επιτελείται στα μιτοχόνδρια είναι η οξειδωτική φωσφορυλίωση. Πρόκειται για την διεργασία στην οποία παράγεται ATP κατά τη μεταφορά ηλεκτρονίων από το NADH ή το $FADH_2$ προς O_2 διαμέσου μιας σειράς φορέων ηλεκτρονίων (Hatefi, 1985). Το NADH και το $FADH_2$ σχηματίζονται στη κατά τη γλυκόλυση, την οξείδωση των λιπαρών οξέων και το κύκλο του κιτρικού οξέος και είναι μόρια πλούσια σε ενέργεια καθώς το κάθε ένα περιέχει ένα ζεύγος ηλεκτρονίων με υψηλό δυναμικό μεταφοράς. Όταν τα ηλεκτρόνια αυτά ενωθούν με μοριακό οξυγόνο, απελευθερώνεται μεγάλη ποσότητα ελεύθερης ενέργειας, η οποία μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την παραγωγή ATP. Η διαδικασία της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης αποτελεί και την κυριότερη πηγή ATP, επομένως και ενέργειας στους αερόβιους οργανισμούς (Saraste, 1999).

Τα ηλεκτρόνια μεταφέρονται στο O_2 μέσω μιας αλυσίδας τριών μεγάλων πρωτεϊνικών συμπλόκων, της οξειδοαναγωγάσης του ζέυγους NADH – Q (σύμπλοκο I), της οξειδοαναγωγάσης του ζεύγους Q – κυτοχρώματος c (σύμπλοκο III) και της οξειδάσης του κυτοχρώματος c (σύμπλοκο IV). Στην όλη διαδικασία συμμετέχει και το ενζυμικό σύμπλοκο αναγωγάση του ζεύγους ηλεκτρικού – Q (σύμπλοκο II) το οποίο αποτελεί τη φυσική σύνδεση της αναπνευστικής αλυσίδας με τον κύκλο του κιτρικού οξέος (Shultz and Chan, 2001). Η μεταφορά των ηλεκτρονίων ξεκινά από την οξειδοαναγωγάση του ζέυγους NADH – Q στην οξειδοαναγωγάση του ζεύγους Q – κυτοχρώματος c από την ανηγμένη μορφή του συνενζύμου Q. Το κυτόχρωμα c, μια μικρή διαλυτή πρωτεϊνη, μεταφέρει τα ηλεκτρόνια από την οξειδοαναγωγάση του ζεύγους Q – κυτοχρώματος c στην οξειδάση του κυτοχρώματος c, το τελικό συστατικό στην αλυσίδα και αυτό που καταλύει την αναγωγή του O_2 (Zaslavsky and Gennis, 2000). Η ροή των ηλεκτρονίων μέσω των πρωτεϊνικών συμπλόκων που βρίσκονται μέσα στην εσωτερική μεμβράνη των μιτοχονδρίων, οδηγεί στην άντληση πρωτονίων από τη μιτοχονδριακή μήτρα. Η προκύπτουσα ανισοκατανομή πρωτονίων μεταξύ των δύο πλευρών της εσωτερικής μεμβράνης δημιουργεί μία βαθμίδωση pH και μία διαμεμβρανική διαφορά δυναμικού ώστε να παραχθεί μια πρωτονιοκίνητη δύναμη. Η σύνθεση ATP λαμβάνει χώρα όταν τα πρωτόνια ρέουν εκ νέου προς τη μιτοχονδριακή μήτρα διαμέσου της συνθάσης ATP (σύμπλοκο V),

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
06/05/2024 06:07:01 EEST - 3.143.254.184

ένα μεγάλο ενζυμικό σύμπλοκο (~650kDa) που αποτελείται από 16 υπομονάδες (Noji and Yoshida, 2001).



Εικόνα 2. Σχηματική απεικόνιση του συστήματος οξειδωτικής φωσφορυλίωσης στο εσωτερικό των μιτοχονδρίων. Υποδεικνύεται ο αριθμός των υπομονάδων των συμπλόκων που κωδικοποιούνται από το πυρηνικό και το μιτοχονδριακό DNA (Τροποποιημένο από Schon, 2000).

Το σύστημα της μιτοχονδριακής οξειδωτικής φωσφορυλίωσης συνολικά απότελείται από περίπου 100 διαφορετικές πρωτεΐνες. Μόνο 13 από αυτές κωδικοποιούνται από το μιτοχονδριακό DNA και οι υπόλοιπές από το πυρηνικό γονιδίωμα. Όλα τα σύμπλοκα του συστήματος, εκτός από το σύμπλοκο ΙΙ έχουν διττή γενετική προέλευση (Rotig, 2011).

3. Το μιτοχονδριακό DNA

Το ανθρώπινο μιτοχονδριακό DNA (mtDNA) είναι ένα κυκλικό, δίκλωνο μόριο γενετικού υλικού, το οποίο χαρακτηρίζεται από εντυπωσιακή οικονομία χώρου καθώς περιέχει 37 γονίδια σε DNA μεγέθους 1,6 kb. Στην ιδιαίτερα σταθερή διάταξη των γονιδίων του μιτοχονδριακού DNA συμβάλλουν η συμπαγής δομή του, με την απουσία ιντρονίων και μεσογονιδιακών διαστημάτων (Rotig 2011), καθώς και η αποκλειστικά μητρική κληρονόμησή του (McFarland et al. 2002). Η μητρική κληρονόμηση οφείλεται στο γεγονός πως κατά τη διαδικασία της γονιμοποίησης εισέρχεται στο ωάριο ένας μικρός αριθμός μιτοχονδρίων από τα σπερματοζωάρια ο οποίος και εκφυλίζεται

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
06/05/2024 06:07:01 EEST - 3.143.254.184

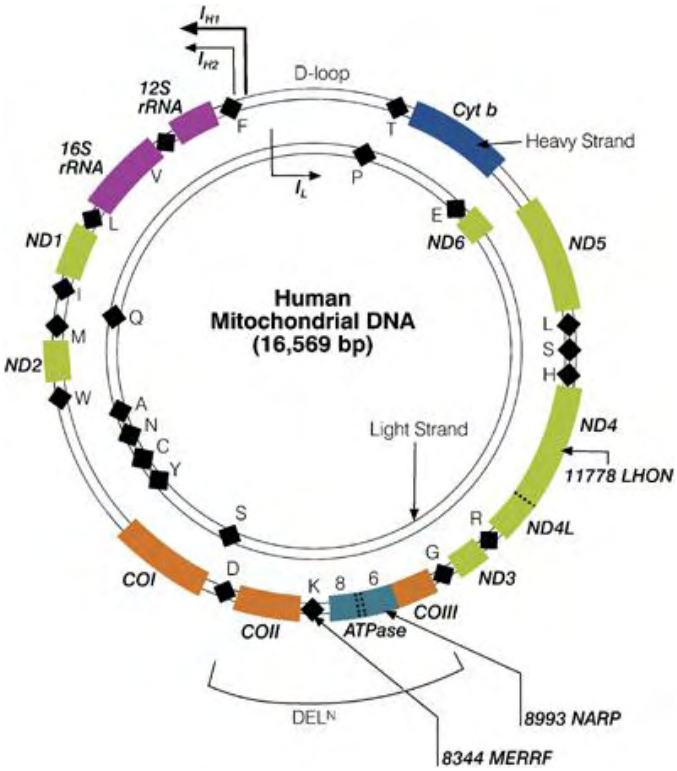
μέσω ουβικουιτίνωσης και πρωτεόλυσης αμέσως μετά από αυτήν (Al Rawi et al., 2011).

Ένας σημαντικός αριθμός των γονιδίων του mtDNA συμμετέχει στη σύνθεση της αναπνευστικής αλυσίδας των μιτοχονδρίων με 13 γονίδια να κωδικοποιούν υπομονάδες των συμπλόκων I, III, IV και V. Οι πρωτεΐνες αυτές είναι: το κυτόχρωμα b, επτά υπομονάδες της αφυδρογονάσης του NADH (ND 1, 2, 3, 4, 4L, 5 και 6), τρεις υπομονάδες της οξειδάσης του κυτοχρώματος c (CO I, II και III) και δύο υπομονάδες της μιτοχονδριακής συνθετάσης του ATP (ATPαση 6 και 8) (Εικόνα 3) (DiMauro and Hirano 2005). Ακόμα, το mtDNA περιέχει 22 γονίδια που κωδικοποιούν τα αντίστοιχα μόρια μεταφορικού RNA (tRNA) και 2 γονίδια που έχουν ως προϊόν μόρια ριβοσωμικού RNA (12S rRNA και 16S rRNA), απαραίτητα για τη διαδικασία της μετάφρασης στο εσωτερικό του οργανιδίου. Οι δύο αλυσίδες του ανθρώπινου mtDNA διαφέρουν στη νουκλεοτιδική σύσταση τους και χαρακτηρίζονται ως βαριά (heavy – H) και ελαφριά (light – L), ανάλογα με το ποσοστό γουανίνης και θυμίνης που περιέχουν έτσι όπως αυτό αντανακλάται σε διαφορετική συμπεριφορά τους σε διαβάθμιση πυκνότητας χλωριούχου καισίου (CsCl2). Η βαριά αλυσίδα κωδικοποιεί 12 από τα 13 γονίδια που έχουν πρωτεϊνικό προϊόν, τα 2 γονίδια rRNA καθώς και 14 από τα 22 tRNA γονίδια, ενώ η ελαφριά αλυσίδα κωδικοποιεί μόνο μία πρωτεΐνη και 8 t RNA γονίδια (Pearce et al. 2012).

Παρόλη τη συμπαγή οργάνωση των γονιδίων στο mtDNA , υπάρχει μία εκτενής μη κωδικοποιούσα περιοχή του (non-coding region – NCR / D-Loop) η οποία περιέχει σημαντικές ρυθμιστικές αλληλουχίες των διαδικασιών της αντιγραφής και της μεταγραφής του. Η περιοχή αυτή βρίσκεται μεταξύ των γονιδίων tRNAPro και tRNAPhe και το μέγεθος της είναι περίπου 1000bp (Gemell et al. 1996). Διακρίνεται σε τρία τμήματα: το κεντρικό τμήμα (τμήμα II) που εμφανίζεται συντηρημένο μεταξύ των διαφόρων οργανισμών και περιλαμβάνει ακολουθίες ‘’κουτιά’’ B,C,D,E, και F (Sbisa et al.1997) το τμήμα ETAS (τμήμα I) το οποίο βρίσκεται αμέσως μετά το 3΄άκρο του tRNAPro και περιλαμβάνει ακολουθίες που σχετίζονται με τον τερματισμό της αντιγραφής της H αλυσίδας (TAS) (Doda et al. 1981) και το τμήμα III που βρίσκεται πριν το 5΄άκρο του tRNAPhe και περιλαμβάνει το σημείο έναρξης της αντιγραφής της H αλυσίδας, τρία μικρά συντηρημένα τμήματα (CSB1, CSB2 και CSB3) τα

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
06/05/2024 06:07:01 EEST - 3.143.254.184

οποία συμμετέχουν στην έναρξη της αντιγραφής (Sbisa et al. 1997) καθώς και τους υποκινητές για τη μεταγραφή των H και L αλυσίδων. Τόσο το τμήμα I όσο και το τμήμα III περιλαμβάνουν επαναλήψεις VNTRS (Variable Number Tandem Repeats).



Εικόνα 3. Απεικόνιση του ανθρώπινου μιτοχονδριακού DNA καθώς και των θέσεων των γονιδίων του (Kyriakouli et al. 2008).

Το μιτοχονδριακό DNA εμφανίζεται πιο επιρρεπές σε εμφάνιση μεταλλάξεων σε σχέση με το πυρηνικό. Οι υψηλές αυτές τιμές του ρυθμού μεταλλιξέγενεσης στο mtDNA αποδίδονται (Thajeb and Dai, 2007):

α. στην έλλειψη της προστατευτικής δράσης των ιστονών

β. στην απουσία αποτελεσματικού συστήματος επιδιόρθωσης του mtDNA

γ. στην υψηλή συγκέντρωση μεταλλαξιγόνων παραγόντων (ριζίδια υπεροξειδίου, ιόντα O2 κ.α.) που προέρχονται από τις μεταβολικές λειτουργίες του μιτοχονδρίου

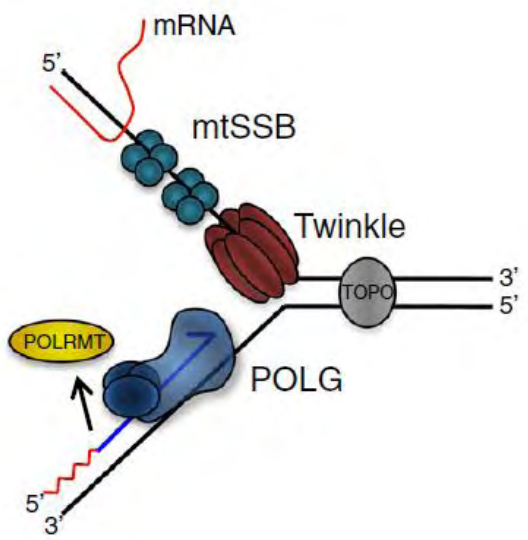
Πιο συγκεκριμένα, σχετικά με την αξιοπιστία της αντιγραφής του μιτοχονδριακού γονιδιώματος, υπολογίζεται πως η μέση πιστότητα της μιτοχονδριακής DNA πολυμεράσης είναι περίπου 1000 φορές χαμηλότερη από την αντίστοιχη αναμενόμενη για την αντιγραφή του πυρηνικού DNA (Johnson and Johnson, 2001). Επιπλέον στα μιτοχόνδρια πραγματοποιούνται περισσότεροι κύκλοι αντιγραφής με αποτέλεσμα να προκύπτουν περισσότερα

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
06/05/2024 06:07:01 EEST - 3.143.254.184

σφάλματα καθώς σε αυτά επιτελείται ένας μεγάλος όγκος εργασιών που αφορούν κυρίως στην κυτταρική αναπνοή (Rabinowitz and Swift, 1970). Τέλος έχει βρεθεί πως ο ρυθμός μεταλλαξιγένεσης της περιοχής ελέγχου (D-Loop) είναι 5-20 φορές ταχύτερος σε σχέση με το υπόλοιπο mtDNA (Sigurdatottir et al. 2000). Οι μιτοχονδριακές μεταλλάξεις διαχωρίζονται σε δύο κατηγορίες: (α) μεταλλάξεις που επηρεάζουν τη σύνθεση των μιτοχονδριακών πρωτεΐνών και (β) μεταλλάξεις που προκαλούν βλάβες σε γονίδια τα οποία κωδικοποιούν πρωτεΐνες και επηρεάζουν έτσι τη μεταφορά των μιτοχονδριακών πρωτεϊνών (DiMauro and Gurgel-Giannetti, 2005).

Αντιγραφή του mtDNA. Η αντιγραφή του μιτοχονδριακού DNA αποτελεί μία συνεχή διαδικασία η οποία, σε αντίθεση με την αντιγραφή του πυρηνικού DNA, συμβαίνει ανεξάρτητα κατά τη διάρκεια του κυτταρικού κύκλου αλλά και μετά τη μίτωση. Έχουν προταθεί δύο μοντέλα για την περιγραφή της αντιγραφής του mtDNA στους ιστούς και τα κύτταρα των θηλαστικών (Pohjoismaki and Goffart, 2011). Σύμφωνα με το πρώτο, προτείνεται πως η σύνθεση του DNA γίνεται ταυτόχρονα και στις δύο αλυσίδες, όπως συμβαίνει και στο πυρηνικό DNA, ενώ το δεύτερο μοντέλο υποστηρίζει πως υπάρχει σημαντική καθυστέρηση μεταξύ της έναρξης της αντιγραφής των δύο αλυσίδων. Σύμφωνα με το τελευταίο μοντέλο, η αλυσίδα στην οποία η έναρξη καθυστερεί, παραμένει για κάποιο διάστημα εκτεθειμένη και για το λόγο αυτό είτε καλύπτεται από πρωτεΐνες, είτε υβριδίζεται με RNA. Η βασική συσκευή της αντιγραφής του mtDNA περιλαμβάνει την DNA πολυμεράση γ (POLG), μία DNA ελικάση (Twinkle) καθώς και ειδικές μιτοχονδριακές πρωτεΐνες που προσδένονται σε μονόκλωνο DNA (mtSSB) (Εικόνα 4). Άλλοι απαραίτητοι παράγοντες για την αντιγραφή είναι τα ένζυμα RNαση H1 και DNA λιγάση III, τα οποία είναι κοινά τόσο στη μιτοχονδριακή όσο και την πυρηνική αντιγραφή. Παρόλα αυτά η πλήρης εικόνα των παραγόντων που απαιτούνται για την αντιγραφή του mtDNA παραμένει άγνωστη (Pearce et al. 2013).

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
06/05/2024 06:07:01 EEST - 3.143.254.184

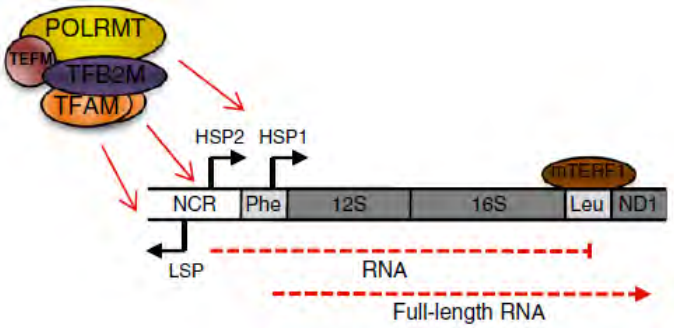


Εικόνα 4. Σχηματική αναπαράσταση της διαδικασίας της αντιγραφής στο mtDNA. Πέρα από τα βασικά ένζυμα (POLG, Twinkle ελικάση και mtSSB) η αντιγραφική συσκευή περιλαμβάνει τοποϊσομεράσες, την RNA πολυμεράση POLRMT (υπεύθυνη για την έναρξη της αντιγραφής με σύνθεση RNA) καθώς και μόρια RNA που υβριδίζονται στην εκτεθειμένη αλυσίδα (τροποποιημένο από Pearce et al. 2013).

Μεταγραφή του mtDNA. Για την παραγωγή των 11 μοριών mRNA, 22 μορίων tRNA και 2 μορίων rRNA το μιτοχονδριακό DNA βασίζεται αποκλειστικά σε τρείς υποκινητές. Οι δύο βρίσκονται στη βαριά αλυσίδα (HSP1 και HSP2) ενώ ο τρίτος (LSP) στην ελαφριά αλυσίδα. Οι υποκινητές HSP1 και LSP τοποθετούνται στη περιοχή ελέγχου NCR ενώ η θέση του υποκινητή HSP2 βρέθηκε με *in vitro* τεχνικές στο εσωτερικό του γονιδίου tRNAPhe που βρίσκεται ακριβώς δίπλα στη περιοχή NCR (Εικόνα 5) (Zollo et al. 2012). Και οι τρεις υποκινητές παράγουν πολυκιστρονικά μετάγραφα, ενώ τα προϊόντα των HSP1 και HSP2 αλληλοεπικαλύπτονται μερικώς. Η κύρια λειτουργία του HSP1 είναι η παραγωγή των δύο μορίων rRNA για την κατασκευή των μιτοχονδριακών ριβοσωμάτων με την μεταγραφή να σταματά ακριβώς μετά τα rRNA γονίδια από το μιτοχονδριακό μεταγραφικό παράγοντα λήξης mTERF1. Αντίστοιχα, από τη λειτουργία του HSP2 παράγονται 10 μόρια mRNA και 14 μόρια tRNA από ένα αρχικό μετάγραφο με μήκος σχεδόν ίδιο με το συνολικό mtDNA (Bonawitz and Clayton, 2006). Ο υποκινητής LSP έχει ως προϊόν ένα μετάγραφο με μέγεθος περίπου ίσο με τα δύο τρίτα του γονιδιώματος το οποίο κωδικοποιεί μία μοναδική πρωτεΐνη (ND6) και τα

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
06/05/2024 06:07:01 EEST - 3.143.254.184

υπόλοιπα 8 μόρια tRNA. Η συσκευή της μιτοχονδριακής μεταγραφής περιλαμβάνει ένα περιορισμένο αριθμό ενζύμων τα οποία κωδικοποιούνται από το πυρηνικό γονιδίωμα: τη μιτοχονδριακή RNA πολυμεράση (POLRMT) και την πρόσθετη υπομονάδα της TEMF (Minczuk et al., 2011), τη πρωτεΐνη TFAM που λειτουργεί ως ενεργοποιητής της μεταγραφής και πρωτεΐνη πακεταρίσματος και το μεταγραφικό παράγοντα TFB2M. Με τη πλήρη αλληλούχιση του ανθρώπινου mtDNA διαπιστώθηκε πως στα αρχικά μετάγραφα όλα τα μόρια mRNA πλαισιώνονται από tRNA και επομένως η διαδικασία επεξεργασίας των tRNA παράγει ως παραπροϊόντα πλήρως επεξεργασμένα mRNA (Ojala et al. 1981). Η διαδικασία αυτή συντονίζεται από τα ένζυμα RNαση P και RNαση Z τα οποία αποκόπτουν τα tRNAs στο 5΄και 3΄άκρο τους αντίστοιχα (Shutt and Shadel, 2010). Στη συνέχεια τα μόρια mRNA υφίστανται πολυαδενυλίωση και σταθεροποιούνται με τη δράση συγκεκριμένων παραγόντων, όπως της πρωτεΐνης LRPPRC (Pearce et al. 2013).



Εικόνα 5. Σχηματική απεικόνιση των θέσεων έναρξης της μεταγραφής του μιτοχονδριακού DNA (τροποποιημένο από Pearce et al., 2013).

Μιτοχονδριακή μετάφραση. Οι 13 πρωτεΐνες που κωδικοποιούνται από το μιτοχονδριακό γονιδίωμα μεταφράζονται από εννιά μονοκιστρονικά και δύο δικιστρονικά μόρια mRNA (Anderson et al., 1981). Η όλη διαδικασία πραγματοποιείται στα μιτοχονδριακά ριβοσώματα (55S) καθένα από τα οποία αποτελείται από μία μικρή (28S) και μία μεγάλη (39S) υπομονάδα και περιέχει rRNA σε ποσοστό 25-30% (Pietromonaco et al., 1991). Η πρωτεϊνοσύνθεση στα μιτοχόνδρια διακρίνεται σε τέσσερις διακριτές φάσεις: έναρξη, επιμήκυνση, τερματισμός και ανακύκλωση ριβοσωμάτων (Cristian and Spremulli, 2011). Ο μηχανισμός της μετάφρασης είναι παρόμοιος με αυτόν

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
06/05/2024 06:07:01 EEST - 3.143.254.184

που λαμβάνει χώρα στα κυτταροπλασματικά ριβοσώματα με τη συσκευή της μετάφρασης να περιλαμβάνει δύο παράγοντες έναρξης ($IF2_{mt}$ και $IF3_{mt}$), τέσσερις παράγοντες που συμμετέχουν στην επιμήκυνση (EFG1, EFG2, EF-Ts_{mt} και EF-Tu_{mt}) (Spremulli et al., 2004), τέσσερις παράγοντες τερματισμού (mtRF1a, mtRF1, C12ORF65 και ICT1) και δύο παράγοντες ανακύκλωσης ριβοσωμάτων (mtRRF1 και mtRRF2) (Rorbach et al., 2008). Η αντιστοιχία της νουκλεοτιδικής με την αμινοξική αλληλουχία γίνεται βάσει του γενετικού μιτοχονδριακού κώδικα ο οποίος εμφανίζει ορισμένες διαφορές με τον πυρηνικό (Πίνακας 1).

Πίνακας 1. Διαφορές του μιτοχονδριακού και πυρηνικού γενετικού κώδικα (Osawa et al., 1992)

Κωδικόνιο	**Πυρηνικός κώδικας**	**Μιτοχονδριακός κώδικας (θηλαστικά)**
UGA	Λήξη	Trp
AUA	Ile	Met
AGA	Arg	Λήξη
AGG	Arg	Λήξη

4.Το φαινόμενο της ετεροπλασμίας

Το γεγονός πως το μιτοχονδριακό DNA αποτελεί ένα διαμερισματοποιημένο εξωχρωμοσωματικό στοιχείο συμβάλει στη δημιουργία των μοναδικών γενετικών του χαρακτηριστικών. Σε αντίθεση με το διπλοειδές πυρηνικό γονιδίωμα, το μιτοχονδριακό γονιδίωμα εμφανίζεται πολυπολοειδές με πολλαπλά αντίγραφα του mtDNA να βρίσκονται σε κάθε μιτοχόνδριο και σε ορισμένους τύπους κυττάρων, όπως στα ωοκύτταρα, ο συνολικός αριθμός των μορίων mtDNA να φτάνει στα $3x10^5$ (Steuewald et al., 2000). Η ύπαρξη πολυπλοειδίας κάνει δυνατή τη χρήση όρων όπως ετεροπλασμία, ομοιοπλασμία και διαχωρισμός, όροι χαρακτηριστικοί για τη γενετική που περιγράφει τη λειτουργία και την κληρονόμηση του mtDNA.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
06/05/2024 06:07:01 EEST - 3.143.254.184

Ο όρος ομοιοπλασμία αναφέρεται στην κατάσταση στην οποία όλα τα αντίγραφα του mtDNA είναι γενετικά πανομοιότυπα, ενώ ο όρος ετεροπλασμία περιγράφει την κατάσταση στην οποία συνυπάρχουν δύο (ή σπανίως περισσότεροι) σταθεροί μιτοχονδριακοί γενότυποι στο εσωτερικό του ίδιου κυττάρου ή του ίδιου οργανισμού (Schon et al. 2010). Το μιτοχονδριακό DNA αποκτά συνεχώς και με τυχαίο τρόπο μεταλλάξεις οι οποίες υφίστανται κλωνική επέκταση και στη συνέχεια πιθανώς εξαφανίζονται (Coller et al., 2001). Μη προσδιορισμένα αλλά κληρονομήσιμα χαρακτηριστικά ορισμένων σημειακών μεταλλάξεων τους επιτρέπουν να προσβάλλουν όλα τα αντίγραφα του mtDNA (ομοπλασμικές μεταλλάξεις) ενώ άλλες εμφανίζονται μόνο σε ένα ποσοστό των μορίων mtDNA (ετεροπλασμικές μεταλλάξεις). Οι ορισμοί αυτοί αποτελούν υπεραπλουστεύσεις μιας σύνθετης κατάστασης καθώς το περιβάλλον της μιτοχονδριακής μήτρας σπανίως επιτρέπει τόσο την γενοτυπική ομοιογένεια όσο και την εγκαθίδρυση πραγματικής και λειτουργικής ετεροπλασμίας (McFarland et al., 2007).

Στα κύτταρα που φέρουν ετεροπλασμικές μεταλλάξεις, παρόλο που ο συνολικός αριθμός αντιγράφων mtDNA υπόκειται σε αυστηρό έλεγχο (Tang et al., 2000) η αναλογία φυσιολογικών και μεταλλαγμένων μορίων mtDNA στα θυγατρικά κύτταρα που προκύπτουν μετά τη διαδικασία της κυτταρικής διαίρεσης διαφέρει. Το γεγονός αυτό οφείλεται στην τυχαία κατανομή των μιτοχονδρίων σε αυτά, φαινόμενο που ονομάζεται μιτωτικός διαχωρισμός, και έχει ως αποτέλεσμα τον αντίστοιχο επηρεασμό του φαινοτύπου τόσο μεταξύ κυττάρων ή ιστών όσο και μεταξύ των κυτταρικών γενεών (Schon et al., 2010). Παρόλο που η φαινοτυπική επιλογή ευνοεί τα πλήρως λειτουργικά μιτοχόνδρια, ορισμένα από τα μεταλλαγμένα mtDNAs διαθέτουν αντιγραφικό πλεονέκτημα και το γεγονός αυτό αποτελεί το κλειδί για την επιλογή και την τελική επικράτηση τους (Pearce et al., 2013).

Για την εκδήλωση του κλινικού φαινοτύπου των ασθενειών που οφείλονται σε μεταλλάξεις του mtDNA είναι απαραίτητο η αναλογία μεταλλαγμένων προς φυσιολογικών μορίων mtDNA να υπερβεί ένα συγκεκριμένο όριο – κατώφλι (threshold) (Chinnery et al., 1997). Εκτός από μία (Sacconi et al., 2008), όλες οι παθογενείς ετεροπλασμικές μεταλλάξεις του mtDNA θεωρούνται υπολειπόμενες από την άποψη ότι απαιτείται υψηλό ποσοστό μεταλλαγμένων μορίων mtDNA για την εκδήλωση της ασθένειας

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
06/05/2024 06:07:01 EEST - 3.143.254.184

(τυπικά >70-80%) (Schon et al. 2010). Για τις ομοιοπλασμικές μεταλλάξεις δεν υφίσταται τέτοιο όριο καθώς τα άτομα που τις φέρουν μπορεί να έχουν 100% μεταλλαγμένο mtDNA και να μην είναι ασθενείς (McFarland et al. 2004).

Οι μιτοχονδριακές ασθένειες που προκαλούνται από βλάβες στο mtDNA επιδεικνύουν αξιοσημείωτη φαινοτυπική και γενοτυπική ποικιλομορφία μεταξύ αδελφών, γεγονός που οφείλεται τόσο στην ύπαρξη ετεροπλασμικών μεταλλάξεων όσο και στην εμφάνιση ενός φαινομένου που ονομάζεται μιτοχονδριακός γενετικός στενωπός (mitochondrial genetic bottleneck) (Poulton et al., 1998). Κατά τη διάρκεια της ωογένεσης, παρατηρείται σημαντική μείωση του αριθμού των μιτοχονδρίων ανά κύτταρο. Η διαδικασία αυτή είναι τυχαία και προκαλεί αλλαγή των επιπέδων ετεροπλασμίας μεταξύ των αρχέγονων γεννητικών και των ώριμων ωοκυττάρων.

Δ.ΜΙΤΟΧΟΝΔΡΙΑΚΕΣ ΝΕΥΡΟΛΟΓΙΚΕΣ ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ

1.Κληρονομική οπτική ατροφία του Leber (Σύνδρομο LHON)

Κλινικά χαρακτηριστικά – Ιδιαιτερότητες. Το σύνδρομο LHON αποτελεί μια κληρονομήσιμη μορφή οξείας ή υποξείας απώλειας της κεντρικής όρασης η οποία επηρεάζει κυρίως τους άρρενες κατά την εφηβική ηλικία. Αναγνωρίζεται ως η πιο συχνή μιτοχονδριακή ασθένεια (Chinnery et al. 2000) με το ελάχιστο της συχνότητάς της να φτάνει το 3,22:100.000 (Man et al, 2003). Το σύνδρομο αυτό χαρακτηρίζεται από μειωμένη όραση στον ένα οφθαλμό. Η κατάσταση είναι αρχικά ανώδυνη και σχετίζεται κυρίως με δυσχρωματοψία στον οφθαλμό αυτό, η οποία όμως στη συνέχεια ακολουθείται από όμοια και ταχύτατη προσβολή του και του άλλου οφθαλμού μεσα σε διάρκεια μερικών ημερών, μηνών ή σπανιότερα χρόνων (Newman, 1998a, Carelli, 2002). Η οπτική οξύτητα φτάνει μέσα σε λίγους μήνες σε επίπεδα ίσα ή μικρότερα του 20/200. Οι επακόλουθες επιπτώσεις στο οπτικό πεδίο συνήθως περιλαμβάνουν προβλήματα στην κεντρική όραση με τη δημιουργία ενός ευμεγέθους κεντρικού σκοτώματος. Κατά τη διάρκεια της εξέτασης στις περισσότερες περιπτώσεις, αποκαλύπτονται χαρακτηριστικές αλλαγές οι οποίες συνοψίζονται σε ένα τρίπτυχο σημάτων (Nikoskelaimen et

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
06/05/2024 06:07:01 EEST - 3.143.254.184

al., 1983,1984): (α) τριχοειδική τηλεαγγειεκτασία (β) ψευδο-οίδημα του στρώματος των νευρικών ινών γύρω από τον οπτικό δίσκο και (γ) απώλεια διαρροής κατά την διάρκεια αγγειογραφίας φλουορεσκίνης (σε αντίθεση με το πραγματικό οίδημα). Η συνηθέστερη κατάληξη της κατάστασης των ασθενών είναι η οπτική ατροφία με μόνιμη απώλεια της κεντρικής όρασης αλλά διατήρηση των αντιδράσεων της κόρης στο φως (Carelli et al. 2004). Παρόλα αυτά, η οπτική λειτουργία είναι πιθανόν να βελτιωθεί σταδιακά, με σμίκρυνση του μεγέθους του σκοτώματος ή με την επανεμφάνιση μικρών εστιών φυσιολογικής όρασης μέσα σε αυτό. Η νεαρή ηλικία εμφάνισης της νόσου αποτελεί έναν ευνοϊκό παράγοντα για την επανεμφάνιση της όρασης ενώ ο βαθμός οπτικής ανάκτησης σχετίζεται και με τον τύπο της παθολογικής μετάλλαξης (Oostra et al., 1994).

Γενετική. Το νόσημα αυτό ακολουθεί μητρική κληρονόμηση (Erickson, 1972) και στις περισσότερες περιπτώσεις το μεταλλαγμένο μιτοχονδριακό DNA των ασθενών είναι σχεδόν ομοιοπλασμικό. Οι πιο συχνές μεταλλάξεις που εμφανίζονται σε ασθενείς με σύνδρομο LHON είναι τρείς σημειακές μεταλλάξεις στις θέσεις 11778/ND4 (Wallace et al., 1988), 3460/ND1 (Huoponen et al. 1991) και 14484/ND6 (Mackey and Howell, 1992) ενώ έχει ανιχνευθεί πλήθος παθογενών και υποψήφιων παθογενών μεταλλάξεων (Πίνακες 2 και 3). Παρόλα αυτά δύο είναι τα κύρια γενετικά χαρακτηριστικά της ασθένειας: η εμφάνιση της σχεδόν αποκλειστικά σε άρρενες και η ποικίλη διεισδυτικότητα της (Carelli, 2002). Ανεξάρτητα από το γεγονός πως όλα τα μέλη των οικογενειών ασθενών με LHON φέρουν παθογενείς μεταλλάξεις σε ομοιοπλασμική κατάσταση, δεν αναπτύσσουν όλοι το σύνδρομο. Έχει μελετηθεί η ύπαρξη τροποποιητικών γονιδίων που κωδικοποιούνται από το πυρηνικό DNA και θα μπορούσαν να ερμηνεύσουν το φαινόμενο (Carelli et al. 2003a) κυρίως στο χρωμόσωμα Χ, κάτι που θα μπορούσε να εξηγήσει και την εμφάνιση της νόσου αποκλειστικά σε άρρενες. Παρόλο όμως που υπάρχουν ενδείξεις για την ύπαρξη ενός μοντέλου δύο γενετικών τόπων σχετικά με την ασθένεια (παθογενής μιτοχονδριακή μετάλλαξη και τροποποιητικό πυρηνικό γονίδιο), δεν έχει αναγνωριστεί κάποιο γονίδιο που να κωδικοποιείται από το πυρηνικό DNA και να έχει τη δυνατότητα τροποποίησης του φαινοτύπου της νόσου (Carelli et al., 2003b).

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
06/05/2024 06:07:01 EEST - 3.143.254.184

Πίνακας 2. Επιβεβαιωμένες παθογενείς μεταλλάξεις στο σύνδρομο LHON (τροποποιημένο από Carelli et al., 2004)

Θέση μετάλλαξης	Γονίδιο	Ετεροπλασμία	Ομοιοπλασμία
G11778A	ND4	+	+
G3460A	ND1	+	+
T14484C	ND6	+	+
A14495G	ND6	+	-
T14482A/G	ND6	+	+
T10663C	ND4L	-	+
C4171A	ND1	+	+
C14568T	ND6	-	+

Πίνακας 3. Υποψήφιες παθογενείς μεταλλάξεις στο σύνδρομο LHON που χρήζουν επιβεβαίωσης (τροποποιημένο από Carelli et al., 2004)

Θέση μετάλλαξης	Γονίδιο	Ετεροπλασμία	Ομοιοπλασμία
G5244A	ND2	+	-
G13730A	ND5	de novo mut	+
C4025T	ND1	-	+
T12811C	ND5	-	+
A13637G	ND5	-	+
G9804A	COXIII	-	+
T9101C	ATPase6	-	+
C14498T	ND6	+	+
G3635A	ND1	-	+
C4640A	ND2	-	+
T11253C	ND4	-	+
G14831A	Cyt b	-	+
G3700A	ND1	-	+
T10237C	ND3	-	+

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
06/05/2024 06:07:01 EEST - 3.143.254.184

Όλες οι παθογενείς μεταλλάξεις του συνδρόμου δε φαίνεται να διαθέτουν το ίδιο δυναμικό. Η μετάλλαξη 3460/ND1 αποδεικνύεται πως είναι αυτή που έχει τις σοβαρότερες επιπτώσεις. Εμφανίζει τη μεγαλύτερη διεισδυτικότητα όταν βρίσκεται σε ομοιοπλασμία, έχει τη μεγαλύτερη πιθανότητα να προσβάλει εξίσου και τα δύο φύλα ενώ οι φορείς της σπάνια ανακτούν μέρος της όρασης τους (Carelli et al., 2004).

Παθοφυσιολογία. Οι μεταλλάξεις στις οποίες οφείλεται το σύνδρομο LHON επάγουν μικρής τάξεως αλλαγές σε μετρήσιμα χαρακτηριστικά του συμπλόκου I της αναπνευστικής αλυσίδας του μιτοχονδρίου. Εξαίρεση αποτελεί η μετάλλαξη 3460/ND1 η οποία προκαλεί σημαντική μείωση της ικανότητας μεταφοράς ηλεκτρονίων του συμπλόκου I (Smith et al., 1999). Ο ακριβής μηχανισμός ο οποίος προκαλεί την οπτική ατροφία δεν είναι απολύτως γνωστός αν και έχει βρεθεί ότι η δυσλειτουργία του συμπλόκου I αυξάνει την παραγωγή ενεργών μορφών οξυγόνου (Carelli et al. 2002), προκαλώντας με αυτόν τον τρόπο την έναρξη της διαδικασίας της απόπτωσης.

Διάγνωση. Η διάγνωση αρχικά περιλαμβάνει έλεγχο της οπτικής οξύτητας ενώ στη συνέχεια ακολουθεί λεπτομερή εξέταση των οφθαλμών για οπτική ατροφία. Η ύπαρξη ενός αντίστροφου μοτίβου των οπτικών προκλητών δυναμικών (visual evoked potentials – VEP) επιβεβαιώνουν τη σοβαρότητα της οπτικής νευροπάθειας (Thajed and Dai, 2007). Η μοριακή διάγνωση περιλαμβάνει τον έλεγχο του mtDNA για εύρεση μεταλλάξεων.

2.Μιτοχονδριακή μυοπάθεια και μυοκλονική επιληψία με ερυθρές ρακκώδεις ίνες (Σύνδρομο MERRF)

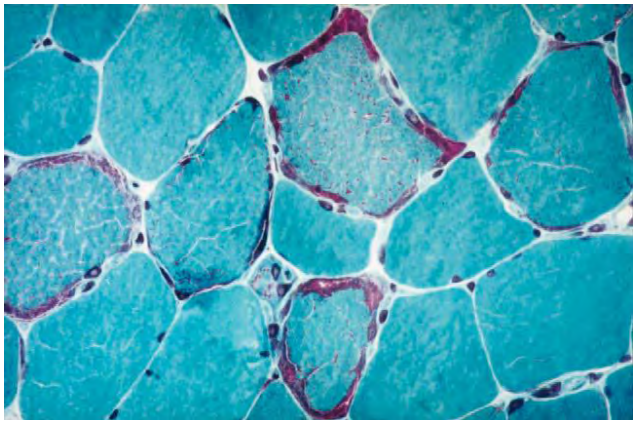
Κλινικά χαρακτηριστικά – Ιδιαιτερότητες. Το σύνδρομο αυτό εμφανίζεται τόσο σε παιδιά όσο και σε ενήλικες, καθώς η ηλικία έναρξης των συμπτωμάτων κυμαίνεται μεταξύ 5 και 50 ετών. Χαρακτηρίζεται από μυοκλονίες ή μυοκλονική επιληψία, αταξία και μυοπάθεια με εμφάνιση ερυθρών ρακκώδων ινών (DiMauro et al., 1990). Εμφανής μυϊκή αδυναμία είναι δυνατόν να μην υπάρχει, ενώ μπορεί να συνυπάρχουν κώφωση, άνοια, γενικευμένες επιληπτικές κρίσεις και σπασμοί και καρδιοπάθεια.

Γενετική. Η πρώτη σημειακή μετάλλαξη που βρέθηκε είναι η η A8344G (tRNALys) (Shoffner et al. 1990). και ακολούθησε η T8356C στο ίδιο γονίδιο

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
06/05/2024 06:07:01 EEST - 3.143.254.184

(Silvestri et al. 1992). Οι δύο αυτές σημειακές μεταλλάξεις είναι και οι πιο συχνές με τη A8344G να υφίσταται στο 80-90% των ασθενών (Chinnery et al. 1997a). Ακόμα έχει βρεθεί σε ασθενείς η μετάλλαξη T7512C στο γονίδιο tRNASer (Nakamura et al. 1995). Η σημειακή μετάλλαξη A8344G έχει βρεθεί και σε ελληνικές οικογένειες οι οποίες εμφάνιζαν μία ποικιλία συμπτωμάτων και διαφορετικά επίπεδα ετεροπλασμίας μεταξύ των μελών της (Kazakos et al. 2012). Μεταβιβάζεται σύμφωνα με τους κανόνες της μητρικής κληρονόμισης ενώ εμφανίζει ποικίλη εκφραστικότητα με αποτέλεσμα πολλά μέλη της οικογένειας να εμφανίζουν πολύ ήπια ή καθόλου συμπτώματα, φαινόμενο που αποδίδεται στα διαφορετικά επίπεδα ετεροπλασμίας (Wallace et al. 1988). Σε ορισμένες σποραδικές περιπτώσεις ασθενών με κλινική εικόνα συνδρόμου MERRF, στο mtDNA εμφανίζονται πολλαπλά ελλείμματα για τα οποία πιστεύεται πως ευθύνεται κάποιο άγνωστο προς το παρόν πυρηνικό γονίδιο (Blumenthal et al., 1998), ενώ σε ένα ποσοστό 10-20% των ασθενών δεν έχει εντοπισθεί συγκεκριμένη μοριακή βλάβη (Baraitser, 1997).

Διάγνωση. Η κλινική διάγνωση του συνδρόμου βασίζεται σε τέσσερα χαρακτηριστικά: (α) ύπαρξη μυοκλονιών, (β) αταξία, (γ) γενικευμένη επιληψία και (δ) ύπαρξη ερυθρών ρακκώδων ινών. Η βιοψία μυός αποτελεί βασική διαγνωστική προσέγγιση για το σύνδρομο MERRF. Με την τροποποιημένη τρίχρωμη χρώση Gomori αναζητείται η συσσώρευση μιτοχονδρίων στην περιφέρεια των μυϊκών ινών, δηλωτική της μιτοχονδριακής εκφύλισης, ως αποτέλεσμα της δυσλειτουργίας της αναπνευστικής αλυσίδας. Τα μιτοχόνδρια βρίσκονται κάτω από το σαρκείλημα μεταξύ των μυϊκών ινιδίων και προσδίδουν το ερυθρό χρώμα στις ερυθρές ρακκώδεις ίνες κατά την τρίχρωμη χρώση (Ragged Red Fibers – RRF) (Εικόνα 6) (Cohen, 2013).



Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
06/05/2024 06:07:01 EEST - 3.143.254.184

Εικόνα 6. Ερυθρές ρακκώδεις ίνες έτσι όπως αυτές ανιχνεύονται ύστερα από τρίχρωμη χρώση Gomori. (DiMauro, 2004).

3.Μιτοχονδριακή μυοπάθεια, εγκεφαλοπάθεια, γαλακτική οξέωση και αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο (Σύνδρομο MELAS)

Κλινικά χαρακτηριστικά – Ιδιαιτερότητες Το σύνδρομο αυτό εμφανίζεται σε παιδιά ηλικίας 3-11 ετών με τα πρώτα συμπτώματα να εκδηλώνονται ύστερα από μία φυσιολογική περίοδο ανάπτυξης και να περιλαμβάνουν περιοδικές εγκεφαλικές προσβολές που ομοιάζουν με εγκεφαλικά ισχαιμικά επεισόδια και προκαλούν επαναλαμβανόμενα επεισόδια ημιπάρεσης, ημιανοψίας ή φλοιώδους τύφλωσης. Επίσης παρατηρούνται επιληπτικές κρίσεις και επεισόδια εμετών (Mitani et al., 2013). Σπάνια μπορεί να συνυπάρχει και προϊούσα εξωτερική οφθαλμοπληγία (PEO), ενώ παρατηρείται μεγάλος βαθμός συγγένειας με τη συμπτωματολογία του συνδρόμου Kearns-Sayre (Petty et al., 1986).

Γενετική. Η μεταβίβαση είναι μητρικής προέλευσης και στους περισσότερους ασθενείς (80-90% των περιπτώσεων έχει εντοπισθεί μία σημειακή μεταλλαγή του mtDNA στη θέση 3242 (A->G) στο t RNA της λευκίνης. (25). Ακόμα έχουν εντοπισθεί αρκετές ακόμα σημειακές μεταλλαγές στο mtDNA καθώς και ένα μεγάλο έλλειμμα.

Πίνακας 4. Οι βασικότερες μεταλλαγές του mtDNA που εμφανίζονται στο σύνδρομο MELAS.

Θέση μεταλλαγής	Γονίδιο	Είδος κληρ/τητας
G583A	tRNAPhe	Σποραδική
G1642A	tRNAVal	Μητρική
A3243G	tRNALeu	>>
A3252G	tRNALeu	>>
A3660G	tRNALeu	>>
T3271C	tRNALeu	>>
T3291C	tRNALeu	>>
A5814G	tRNACys	>>
T9957C	COX III	>>

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
06/05/2024 06:07:01 EEST - 3.143.254.184

G13513A	ND5	>>
Μεγάλο έλλειμμα	-	Σποραδική

Διάγνωση. Η διάγνωση του συνδόμου MELAS στηρίζεται στα εξής κριτήρια: (α) αγγειακά εγκεφαλικά επεισόδια με ευρήματα εστιακής εγκεφαλικής βλάβης στην MRI, (β) γαλακτική οξέωση ή ύπαρξη ερυθρών ρακκώδων ινών ή και τα δύο και (γ) τουλάχιστον τρία από τα εξής ευρήματα: εστιακές ή γενικευμένες επιληπτικές κρίσεις, νοητική υστέρηση, υποτροπιάζουσα κεφαλαλγία ή εμετοί (DiMauro 1990).

4.Σύνδρομο Kearns – Sayre (KSS)

Κλινικά χαρακτηριστικα – ιδιαιτερότητες. Το σύνδρομο Kearns – Sayre αποτελεί μια σπάνια διαταραχή που οφείλεται σε δυσλειτουργία των μιτοχονδρίων και αναφέρεται ως μιτοχονδριακή κυτταροπάθεια (Maceluch and Niedziela, 2007). Η συχνότητα εμφάνισής της είναι 1-3 περιπτώσεις ανά 100.000 άτομα (Schaefer et al., 2008). Εμφανίζεται πριν από την ηλικία των 20 ετών και οι περισσότεροι ασθενείς αποβιώνουν την τρίτη με τέταρτη δεκαετία ζωής. Χαρακτηρίζεται από το τρίπτυχο: (α) προοδευτική εξωτερική οφθαλμοπληγία και πτώση βλεφάρων, (β) άτυπη μελαχρωστική αμφιβληστροειδοπάθεια και (γ) ένα από τα εξής: διαταραχές του καρδιακού ρυθμού, παρεγκεφαλιδική αταξία, αύξηση του λευκώματος του εγκεφαλονωτιαίου υγρού (>100mg/dl) (Serrano et al., 2010). Καρδιακές επιπλοκές εμφανίζονται πολύ συχνά σε ασθενείς με KSS, αποτελώντας και την πιο συχνή αιτία θανάτου (Berenberg et al., 1977). Ασθενείς παιδικής ηλικίας μπορεί να εμφανίσουν βραχυσωμία και συχνά ενδοκρινοπάθειες όπως διαβήτη ή δυσλειτουργία του παραθυρεοειδούς αδένα. Παρατηρήθηκε επίσης σε αρκετές περιπτώσεις νεφρική οξέωση, τοσό εγγύς όσο και άπω, η οποία σχετίζεται με νεφρική ανεπάρκεια ενώ σε όλες τις βιοψίες μυών εμφανίζονται ερυθρές ρακκώδεις ίνες (RRF) (Ashizawa and Subramony, 2001). Πιο σπάνια στα συμπτώματα του συνδρόμου αυτού ανήκουν η κώφωση, η τύφλωση κατά τη διάρκεια της νύχτας και η άνοια (Ashrafzadeh et al., 2013).

Γενετική. Η μοριακή γενετική ανάλυση ασθενών με σύνδρομο KS αναδεικνύει την παρουσία απλών ελλειμμάτων (Zeviani et al. 1988) ή διπλασιασμών (Poulton et al., 1989) στο μιτοχονδριακό DNA. Το μέγεθος του

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
06/05/2024 06:07:01 EEST - 3.143.254.184

mtDNA που υπολείπεται είναι συνήθως της τάξης των 10kb ενώ τα ελλείμματα επηρεάζουν συνήθως γονίδια τα οποία κωδικοποιούν πρωτεΐνες της αναπνευστικής αλυσίδας. Η αναλογία ελλειμματικών και αγρίου τύπου mtDNA καθορίζει και το φαινότυπο. Η πλειονότητα των περιπτώσεων αυτών είναι σποραδικές καθώς το ελλειμματικό ή διπλασιασμένο mtDNA σπανίως μεταβιβάζεται. Η πιθανότητα επανεμφάνισης στην επόμενη γενιά ενός μεταλλαγμένου mtDNA με έλλειμμα είναι μικρότερη από 5% (Lopez-Gallardo et al. 2009). Σε ελληνικές περιπτώσεις ασθενών έχουν βρεθεί ελλείμματα μεγέθους ~9kb σε ετεροπλασμικό mtDNA που έχουν ως αποτέλεσμα μία ετερογένεια συμπτωμάτων όπως κόπωση, μυοπάθεια και πολλαπλές ενδοκρινοπάθειες (Tzoufi et al. 2013).

Παθοφυσιολογία. Η ύπαρξη ελλειμμάτων στο mtDNA που περιλαμβάνουν τμήματα γονιδίων της αναπνευστικής αλυσίδας οδηγεί σε μείωση των επιπέδων της παραγόμενης από τα μιτοχόνδρια ενέργειας και προκαλεί τη δυσλειτουργία πολλών ιστών. Το φαινόμενο αυτό παρατηρείται κυρίως σε ιστούς που έχουν υψηλές απαιτήσεις σε ενέργεια όπως οι μύες και ο εγκέφαλος (Obara – Moszynska et al., 2013). Τόσο τα ραβδία και τα κωνία όσο και τα κύτταρα του μελαγχρωστικού επιθηλίου περιέχουν ένα μεγάλο αριθμό μιτοχονδρίων που τους επιτρέπει να ικανοποιούν τις αυξημένες μεταβολικές τους ανάγκες (Futterman et al., 1981). Η πρωτογενής βλάβη αφορά στη μιτοχονδριακή διαταραχή των κυττάρων του μελαγχρωστικού επιθηλίου παρά στην εκφύλιση των φωτοϋποδοχέων (McKechie et al. 1975). Ακόμα έχουν ερμηνευθεί συγκεκριμένα συμπτώματα του συνδρόμου όπως η βραχυσωμία. Για το συγκεκριμένο σύμπτωμα έχουν προταθεί δύο μη αλληλοαποκλειόμενες θεωρίες. Η πρώτη υποστηρίζει πως η μειωμένη παραγωγή ATP που παρατηρείται στους ασθενείς παρεμποδίζει την υπερτροφία και την υπερπλασία των χονδροκυττάρων (DelCarlo and Loeser, 2006) ενώ η δεύτερη προτείνει πως τα μειωμένα επίπεδα ενέργειας παρεμποδίζουν τη παραγωγή και την έκκριση ορμονών που απαιτούνται για την ανάπτυξη, όπως η αυξητική ορμόνη (Quade et al., 1992).

Διάγνωση. Η διάγνωση του συνδρόμου Kearns – Sayre βασίζεται στον εντοπισμό τριών βασικών χαρακτηριστικών: εμφάνιση της ασθένειας πριν τα 20 έτη, προοδευτική εξωτερική οφθαλμοπληγία και μελαχρωστική αμφιβληστροειδοπάθεια (Berenbaum et al., 1990). Προτείνεται επίσης η

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
06/05/2024 06:07:01 EEST - 3.143.254.184

βιοψία μυός προς ανεύρεση ερυθρών ρακκώδων ινών έπειτα από χρώση Gomori. Ακόμα συνιστάται μοριακή ανάλυση για εύρεση των ελλειμμάτων σε δείγμα μυός σε περιπτώσεις ασθενών που υποπτεύεται ότι πάσχουν από KSS (Finsterer et al. 2009). Ο σημαντικότερος προγνωστικός παράγοντας σε ασθενείς με KSS που μπορεί να οδηγήσει και στη διάγνωση της είναι οι καρδιακές επιπλοκές, οι οποίες εμφανίζονται τουλάχιστον στο 60% των ασθενών και χαρακτηρίζονται από σταδιακό εκφυλισμό του συστήματος μεταφοράς ερεθισμάτων (conduction system), συγκοπή, καρδιακή ανεπάρκεια και πιθανών αιφνίδιο καρδιακό θάνατο. Για το λόγο αυτό συνίσταται παρακολούθηση της καρδιοαγγειακής κατάστασης των ασθενών με KSS καθώς και έλεγχος των μελών της οικογένειας του ασθενούς (Puri et al. 2012).

5.Προϊούσα εξωτερική οφθαλμοπληγία (PEO)

Προϊούσα εξωτερική οφθαλμοπληγία. Το σύνδρομο αυτό χαρακτηρίζεται από μυϊκή αδυναμία στα πλαίσια κεντρομελικής μυοπάθειας και συνοδεύεται από προοδευτική εγκατάσταση βλεφαρόπτωσης και παράλυσης των εξωτερικών οφθαλμοκινητικών μυών. Μεταδίδεται με τη σποραδική κληρονομικότητα, εμφανίζεται στην εφηβική ή μεγαλύτερη ηλικία και έχει αργή εξέλιξη (Holt et al., 1988). Απαραίτητη θεωρείται η βιοχημική ανάλυση των αναπνευστικών ενζύμων από τη βιοψία μυός, προκειμένου να προσδιοριστεί η γενετική θέση της βλάβης και γίνει διαφορική διάγνωση από μορφές PEO που κληρονομούνται με την αυτόσωμη ή την μητρική κληρονομικότητα.

Μητρικά κληρονομίσιμη προϊούσα εξωτερική οφθαλμοπληγία (MIPEO). Η προϊούσα εξωτερική οφθαλμοπληγία με μητρική κληρονομικότητα διαφέρει από τη σποραδική και την PEO που ακολουθεί αυτόσωμη κληρονομικότητα ως προς το είδος της γενετικής βλάβης του mtDNA. Έχουν ανιχνευθεί πέντε σημειακές μεταλλαγές (Servidei et al., 1997) οι οποίες εντοπίζονται σε γονίδια που κωδικοποιούν μόρια tRNA. Στη συγκεκριμένη μορφή του συνδρόμου εκτός από την οφθαλμοπληγία μπορεί να συνυπάρχει και μυϊκή αδυναμία. Στη βιοψία μυός είναι πιθανόν να ανευρεθούν ερυθρές ρακκώδεις ίνες και μειωμένη δραστηριότητα των ενζύμων της αναπνευστικής αλυσίδας (Hattori et al., 1994).

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
06/05/2024 06:07:01 EEST - 3.143.254.184

Αυτοσωμική επικρατής προϊούσα εξωτερική οφθαλμοπληγία (AdPEO). Η συγκεκριμένη μορφή του συνδρόμου χαρακτηρίζεται από την εμφάνιση σε ενήλικες προοδευτικά εξελισσόμενης εξωτερικής οφθαλμοπληγίας η οποία κληρονομείται με τον αυτόσωμο επικρατητικό τύπο. Από γενετικής άποψης εντοπίζονται πολλαπλά ελλείμματα ποικίλου μεγέθους στο mtDNA τα οποία χαρακτηρίζονται ως πλειοπλασμία (Yuzaki et al., 1989). Τα ελλείμματα συνήθως περιλαμβάνουν τρία τουλάχιστον γονίδια: το *ANT1* (adenine nucleotide translocator 1), το γονίδιο της πρωτεΐνης Twinkle καθώς και το γονίδιο της πολυμεράσης γ (POLG) (Hirano and DiMauro, 2001). Η νόσος αρχίζει στην ηλικία μεταξύ 20 και 40 ετών και μπορεί να περιορίζεται μόνο στους οφθαλμικούς μύες ή να συνοδεύεται από πολυσυστημικές εκδηλώσεις όπως η γενικευμένη μυϊκή αδυναμία, περιφερική νευροπάθεια, νευροαισθητήρια βαρηκοΐα και αμφόπλευρος καταρράκτης (Kaukonen et al., 1999). Στο βιοχημικό έλεγχο ανιχνεύονται πολλαπλές ανεπάρκειες της αναπνευστικής αλυσίδας, ενώ στη βιοψία μυός εντοπίζονται ερυθρές ρακκώδεις ίνες.

Πίνακας 5. Οι κυριότερες μεταλλάξεις του mtDNA που σχετίζονται με τις τρεις μορφές PEO.

Θέση μετάλλαξης	**Γονίδιο**	**Ειδος κληρ/τητας**	**Βιβλιογραφία**
A3243G	tRNA Leu	Μητρική	Servidei et al.1997
T4285C	tRNA Ile	Μητρική	>>
A5692G	tRNA Asn	Μητρική	>>
G5703A	tRNA Asn	Μητρική	>>
T12311C	tRNA Leu	Μητρική	>>
T4274C	tRNA Ile	Σποραδική	Chinnery et al. 1997
G4309A	tRNA Ile	Σποραδική	Franceschina et al. 1998
Μεγάλο έλλειμμα		Σποραδική	Holt et al. 1988
Πολλ.ελλείμματα	10q23.3-24.3	Αυτοσωμική επικρατής	Suomalainen et al. 1995
Πολλ.ελλείμματα	3p14.1-21.2	Αυτοσωμική	Kaukonen et al. 1996

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
06/05/2024 06:07:01 EEST - 3.143.254.184

		επικρατής	
Πολλ.ελλείμματα	4q34-q35	Αυτοσωμική επικρατής	Kaukonen et al. 1999

Διάγνωση. Η διάγνωση του συνδρόμου αυτού απαιτεί ιδιαίτερη προσοχή καθώς μπορεί να διαγνωσθεί εσφαλμένα ως μυασθένεια gravis (myasthenia gravis) ένα αυτοάνοσο νευρομυϊκό νόσημα. Η έλλειψη μεταβολών της μυϊκής δύναμης ή αδυναμίας κατά τη διάρκεια της ημέρας, η δυσανάλογη παράλυση των εξοφθάλμιων μυών καθώς και του ανελκτήρα του βλεφάρου αποτελούν τα χαρακτηριστικά στοιχεία για τη διάκριση των δύο ασθενειών (Thajeb and Dai, 2007).

6.Άποιος διαβήτης, σακχαρώδης διαβήτης, οπτική ατροφία και νευροαισθητήριος βαρηκοΐα (Σύνδρομο Wolfram)

Κλινικά χαρακτηριστικά – Ιδιαιτερότητες. Το σύνδρομο αυτό αποτελεί μία νευροεκφυλιστική ασθένεια η οποία ακολουθεί αυτοσωμικό υπολειπόμενο τρόπο κληρονομικότητας και εμφανίζει ατελή διεισδυτικότητα. Είναι μία πολύ σπάνια νόσος με εκτιμώμενη συχνότητα εμφάνισης 1 στα 770.000 άτομα (συχνότητα φορέων 1/3.542) ενώ υπολογίζεται πως χαρακτηρίζει 1 στα 150 άτομα που εμφανίζουν ινσουλινό – εξαρτώμενο σακχαρώδη διαβήτη. Χαρακτηρίζεται από οπτική ατροφία η οποία προκαλεί προβλήματα όρασης στην ηλικία περίπου των 10 ετών και σε πολλούς ασθενείς καταλήγει σε τύφλωση. Ακόμα συνυπάρχει βαρηκοΐα η οποία μπορεί να είναι ήπια, αμφόπλευρη ή ετερόπλευρη και κατά κύριο λόγο βραδέως προοδευτική. Παρόλα αυτά, την πρώτη ένδειξη αποτελεί ο σακχαρώδης διαβήτης, ο οποίος εμφανίζεται με ποικίλου βαθμού βαρύτητα και εμφανίζεται ως πρώτο σύμπτωμα στα ¾ των περιπτώσεων εμφάνισης της ασθένειας. Σε πολλές περιπτώσεις εμφανίζονται και άλλα νευρολογικά νοσήματα όπως νοητική υστέρηση, αταξία, πολυνευροπάθεια και ψυχικές εκδηλώσεις (Boutzios et al. 2011).

Γενετική. Η ασθένεια κληρονομείται με αυτοσωματικό υπολειπόμενο τρόπο. Το υπεύθυνο γονίδιο κωδικοποιεί την πρωτεΐνη wolframin και χαρτογραφείται στη χρωμοσωματική θέση 4p16.1. Ακόμα έχει αναγνωρισθεί ένα επιπλέον υπέυθυνο γονίδιο, το CISD2 σε ασθενείς που χαρακτηρίζονταν

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
06/05/2024 06:07:01 EEST - 3.143.254.184

από ένα τύπο συνδρόμου Wolfram. Το γονίδιο αυτό κωδικοποιεί την πρωτεΐνη ERIS (endoplasmic reticulum intermembrane small protein) και βρίσκεται στη θέση 4q22 (Rigoli and Di Bella 2012).

7.Μιτοχονδριακή νευρογαστρεντερική εγκεφαλοπάθεια (Σύνδρομο MINGIE)

Κλινικά χαρακτηριστικά – ιδιαιτερότητες. Το σύνδρομο MINGIE αποτελεί μία πολυσυστημική ασθένεια. Κλινικά, χαρακτηρίζεται από πάρεση οφθαλμών και πτώση βλεφάρων, γαστρεντερική υποκινητικότητα, έντονη καχεξία και απίσχανση, εκφυλισμό των περιφερικών νευρώνων και ανωμαλίες στη λευκή ουσία (λευκοεγκεφαλοπάθεια), (Hirano et al. 1994). Έχουν αναφερθεί περίπου 200 περιπτώσεις ασθενών με το συγκεκριμένο νόσημα ενώ η πραγματική συχνότητα εμφάνισης της καθώς και η κατανομή της στις διάφορες πληθυσμιακές ομάδες παραμένουν άγνωστα και ίσως υποεκτιμημένα (Halter et al. 2011). Το γεγονός αυτό οφείλεται στο ότι το συγκεκριμένο νόσημα περιγράφηκε πρώτη φορά πριν από 26 χρόνια (Bardosi et al. 1987), στην αλληλοεπικάλυψη των συμπτωμάτων της με συμπτώματα άλλων ασθενειών όπως η νευρική ανορεξία ή η νόσος Charcot-Marie-Tooth (Needham et al. 2007) και στην ύπαρξη σπάνιων περιπτώσεων με ατυπικές μορφές της νόσου που δυσχεραίνουν τη διάγνωση (Carod-Artal et al. 2007). Στην Ελλάδα έχουν αναφερθεί περιπτώσεις διδύμων με πολλαπλά ελλείμματα στο mtDNA που είχαν διαγνωσθεί με σύνδρομο MNGIE και εμφάνιζαν οφθαλμοπάρεση, μιτοχονδριακή μυοπάθεια και λευκοεγκεφαλοπάθεια (Papadimitriou et al. 1998).

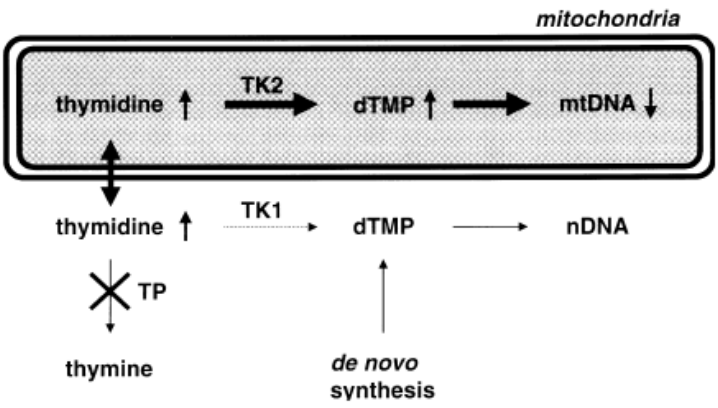
Παθοφυσιολογία. Η ασθένεια αυτή προκαλείται από μεταλλάξεις απώλειας λειτουργίας στο γονίδιο *TYMP* το οποίο κωδικοποιεί το κυτοπλασματικό ένζυμο φωσφορυλάση της θυμιδίνης (ΤΡαση) και βρίσκεται στη χρωμοσωμική θέση 22q13.32 (Nishino et al. 1999). Η δράση του συγκεκριμένου ενζύμου συνίσταται στην κατάλυση της αντίδρασης αντιστρεπτής φωσφορυλίωσης της δεοξυθυμιδίνης (dThd) και της δεοξυουριδίνης (dUrd) σε θυμίνη και ουρακίλη αντίστοιχα με την παράλληλη παραγωγή ενός μορίου δεοξυριβόζης (Friedkin and Roberts 1954). Η έλλειψη λειτουργικότητας ΤΡασης οδηγεί σε αύξηση των επιπέδων θυμιδίνης και

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
06/05/2024 06:07:01 EEST - 3.143.254.184

δεοξυουριδίνης τόσο στο αίμα όσο και στους ιστούς (Valentino et al. 2007), με αποτέλεσμα της έλλειψη ισορροπίας μεταξύ των χρησιμοποιούμενων νουκλεοτιδίων και της δεξαμενής αυτών. Η ανισορροπία αυτή προκαλεί αστάθεια στο μιτοχονδριακό DNA, η οποία εκδηλώνεται ως μείωση του αριθμού των αντιγράφων ή ως πολλαπλά ελλείματα ή ως σημειακές μεταλλάξεις σε συγκεκριμένες θέσεις του mtDNA (Lopez et al. 2009).

Τα μιτοχόνδρια διαθέτουν ξεχωριστές και ανεξάρτητες δεξαμενές αποθήκευσης dNTPs και χρησιμοποιούν το μονοπάτι ανακύκλωσης (salvage pathway) για την παραγωγή θυμιδίνης σε σχέση με την de novo σύνθεση θυμιδίνης που πραγματοποιείται στο κυτταρόπλασμα. Η εξάρτηση από το μονοπάτι της ανακύκλωσης της θυμιδίνης μπορεί να ερμηνεύσει το γεγονός πως τα μιτοχονδριακά επίπεδα dNTPs επηρεάζονται σε μεγαλύτερο βαθμό, σε σχέση με τα αντίστοιχα κυταρροπλασματικά ή πυρηνικά, από την αυξημένη συγκέντρωση θυμιδίνης σε ασθενείς με σύνδρομο MNGIE (Marti et al., 2002). Ακόμα, η ύπαρξη και δράση της μιτοχονδριακής κινάσης της θυμιδίνης (TK2), ενζύμου διαφορετικού από το αντίστοιχο κυτταροπλασματικό (TK1), πιθανώς συμβάλλει στη δημιουργία ανισορροπίας μεταξύ των χρησιμοποιούμενων νουκλεοτιδίων και της δεξαμενής αυτών (Εικόνα 7) (Johansson and Karlsson, 1997). Το ένζυμο TK1 είναι ενεργοποιημένο μόνο κατά τη διάρκεια της κυτταρικής διαίρεσης ενώ εκφράζεται σε πολύ χαμηλά ή μηδαμινά επίπεδα σε ιστούς τα κύτταρα των οποίων δε διαιρούνται (Arner and Eriksson, 1995). Αντίθετα το mtDNA αντιγράφεται συνεχώς ακόμα και σε κύτταρα τα οποία δεν διαιρούνται οπότε και είναι συνεχείς οι απατήσεις τόσο για θυμιδίνη όσο και για τα υπόλοιπα νουκλεοτίδια. Συνεπώς το ένζυμο TK2 εκφράζεται συνεχώς. Η συνεχής ενεργότητα TK2 είναι ένας ακόμα παράγοντας που εμφανίζει το mtDNA πιο επιρρεπές στη δημιουργία βλαβών συγκριτικά με το πυρηνικό DNA, οδηγώντας σε πολλαπλά ελλείμματα (Nishino et al., 2001).

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
06/05/2024 06:07:01 EEST - 3.143.254.184



Εικόνα 7. Σχηματική αναπαράσταση του μεταβολισμού της θυμιδίνης σε ασθενείς με MNGIE (Nishimo et al. 2001).

Γενετική – τρόπος κληρονομικότητας. Το σύνδρομο MNGIE κληρονομείται με αυτοσωματικό υπολειπόμενο τρόπο. Έχουν βρεθεί δέκα διαφορετικές μεταλλάξεις στο *TYMP* που προκαλούν τη νόσο: τέσσσερις δυσερμηνεύσιμες, τρεις μεταλλάξεις που επηρεάζουν τις θέσεις ματίσματος, δύο ελλείμματα και μία μετάλλαξη προσθήκης βάσης (Nishino et al. 1999) (Πίνακας 6).

Πίνακας 6: Μεταλλάξεις στο γονίδιο *TYMP* που προκαλούν το συνδρομο MNGIE (τροποποιημένο από Nishino et al. 1999)

ΜΕΤΑΛΛΑΞΗ	ΕΞΩΝΙΟ/ ΙΝΤΡΟΝΙΟ	ΜΕΤΑΒΟΛΗ ΣΤΟ mRNA	ΠΡΟΒΛΕΠΟΜΕΝΗ ΜΕΤΑΒΟΛΗ ΣΤΟ ΠΕΠΤΙΔΙΟ
A3371C	E7	ND	E289A
T1504C	I4	E4 skipping	Loss of 33 aa
G1419A	E4	ND	G145R
A2744G	E6	ND	K222S
Ins4196C	E10	ND	Frame shift
G3867C	I8	E9 skipping	Loss of 47 aa
4-bp del	I7	ND	?
6-bp del	E9	ND	Loss of 2 aa
G4090A	I9	ND	?

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
06/05/2024 06:07:01 EEST - 3.143.254.184

G1443A	E4	ND	G153S

Διάγνωση. Παρόλο που η TPαση αποτελεί ένα ζωτικής σημασίας για τον οργανισμό ένζυμο και βρίσκεται σε πολλά είδη ιστών, η έλλειψή της επιλεκτικά επηρεάζει κυρίως τους εξοφθάλμιους μύες, το γαστρεντερικό σύστημα, τους περιφερικούς νευρώνες και τη λευκή ουσία του κεντρικού νευρικού συστήματος (Valentino et al. 2007). Η μέση ηλικία εμφάνισης της είναι τα 19 έτη με το θάνατο να επέρχεται κατά μέσο όρο στα 37 έτη ζωής του ασθενούς (Hirano et al. 2004), αν και έχουν καταγραφεί και περιπτώσεις όψιμης εμφάνισης της νόσου (57 έτη) οι οποίες χαρακτηρίζονται από ηπιότερες βιοχημικές διαταραχές και συμπτώματα (Marti et al. 2005). Η σχετικά καθυστερημένη εμφάνιση της νόσου, αναλογικά με άλλες μιτοχονδριακές ασθένειες που εμφανίζονται στη βρεφική ή παιδική ηλικία, οφείλεται στη βαθμιαία συσσώρευση μεταλλαγών στο mtDNA που επάγονται από τα τοξικά και συνεχώς αυξανόμενα επίπεδα θυμιδίνης και δεοξυουριδίνης (Lopez et al. 2009). Από τη στιγμή που η αναλογία των μεταλλαγμένων mtDNA ξεπεράσει ένα συγκεκριμένο όριο, εκδηλώνεται κλινικά η μιτοχονδριακή δυσλειτουργία σε συγκεκριμένους ιστούς, από τη στιγμή που η φωσφορυλάση της θυμιδίνης δεν εκφράζεται σε όλα τα είδη των ιστων (Pontarin et al. 2006).

Οι ασθενείς με σύνδρομο MNGIE χαρακτηρίζονται ολική ή μερική έλλειψη ενεργότητας TPασης στη λευκή φάση του αίματος καθώς και από αυξημένες συγκεντρώσεις dThd και dUrd στο πλάσμα του αίματος (Spinazzola et al., 2002). Επομένως η διάγνωση βασίζεται στην μέτρηση των δύο αυτών μεγεθών. Ανιχνέυσιμες τιμές dThd >3 μmol/L και dUrd >5 μmol/L στο πλάσμα συνεπάγονται ύπαρξη της ασθένειας και απατείται μοριακός έλεγχος και αλληλούχιση του γονιδίου TYMP για την εύρεση της υπεύθυνης μετάλλαξης. Ακόμα η μειωμένη δραστικότητα TPασης στη λευκή φάση σε επίπεδα <8% του φυσιολογικού [634 nmol thymine formed$\times h^{-1} \times$(mgprotein)$^{-1}$] λειτουργεί επίσης ως διαγνωστικό κριτήριο, ενώ και αυτή ακολουθείται από μοριακό έλεγχο για την εύρεση της μετάλλαξης (Marti et al., 2004).

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
06/05/2024 06:07:01 EEST - 3.143.254.184

Ε.ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΕΣ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΕΙΣ ΜΙΤΟΧΟΝΔΡΙΑΚΩΝ ΑΣΘΕΝΕΙΩΝ

Μέχρι και πριν από αρκετά χρόνια η ιδέα της θεραπείας των μιτοχονδριακών νευρολογικών ασθενειών ήταν ανύπαρκτη. Με την αύξηση όμως των γνώσεων γύρω από τη γενετική και βιοχημική βάση των συγκεκριμένων ασθενειών επιτεύχθηκε ένας πρώτος σχεδιασμός θεραπευτικών προσεγγίσεων για κάποιες από αυτές, με τη δημιουργία αποτελεσματικών και κλινικά εφαρμόσιμων θεραπειών να παραμένει ένα μελλοντικό σχέδιο. Στις τεχνικές αυτές ανήκει η αύξηση της μιτοχονδριακής βιογένεσης, η ενίσχυση της διαδικασίας συγχώνευσης και διαχωρισμού των μιτοχονδρίων, η αλλαγή της αναλογίας της ετεροπλασμίας καθώς και η διαδικασία της κυτοπλασματικής μεταφοράς με στόχο τη πλήρη εξάλειψη των μιτοχονδρίων που φέρουν μεταλλάξεις στο γενετικό υλικό τους (Schon et al., 2010).

Δεδομένου ότι οι μιτοχονδριακές νευρολογικές ασθένειες μπορούν να προέλθουν είτε από μεταλλαγές στο mtDNA, του οποίου η μεταβίβαση ελέγχεται από τους κανόνες της πληθυσμιακής γενετικής, είτε από μεταλλαγές στο πυρηνικό DNA, η μεταβίβαση του οποίου ακολουθεί τους Μεντελιανούς κανόνες, είναι φανερό πως οι θεραπευτικές προσεγγίσεις πρέπει να στοχεύουν και να περιλαμβάνουν το σύνολο των ποικίλων μεταλλάξεων. Στις προσσεγγίσεις που έχουν προταθεί ανήκουν (α) η ενίσχυση της λειτουργικότητας της αναπνευστικής αλυσίδας με χρήση συμπληρωμάτων καρνιτίνης, συνενζύμου Q10, θειαμίνης και φυλλικού οξέος (Marriage et al. 2004), (β) η απομάκρυνση επιβλαβών και τοξικών μεταβολιτών όπως το γαλακτικό οξύ (Kaufmann et al. 2006), (γ) η απομάκρυνση των ελεύθερων ριζών που διαρρέουν από τη δυσλειτουργική αναπνευστική αλυσίδα (Smith et al. 2008), (δ) η θεραπεία των συμπτωμάτων όπως οι επιληπτικές κρίσεις, (ε) η χειρουργική επέμβαση, κυρίως στην περίπτωση της βλεφαρόπτωσης (Edmonds 2004), (στ) η χρήση εμφυτευμάτων κοχλία με στόχο την επαναφορά της ακοής (Sinnathuray et al. 2003) και (ζ) η γενετική συμβουλευτική (Steffann et al. 2006).

Χρήση συμπληρωμάτων συνενζύμου Q10. Τα σύνδρομα έλλειψης συνενζύμου Q10 περιγράφηκαν αρχικά σε ασθενείς που εμφάνιζαν μιτοχονδριακή μυοπάθεια, επαναλαμβανόμενη μυοσφαιρινουρία και

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
06/05/2024 06:07:01 EEST - 3.143.254.184

δυσλειτουργίες του κεντρικού νευρικού συστήματος όπως επιληπτικές κρίσεις, αταξία και νοητική υστέρηση (Ogasahara et al. 1989) ενώ στη συνέχεια χαρακτήρισαν και ασθενείς που εμφάνιζαν παρεγκεφαλιδική αταξία, παρεγκεφαλιδική ατροφία και δυσλειτουργία του κεντρικού ή του περιφερικού νευρικού συστήματος (Gironi et al. 2004). Τα δύο χαρακτηριστικά του συνενζύμου Q10 που καθιστούν τη χρήση του κατάλληλη για θεραπεία μιτοχονδριακών ασθενειών είναι ο διττός του ρόλος τόσο ως αντιοξειδωτικό όσο και ως συστατικό της αναπνευστικής αλυσίδας αλλά και η έλλειψη επιβλαβών επιπτώσεων στον ανθρώπινο οργανισμό, ακόμα και μετά τη χορήγηση υψηλών δόσεων αυτού. Συνήθως χορηγείται παράλληλα με τις βιταμίνες Β, C και K_1 καθώς και με καρνιτίνη (Marriage et al. 2004). Χαρακτηριστική είναι η περίπτωση ασθενούς ηλικίας δύο ετών με μιτοχονδριακή εγκεφαλοπάθεια και νεφρική δυσλειτουργία, στον οποίο χορηγήθηκε εκ του στόματος συμπλήρωμα συνενζύμου Q10, σε μακροχρόνια βάση και παρατηρήθηκε βελτίωση των νευρικών συμπτωμάτων. Αποτελεσματική ήταν και η προληπτική θεραπεία που χορηγήθηκε στην αδελφή του ασθενούς, σε ηλικία ενός έτους μόλις διαγνώσθηκε η ασθένεια (Montini et al. 2008).

Μεταμόσχευση μυελού των οστών στη μιτοχονδριακή νευρογαστρεντερική εγκεφαλοπάθεια (σύνδρομο MNGIE). Με βάση τη γνώση των μηχανισμών παθογένειας του συγκεκριμένου συνδρόμου, οι θεραπευτικές προσεγγίσεις που έχουν αναπτυχθεί στοχεύουν στη βελτίωση της κατάστασης του ασθενούς αλλά και στην πλήρη θεραπεία του. Αρχικά έγιναν δοκιμές αιμοκάθαρσης με σκοπό την απομάκρυνση της θυμιδίνης από την κυκλοφορία, απομάκρυνση παροδική καθώς τα επίπεδα της θυμιδίνης επανήλθαν στα αρχικά μετά από 24 ώρες (Spinazzola et al. 2002). Παρόμοια αποτελέσματα είχε και η εφαρμογή χρόνιας αιμοκάθαρσης για διάρκεια 20 μηνών, η οποία απέτυχε να εμποδίσει την εξέλιξη της ασθένειας και το θάνατο του ασθενούς (la Marca et al. 2006). Ένας διαφορετικός τύπος θεραπείας περιλαμβάνει την ενζυμική αντικατάσταση της φωσφορυλάσης της θυμιδίνης. Για το σκοπό αυτό χορηγήθηκαν σε ασθενείς αιμοπετάλια από υγιείς δότες, τα οποία εμπεριέχουν υψηλά ποσά TPασης, και παρατηρήθηκε μερική μείωση των επιπέδων θυμιδίνης στο αίμα και τα ούρα (Lara et al. 2006). Η σημαντικότερη όμως και πιο αποτελεσματική θεραπευτική προσέγγιση που

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
06/05/2024 06:07:01 EEST - 3.143.254.184

ακολουθήθηκε είναι η αλλογενής μεταμόσχευση αιμοποιητικών βλαστικών κυττάρων (allogeneic hematopoietic stem cell transplantation – AHSCT) με την οποία αποκαθίσταται πλήρως η λειτουργικότητα της φωσφορυλάσης της θυμιδίνης (Halter et al. 2011). Στους ασθενείς που εφαρμόσθηκε παρατηρήθηκε όχι μόνο μείωση των επιπέδων θυμιδίνης και δεοξυουριδίνης στο πλάσμα, αλλά και βελτίωση άλλων κλινικών χαρακτηριστικών όπως της γαστρεντερικής λειτουργίας και της νευροπάθειας.

Αλλαγή της αναλογίας της ετεροπλασμίας. Τα επίπεδα της ετροπλασμίας μέσα στο κύτταρο μπορούν να μεταβάλλονται τόσο στο χώρο όσο και στο χρόνο και η συσσώρευση των μεταλλάξεων του mtDNA η οποία ποικίλει μεταξύ των διαφόρων ιστών (Melov et al., 1997) εξαρτάται από τη συχνότητα και τον τρόπο της μιτοχονδριακής αντιγραφής σε κάθε ιστό (Pohjoismaki et al. 2010). Μέχρι σήμερα έχουν μελετηθεί τρείς τρόποι με τους οποίους μπορεί να επιτευχθεί ο στόχος αυτός. Ο πρώτος περιλαμβάνει τη χρήση ήδη υπαρχόντων κυτταρικών μονοπατιών όπως αυτό της αυτοφαγίας. Έχει βρεθεί πως όταν ετεροπλασμικά κύτταρα που φέρουν σε μεγάλο ποσοστό ελλείμματα στο mtDNA στερούνται γλυκόζης και χειρίζονται με προσφορά κετογενικών (ketogenic) συμπληρωμάτων, μεταβάλλουν τα επίπεδα ετεροπλασμίας τους κάτω από την ουδό και ανακτούν τη φυσιολογική μιτοχονδριακή λειτουργία (Santra et al., 2004). Παρόλο που ο μηχανισμός πίσω από αυτήν τη διαδικασία παραμένει άγνωστος, τα αποτελέσματα υποδεικνύουν τον επιλεκτικό εκφυλισμό των ελαττωματικών μιτοχονδρίων (μιτοχονδριακή αυτοφαγία ή μιτοφαγία) ως πιθανό μέσο για τη μεταβολή. Μέσω της παρκίνης (parkin), μιας Ε3 λιγάση της ουβικουιτίνης, η οποία επιλεκτικά συνδέεται στα δυσλειτουργικά μιτοχόνδρια (Narendra et al., 2008), τα αυτοφαγοσώματα στοχεύουν τα συγκεκριμένα μιτοχόνδρια στο εσωτερικό του κυττάρου διατελώντας ουσιαστικά έναν τύπο ελέγχου ποιότητας της λειτουργίας των μιτοχονδρίων (Twig et al., 2008). Ο δεύτερος τρόπος έχει γενετική βάση. Για παράδειγμα η μετάλλαξη T8993G στο γονίδιο *MTATP6* που προκαλεί το σύνδρομο Leigh (Holt et al., 1990) δημιουργεί μία καινούργια και μοναδική θέση αναγνώρισης της νουκλεάσης SmaI. Από τη στιγμή που τα αγρίου τύπου mtDNA δεν φέρουν τη συγκεκριμένη θέση, η χορήγηση λειτουργικής SmaI θα στόχευε αποκλειστικά τα ελλατωμματικά mtDNAs και συνεπώς θα τα κατέστρεφε, αφήνωντας άθικτα τα φυσιολογικά

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
06/05/2024 06:07:01 EEST - 3.143.254.184

(Tanaka et al., 2002). Η τρίτη προσέγγιση εμφανίζεται πιο γενικευμένη καθώς προτείνει τη χρήση μιας περιοριστικής ενδονουκλεάσης η οποία επιλεκτικά θα στοχεύει κάθε μεταλλαγμένο και ελλατωμματικό mtDNA. Η διαδικασία αυτή βασίζεται στη εκλεκτικότητα για σύνδεση στο DNA των δακτυλίων ψευδαργύρου (ZFs),οι οποίοι αποτελούν στοιχεία πολλών μεταγραφικών παραγόντων και συνδέονται στο DNA με υψηλή συγγένεια σε συγκεκριμένες αλληλουχίες (Urnov and Rebar, 2002). Η μεθοδος περιλαμβάνει την προσάρτηση δακτυλίων ψευδαργύρου σε μία περιοριστική ενδονουκλεάση, η οποία θα συμπεριφέρεται φυσιολογικά αλλά θα έχει ειδικότητα να διασπάσει οποιαδήποτε DNA αλληλουχία (Porteus and Carroll, 2005)

Κυτοπλασματική μεταφορά. Η αποτελεσματικότερη θεραπεία των μιτοχονδριακών ασθενειών περιλαμβάνει την πλήρη εξάλειψη των μεταλλαγμένων mtDNA. Ένας τρόπος για να επιτευχθεί ο σκοπός αυτός είναι με μεταφορά ενός *in vitro* γονιμοποιημένου πυρήνα από το κυτταρόπλασμα του ωοκυττάρου μιας γυναίκας-φορέα μιας μιτοχονδριακής μετάλλαξης σε ένα απύρηνο ωάριο που προέρχεται από υγιή δότη. Το έμβρυο που δημιουργείται αποτελείται από ένα φυσιολογικό πυρήνα της μητέρας που πάσχει από το μιτοχονδριακό νόσημα και από το κυτταρόπλασμα που περιέχει τα υγιή mtDNA. Η προσέγγιση αυτή έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία ενός εμβρύου που φέρει τα πυρηνικά χαρακτηριστικά και των δύο γονέων του (Schon et al. 2010) και μπορεί να εμφυτευτεί στη συνέχεια στη μήτρα της μητέρας. Είναι μία μορφή θεραπείας που βρίσκεται ακόμα σε πειραματικό στάδιο ενώ για την εφαρμογή της απαιτείται και η επίλυση όλων των ηθικών ζητημάτων που προκύπτουν (Rubenstein et al., 1995).

Ενίσχυση της μιτοχονδριακής βιογένεσης. Τα τελευταία χρόνια η ενίσχυση του συνολικού ρυθμού της βιογένεσης των μιτοχονδρίων έχει αναδειχθεί ως μια πολλά υποσχόμενη θεραπευτική προσέγγιση των μιτοχονδριακών ασθενειών. Οι μεταγραφικοί παράγοντες PGC-1a (peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator), PGC-1β και PRC (PGC related coactivator) λειτουργούν σαν ενεργοποιητές ενός σηματοδοτικού μονοπατιού που ελέγχει τη σύνθεση των συστατικών του συστήματος της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης που κωδικοποιούνται από το πυρηνικό DNA. (Scarpulla et al. 2008). Το μονοπάτι αυτό ρυθμίζει επίσης και μιτοχονδριακές λειτουργίες μέσω ελέγχου της διαμόρφωσης του παράγοντα

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
06/05/2024 06:07:01 EEST - 3.143.254.184

TFAM (transcription factor A, mitochondrial), παράγοντα που ρυθμίζει τη μιτοχονδριακή μεταγραφή και τη διαμόρφωση των μιτοχονδριακών πρωτεϊνών (Ekstrand et al. 2004). Επομένως, μία θετική ρύθμιση της σηματοδότησης μέσω PGC-1a θα είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση του συνολικού αριθμού των μιτοχονδρίων αποκαθιστώντας με αυτόν τον τρόπο και τη συνολική βιοενεργητική των μιτοχονδρίων. Η παραπάνω διαδικασία είναι εφικτή εφόσον φυσικά η βλάβη που υπάρχει στα μιτοχόνδρια επιτρέπει έστω και σε χαμηλά επίπεδα τη λειτουργία του συστήματος οξειδωτικής φωσφορυλίωσης (Schon et al. 2010). Η εύρεση και η χρήση αναλόγων του PGC-1a όπως το bezafibrate (25) ή η PQQ (pyrroloquinoline quinine) (Chowanadisai et al. 2010) θα μπορούσαν να επιτρέψουν την ανάπτυξη αποτελεσματικών θεραπευτικών προσεγγίσεων για τις κληρονομικές μιτοχονδριακές νευρολογικές ασθένειες. Ο πολλαπλασιαμός των μιτοχονδρίων σε απόκριση των αναλόγων του PGC-1a ομοιάζει με τον μιτοχονδριακό πολλαπλασιασμό που επιτελείται στις ερυθρές ρακκώδεις ίνες που εμφανίζονται στους ασθενείς που φέρουν μεταλλάξεις του mtDNA. (DiMauro and Schon 2003). Οι δύο διαδικασίες, παρότι όμοιες, επιτελούνται μέσω διαφορετικών μηχανισμών. Ο παράγοντας PGC-1a ενεργοποιεί τη βιογένεση όλων των μιτοχονδρίων, είτε είναι μεταλλαγμένα και δυλειτουργικά, είτε όχι (Wenz et al. 2009). Αντίθετα, οι ερυθρές ρακκώδεις ίνες στους ασθενείς, παρόλο που μπορεί να είναι ετεροπλασμικές, αποτελούνται σχεδόν αποκλειστικά από μιτοχόνδρια που φέρουν μεταλλαγμένα μόρια mtDNA, με τον πολλαπλασιαμό των φυσιολογικών μιτοχονδρίων να κυμαίνεται σε μηδενικά επίπεδα (Mita et al. 1989).

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
06/05/2024 06:07:01 EEST - 3.143.254.184

ΣΤ.ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Τα τελευταία χρόνια η μελέτη του μιτοχονδριακού γενετικού υλικού έχει λάβει μεγάλες διαστάσεις και η δυσλειτουργία των μιτοχονδρίων έχει ενοχοποιηθεί όχι μόνο για μιτοχονδριακές ασθένειες που ακολουθούν τους κλασικούς Μενδελιανούς κανόνες ή την μητρική κληρονόμηση αλλά και και για χρόνιες εκφυλιστικές νευρολογικές νόσους όπως η νόσος του Parkinson και η νόσος του Alzheimer (Schon et al. 2010).

Γνωρίζοντας τη μοριακή βάση της λειτουργίας των μιτοχονδρίων, η αναγνώριση των διαταραχών σε αυτήν καθώς και η μελέτη του μηχανισμού γήρανσης γίνονται όλο και πιο σημαντικά στη σύγχρονη ιατρική. Το γεγονός αυτό οφείλεται στα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά των μιτοχονδριακών ασθενειών: (α) η διάγνωση των μιτοχονδριακών ασθενειών είναι δυνατή μόνο όταν κάποιος γνωρίζει ότι μπορεί να φέρει μιτοχονδριακές μεταλλαγές, (β) η ετερογένεια των μιτοχονδριακών ασθενειών υπο τους όρους της φαινοτυπικής έκφρασης και της γενοτυπικής ποικιλίας καθιστά των τύπο αυτό των ασθενειών ιδιαίτερα μοναδικο (γ) αποτελούν ασθένειες που μπορεί να οφείλονται σε μεταλλαγές τόσο στο μιτοχονδριακό όσο και στο πυρηνικό γονιδίωμα. Ο αριθμός των μεταλλαγών σε πυρηνικά γονίδια που προκαλούν ασθένειες αυξάνεται συνεχώς ενώ οι μιτοχονδριακές μεταλλαγές (σημειακές μεταλλάξεις και ελλείμματα) αναγνωρίζονται μόνο στο 15-20% των ασθενών παιδικής ηλικίας. Γίνεται φανερό πως μόνο για ένα μικρό αριθμό ασθενειών έχει βρεθεί και η αντίστοιχη υπεύθυνη μετάλλαξη (Rotig et al. 2004). Για το λόγο αυτό η αποσαφήνιση της γενετικής βάσης της αναπνευστικής αλυσίδας είναι σημαντική για τη γενετική διάγνωση στους ασθενείς αλλά και για τη διατήρηση της συνέχειας της έρευνας πάνω στις συγκεκριμένες νόσους. Η αναγνώριση ενός νέου πιθανού γονιδίου για την εμφάνιση του νοσήματος επιτρέπει τη γενετική διάγνωση σε άλλες οικογένειες όπως επίσης και η αναγνώριση μίας νέας μετάλλαξης σε μία ήδη γνωστή ασθένεια.

Έτσι κρίνεται απαραίτητη η περαιτέρω μελέτη τόσο σε επίπεδο γενετικού υλικού για εύρεση νέων παθογενών μεταλλάξεων όσο και σε επίπεδο παθοφυσιολογίας με σκοπό την ανίχνευση καινούργιων και αποτελεσματικών θεραπευτικών προσεγγίσεων. Χαρακτηριστικό παράδειγμα

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
06/05/2024 06:07:01 EEST - 3.143.254.184

αποτελούν οι γενετικές προσεγγίσεις για αλλαγή του επιπέδου ετεροπλασμίας οι οποίες υπόσχονται θεραπείες εξατομικευμένης μιτοχονδριακής ιατρικής, με αποτέλεσμα ασθένειες που οφείλονται σε συγκεκριμένες μιτοχονδριακές μεταλλάξεις θα στοχεύονται και θα θεραπεύονται επιλεκτικά (Schon et al. 2010).

Σημαντικό ρόλο επίσης διαδραματίζει στην πρόληψη της μεταβίβασης των μιτοχονδριακών ασθενειών η γενετική συμβουλευτική καθώς και η προεμφυτευτική διάγνωση (PGD). (Poulton et al. 2010). Η αναλογία των μεταλλαγμένων μορίων mtDNA έτσι όπως αυτή βρίσκεται σε δείγματα που προέρχονται από χοριακές λάχνες ή αμνιακό υγρό μπορούν να χρησιμοποιηθεί για τον υπολογισμό του κινδύνου εμφάνισης ανάλογα με την εκάστοτε μετάλλαξη (Thorburn and Dahl, 2001). Παρόλα αυτά η αξία πρόβλεψης της ανάλυσης αυτή χαρακτηρίζεται αβέβαιη καθώς το μεταλλαγμένο φορτίο mtDNAs των αμνιοκυττάρων ή των χοριακών λαχνών μπορεί να μη συμπίπτει με το αντίστοιχο φορτίο άλλων εμβρυϊκών ιστών ενώ μπορεί να υφίσταται μεταβολές μέσα στη μήτρα ή μετα από τη γέννηση. Σε κάθε περίπτωση η συγκεκριμένη προσέγγιση είναι ιδιαίτερα χρήσιμη για τις μιτοχονδριακές ασθένειες που οφείλονται σε μετάλλαξη πυρηνικού γονιδίου.

Τέλος, ιδιαίτερη σημασία έχει και το οικονομικό και κοινωνικό αντίκτυπο των μιτοχονδριακών ασθενειών. Παρόλο που τα μιτοχονδριακά νοσήματα είναι πλέον περισσότερο αναγνωρίσιμα σε σχέση με το παρελθόν, δεν έχουν δημιουργηθεί ακόμα μεγάλης κλίμακας έρευνες για το κόστος που έχουν στη δημόσια υγεία. Η χρόνια φύση τους καθώς και η συμμετοχή όλων σχεδόν των συστημάτων του ανθρώπινου σώματος υποδηλώνει πως οι ασθενείς με μιτοχονδριακά νοσήματα συχνά χρήζουν πολλών διαφορετικών μορφών υποστήριξης και φροντίδας (McFarland et al. 2007).

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
06/05/2024 06:07:01 EEST - 3.143.254.184

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Al Rawi S., Louvet – Vallee S., Djeddi A., Sachse M., Culetto E., Hajjar C., Boyd L., Legouis R., Galy V. Postfertilization autophagy of sperm organelles prevents paternal mitochondrial DNA transmission. Science 334:1144-1147, 2011
- Anderson S., Bankier A.T., Barell B.G., Debruijn M.H.L., Coulson A.R., Drouin J., Eperon I.C., Nierlich D.P., Roe B.A., Sanger F., Schreier P.H., Smith A.J.H., Staden R., Young I.G. Sequence and organization of the human mitochondrial genome. Nature 290:457-465, 1981
- Arner E.S.J., Eriksson S. Mammalian deoxynucleotide kinases. Pharmacology & Therapeutics 67:155-186, 1995
- Ashizawa T., Subramony S.H. What is Kearns-Sayer syndrome after all? Archives of Neurology 58:1053-1054, 2001
- Ashrafzadeh F., Ghaemi N., Akhondian J., Beiraghi Toosi M., Elmi S. Hypoparathyroism as the first manifestation of Kearns Sayre syndrome: a case report, Iranian Journal of Child Neurology 7:53-57, 2013
- Baraitser M. The Genetics of Neurological Disorders. 3rd edition. Oxford University Press, 1997
- Bardosi A., Creutzfeldt W., DiMauro S., Felgenhauer K., Friede R.L., Goebel H.H., Kohlschutter A., Mayer G., Rahfl G., Sernidei S. Myo-, neuro-, gastrointestinal encephalopathy (MNGIE syndrome) due to partial deficiency of cytochrome-c-oxidase. A new mitochondrial multisystem disorder. Acta Neuropathologica 74:248-258, 1987
- Bereiter – Hahn J. Behavior of mitochondria in the living cell. International Review of Cytology 122:1-63, 1990
- Berenbaum F., Cote D., Pradat P. Rancurel G. Kearns – Sayre syndrome. Neurology 40:193-194, 1990
- Berenberg R.A., Pellock J.M., DiMauro S., Schotland D.L., Bonilla E., Eastwood A. Lumping or splitting? ‘’Ophthalmoplegia – plus’’ or Kearns – Sayre syndrome? Annals of Neirology, 1:37-54, 1977
- Bird J.M., Thorburn R.D., Frazier E.A. Modelling biochemical features of mitochondrial neuropathy. Biochimica et Biophysica Acta 1840: 1380-1392, 2014
- Blumenthal D.T., Shanske S., Schochet S.S., Santorelli F.M., DiMauro S., Jaynesm M., Bodensteiner J. Myoclonus epilepsy with ragged red fibers and multiple mtDNA deletions. Neurology 214:86-93, 1998

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
06/05/2024 06:07:01 EEST - 3.143.254.184

- Bonawitz N., Clayton D. Initiation and beyond: multiple functions of the human mitochondrial transcription machinery. Molecular Cell 24:813-825, 2006
- Boutzios G., Livadas S., Marinakis E., Opie N., Economou F. Diamanti-Kandarakis E. Endocrine and metabolic aspects of the Wolfram syndrome. Endocrine 40:10-13, 2011
- Carelli V., Ross-Cisneros F.N., Sadun A.A. Optic nerve degeneration and mitochondrial dysfynction: genetic and acquired optic neuropathies. Neurochemistry International 40:573-584, 2002
- Carelli V., Giordano C., d'Amanti G. Pathogenic expression of homoplasmic mtDNA mutations need a complex nuclear mitochondrial interaction. Trends in Genetics 19:257-262, 2003a
- Carelli V., Wang K., Valentino M.L., Shankar S.P., Salomao S.S., Belford R., Sadun A.A., Stone E.M. Segregation analysis of a large LHON pedigree is consistent with the existence of a nuclear modifying gene. [ARVO Abstract #937] Invest Ophthalmology Vis Sciences, 2003b
- Carelli V., Ross-Cisneros F., Sadun A. Mitochondrial dysfunction as a cause of optic neuropathies. Progress in Retinal and Eye Research 23:53-89, 2004
- Carod-Artal F.J., Herrero M.D., Lara M.C., Lopez-Gallardo E., Ruiz-Pesini E., Marti R., Montoya J. Cognitive dysfunction and hypogonadism in a Brazilian patient with mitochondrial neurogastrointestinal encephalomyopathy and a novel ECGF1 mutation. European Journal of Neurology 14:581-585, 2007
- Chinnery P.F., Howell N., Lightowlers R., Turnbull D. Molecular pathology of MELAS and MERRF: the relationship between mutation load and clinical phenotype. Brain 120:1713-1721, 1997a
- Chinnery P.F, Johnson M.A., Taylor R.W., Durward W.F., Turnbull D.M. A novel mitochondrial tRNA isoleukine gene mutation causing chronic progressive external ophthalmoplegia. Neurology 49:1166-1168, 1997b
- Chinnery P.F, Johnson M.A., Wardell T.M., Singh-Kler R., Hayes C., Brown D.T., Taylor R.W., Bindoff L.A., Turnbull D.M. The epidemiology of pathogenic mitochondrial DNA mytations. Annals of Neurology 48:188-193, 2000
- Chowanadisai W., Bauerly K.A., Tchaparian E., Wong A., Cortopassi G.A., Ruckler R.B. Pyrroloquinoline quinine stimulates mitochondrial biogenesis through c AMP response element-binding protein phosphorylation and increased PGC-1a expression. Journal of Biological Chemisty 285:142-152, 2010

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
06/05/2024 06:07:01 EEST - 3.143.254.184

- Christian E.B., Spremulli L.L. Mechanism of protein biosynthesis in mammalian mitochondria. Biochimica et Biophysica Acta 1819:1035-1054, 2012
- Cohen H.B. Neuromuscular and Systemic Presentations in adults: diagnoses beyond MERRF and MELAS. Neurotherapeutics 10:221-241, 2013
- Coller H.A., Khrapko K., Bodyak N.D., Nekhaeva E., Herrero-Jiminez P., Thilly W.G. High frequency of homoplasmic mitochondrial DNA mutations in human tumors can be explained without selection. Nature Genetics 28:147-150, 2001
- DelCarlo M., Loeser R.F. Chondrocyte cell death mediated by reactive oxygen species – dependent activation of PKC-betal. American Journal of Cell Physiology 290:802-811, 2006
- DiMauro S. Mitochondrial Diseases. Biochimica et Biophysica Acta 1658:80-88, 2004
- DiMauro S.,Bonilla E., Lombes A., Shanske S., Minetti C., Moraes C.T. Mitochondrial encephalomyopathies. Neurol Clinics 8:483-506, 1990
- DiMauro S., Gurgel-Giannetti J. The expanding phenotype of mitochondrial myopathy. Current Opinion in Neurology 18:538-542, 2005
- DiMauro S., Hirano M. Mitochondrial encephalomyopathies: an update. Neuromuscular Disorders 15:276-286, 2005
- DiMauro S., Schon E.A. Mitochondrial respiratory-chain diseases. New England Journal of Medicine 348:2656-2668, 2003
- Doda J.N., Wright C.T., Clayton D.A. Elongation of displacement –loop strands in human and mouse mitochondrial DNA is arrested near specific template sequences. Biochemistry 78:6116-6120, 1981
- Edmonds J.L. Surgical and anesthetic management of patients with mitochondrial dysfunction. Mitochondrion 4:543-548, 2004
- Ekstrand M.I., Falkenberg M., Rantanen A., Park C.B., Gaspari M., et al. Mitochondrial transcription factor A regulates mtDNA copy number in mammals. Human Molecular Genetics 13:935-944, 2010
- Erickson R.P. Leber’s optic atrophy, a possible example of mitochondrial inheritance. American Journal of Human Genetics 24:348-349, 1972
- Finsterer J., Hardo H.F., Baets J. European federation of neurological siances. EFNS guidelines on the molecular diagnosis of mitochondrial disorders. European Journal of Neurology 16: 1255-1264, 2009

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
06/05/2024 06:07:01 EEST - 3.143.254.184

- Franceschina L., Salami S., Bordoni A., Sciacco M., Napoli L., Comi G.P., Prelle A. A et al. A novel mitochondrial t RNAIle point mutation in chronic progressive external ophthalmoplegia. Journal of Neurology 245:755-758, 1998
- Friedkin M., Roberts D. The enzymatic synthesis of nucleotides.I. Thymidine phosphorylase in mammalian tissue. Journal of Biological Chemistry 207:245-256, 1954
- Futterman S. Metabolism and photochemistry in the retina. In: Moses R. Adler's Physiology of the eye, 7th edition, St Luis CV Mosb Co, 411-426, 1981
- Gemmel N.J., Western R.S., Watson J.M., Marshall Graves J.A. Evolution of the mammalian mitochondrial control region – comparisons of control region sequences between monotreme and therian mammals. Molecular Biology Evolution 6: 798-808, 1996
- Gironi M., Lamperti C., Nemni R., Moggio M., Comi G., Guerini F.R., Ferrante P., Canal N., Naini A., Bresolin N., DiMauro S. Late-onset celebellar ataxia with hypogonadism and muscle coenzyme Q10 deficiency. Neurology 62:818-820, 2004
- Gray M.W., Burger G., Lang B.F. Mitochondrial evolution. Science 283:1476-1481, 1999
- Gray M.W. Origin and evolution of mitochondrial DNA. Annual Review of Cell Biology 5:25-50, 1989
- Halter J., Schupbach W.M., Casali C., Elhasir R., Fay K., Hammas S., Illa I., Kappeler L., Krahenbuhl S., Lehmann T., Mandel H., Marti H., Mattle H.M, Orchard K., Savage D., Sue C.M., Valcarel D., Gratwohl A., Hirano M. Allogeneic hematopoietic SCT as a treatment option for patients with mitochondrial neurogastrointestinal encephalomyopathy (MNGIE): a consensus conference proposal for a standardized approach. Bone Marrow Transplantation 46:330-337, 2011
- Hatefi Y. The mitochondrial electron transport and oxidative phosphorylation system. Annual Review of Biochemistry 54:1015-1069, 1985
- Hattori Y., Goto Y., Sakuta R., Nonaka I., Mizuno Y., Horai S. Point mutations in mitochondrial t RNA genes: sequence analysis of chronic progressive external ophthalmoplegia (CPEO). Journal of Neurological Sciences 125:50-55, 1994
- Hirano M., Silvestri G., Blake D.M., Lombes A., Minetti C., Bonilla E., Hays A.P., Lovelace R.E., Butler I., Bertonini T.E. Mitochondrial neurogastrointestinal encephalomyopathy (MNGIE): clinical, biochemical and genetic features of an autosomal recessive mitochondrial disorder. Neurology 44:721-727, 1994
- Hirano M., Nishigaki Y., Marti R. MNGIE: a disease of two genomes. Neurologist 10:8-17, 2004

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
06/05/2024 06:07:01 EEST - 3.143.254.184

- Holt I.J., Harding A.E., Morgan-Hughes J.A. Deletions of muscle mitochondrial DNA in patients with mitochondrial myopathies. Nature 331:717-719, 1988
- Holt I.J., Harding A.E., Petty R.K., Morgan-Hughes J.A. A new mitochondrial disease associated with mitochondrial DNA heteroplasmy. American Journal of Human Genetics 46:428-433, 1990
- Huoponen K., Vlikki J., Aula P., Nikoskelainen E.K., Savontaus M.L. A new mtDNA mutation associated with Leber's hereditary optic neuroretinopathy. American Journal of Human Genetics 48:1147-1153, 1991
- Johansson M., Karlsson A. Cloning of the c DNA and chromosomal localization of the gene for human thymidine kinase 2. Journal of Biological Chemistry 13:8454-8458, 1997
- Johnson A.A., Johnson K.A. Fidelity of nucleotide incorporation by human mitochondrial DNA polymerase. Journal of Biological Chemistry 276:38090-38096, 2001
- Kaufmann P., Engelstad K., Wei Y., Jhung S., Sano M.C., Shungu D.C., Millar W.S., Hong X., Gooch C.L., Mao X., Pascual J.M., Hirano M., Stacpoole P.W., DiMauro S., De Vivo D.C. Dichloroacetate causes toxic neuropathy in MELAS: a randomized, controlled clinical trial. Neurology 66:324-330, 2006
- Kaukonen J.A., Amati P., Suomalainen A., Rotig A., Piscaglia M.G., Salvi F. et al. An autosomal locus predisposing to multiple deletions of mtDNA on chromosome 3p. American Journal of Human Genetics 58:763-769, 1996
- Kaukonen J.A., Zeviani N., Comi G.P., Piscaglia M.G., Peltonen L., Suomalainen A. A third locus predisposing to multiple deletions of mtDNA in autosomal dominant progressive external ophthalmoplegia. American Journal of Human Genetics 65:256-251, 1999
- Kazakos K., Kotsa K., Yavropoulou A., Dionyssopoulos A., Grabs R., Yovos J., Polychronakos C. Familial clustering strongly suggests that the phenotypic variation of the 8344 A>G lys mitochondrial t RNA mutation is encoded in cis. Annals of Human Genetics 76:296-300, 2012
- Kyriakouli D.S., Boesch P., Taylor R.W., Lightowlers R.N. Progress and prospects: gene therapy for mitochondrial DNA disease. Gene Therapy 15:1017-1023, 2008
- la Marca G., Malvagia S., Casetta B., Pasquini E., Pela I., Hirano M., Donati M.A., Zammarchi E. Pre- and post-dialysis quantitative dosage of thymidine in urine and plasma of a MNGIE patient by using HPLC-ESI-MS/MS. Journal of Mass Spectrometry 41:586-592, 2006
- Lara M.C., Weiss B., Illa I., Madoz P., Massuet L., Andreu A.L., Valentino M.L., Anikster Y., Hirano M., Marti R. Infusion of platelets transiently reduces nucleoside overload in MNGIE. Neurology 67: 1461-1463, 2006

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
06/05/2024 06:07:01 EEST - 3.143.254.184

- Lopez L.C., Akman H.O., Garcia-Gazorla A., Dorado B., Marti R., Nishimo I.Tadesse S., Pizzorno G., Shungu D., Bonilla E., Tanji K., Hirano M. Unbalanced deoxynucleotide pools cause mitochondrial DNA instability in thymidine prosphorylase-deficient mice. Human Molecular Genetics 18:714-722,2009
- Lopez – Gallardo E., Lopez-Perez M.J., Montoya J. Ruiz-Pesini E. CPEO and KSS differ in the percentage and location of the mtDNA deletion. Mitochondrion 9:324-317, 2009
- Maceluch J.A., Niedziela M. The clinical diagnosis and molecular genetics of Kearns – Sayre syndrome: a complex mitochondrial encephalomyopathy. Pediatric Endocrinology Reviews 4:117-137, 2007
- Makey D., Howell N. A variant of Leber hereditary optic neuropathy characterized by recovery of vision and by an unusual mitochondrial genetic etiology. American Journal of Human Genetics 51:1218-1228, 1992
- Man P.Y., Griffiths P.G., Brown D.T., Howell N., Turnbull D.M. The epidemiology of Leber hereditary optic neuropathy in the North East of England. American Journal of Human Gnetics 72:333-339, 2003
- Marriage B.J., Clandinin M.T., Macdonald I.M., Glerum D.M. Cofactor treatment improves ATP synthetic capacity in patients with oxidative phosphorylation disorders. Molecular Genetics and Metabolism 81:263-272, 2004
- Marti R., Spinazzola A., Nishimo I., Andreu L.A., Naini A., Tadesse S., Oliver A.J., Hirano M. Mitochondrial neurogastrointestinal encephalomyopathy and thymidine metabolism: results and hypotheses. Mitochondrion 2:143-147, 2002
- Marti R., Spinazzola A., Tadesse S., Nishimo I., Nishigaki Y., Hirano M. Definitive diagnosis of mitochondrial gastrointestinal encephalomyopathy by biochemical assays. Clinical Chemistry 50:120-124, 2004
- Marti R., Verschuuren G.J., Buchman A., Hirano I., Tadesse S., Van Kuilenburg B.A., Van Gennip H.A., PoorthuisJ.B., Hirano M. Late-onset MNGIE due to partial loss of thymidine phosphorylase activity. Annals of Neurology 58:649-652, 2005
- McFarland R., Schaefer A.M., Gardner J.L., Lynn S., Hayes C.M., Barron M.J., Walker M., Chinnery P.F., Taylor R.W., Turnbull M.D. Familial myopathy.New insights into the T14709C mitochondrial t RNA mutation. Annals of Neurology 55:478-484, 2004
- McFarland R., Taylor W.R., Turnbull M.D. The neurology of mitochondrial DNA disease. Lancet Neurology 1:343-351, 2002
- McFarland R., Taylor W.R., Turnbull M.D. Mitochondrial diseases - its impact, etiology and pathology. Current Topics in Developmental Biology 77:113-155, 2007

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
06/05/2024 06:07:01 EEST - 3.143.254.184

- McFarland R., Taylor W.R., Turnbull M.D. A neurological perspective on mitochondrial disease. Lancet Neurology 9:829-840, 2010
- McKechie N.M., King M., Lee W.R. Retinal pathology in the Kearns-Sayre syndrome. British Journal of Ophthalmology 69:73, 1975
- Melov S., Hinerfeld D., Esposito L., Wallace D.C. Multi-organ characterization of mitochondrial genomic rearrangements in ad libitum and caloric restricted mice show striking somatic mitochondrial DNA rearrangements with age. Nucleic Acids Research 25:974-982, 1997
- Meschia F.J., Ross A.O. Does mitochondrial DNA have a protective role in stroke? The Lancet Neurology 5:453-454, 2010
- Minczuk M., He J., Duch A.M., Ettema T.J., Chlebowski A., Dzionek K., Nijtmans L.G.J., Huynen M.A., Holt I.J. TEFM (c17orf42) is necessary for transcription of human mtDNA. Nucleic Acids Research 39:4284-4299
- Mita S., Schmidt B., Schon E.A., DiMauro S., Bonilla E. Detection of ‘’deleted’’ mitochondrial genomes in cytochrome-c oxidase-deficient muscle fibers of a patient with Kearns-Sayre syndrome. Proccedings of the National Academy of Sciences of U.S.A. 86:9506-9513, 1989
- Mitani T., Aida N., Tomiyasu M., Wada T., Osaka H. Transient ischemic attack-like episodes without stroke-like lesions in MELAS. Pediatric Radiology 43:1400-1403, 2013
- Montini G., Malaventura C., Salviati L. Early coenzyme Q10 supplementationin primary coenzyme Q10 deficiency. New England Journal of Medicine 358: 2849-2850, 2008
- Nakamura M., Nakako S., Goto Y., Ozawa M., Nagahama Y., Fukuyama H., Akiquchi I., Kaji R., Kimura J. A novel point mutation in mitochondrial t RNASer(UCN) gene detected in a family with MERRF/MELAS overlap syndrome. Biochemical et Biophysica Research Communications 214:86-93, 1995
- Narendra D., Tanaka A., Suen D.F., Youle R.J. Parkin is recruited selectively to impaired mitochondria and promotes thei autophagy. Journal of Cell Biology 183:795-803, 2008
- Needham M., Duley J., Hammond S., Herkes G.K., Hirano M., Sue C.M. Mitochodrial disease mimicking Charcot-Marie-Tooth disease. Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry 78:99-100, 2007
- Newman N.J. Leber’s optin neuropathy. In: Miller N.R., Newman N.J. (Eds.) Walsh and Hoyt’s Clinical Neuro-Ophthalmology. Williams & Wilkins, Baltimore, 742-753
- Newmeyer D.D., Ferguson-Miller S. Mitochondria: releasing power for life and unleashing the machineries of death. Cell 112:481-490, 2003

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
06/05/2024 06:07:01 EEST - 3.143.254.184

- Nikoskelainen E., Hoyt W.F., Nummelin K. Ophthalmoscopic findings in Leber's hereditary optic neuropathy. II. The fundus findings in affected family memders. Archives in Ophthalmology 101:1059-1068, 1983
- Nikoskelainen E., Hoyt W.F., Nummelin K., Schatz H. Fundus findings in Leber's hereditary optic neuropathy. III. Fluorescein angiographic studies. Archives in Ophthalmology 102:981-989, 1984
- Nishino I., Spinazzola A., Hirano M. Thymidine phosphorylase gene mutations in MNGIE, a human mitochondrial disorder. Science 283:689-692, 1999
- Nishino I., Spinazzola A., Hirano M. MNGIE: from nuclear DNA to mitochondrial DNA. Neuromuscular diseases 11:7-10, 2001
- Noji H., Yoshida M. The rotary machine in the cell: ATP synthase. Journal of Biological Chemistry 276:1665-1668, 2001
- Obara – Moszynska M., Malecuch J., Bobkowski W., Baszko A., Jaremba O., Krawczynski M. Niedziela M. A novel mitochondrial DNA deletion in a patient with Kearns – Sayre syndrome: a late-onset of the fatal cardiac conduction deficit and cardiomyopathy accompanying long-term rGH treatment. BCM Pediatrics, 13:78-87, 2013
- Ogasahara S.,Engel A.G., Frens D., Mack D. Muscle coenzyme Q deficiency in familial mitochondrial encephalomyopathy. Proceedings of the Nationall Academy of Sciences of the U.S.A. 86:2379-2382
- Ojala D., Montoya J., Attardi G. t RNA punctuation model of RNA processing in human mitochondria. Nature 290:470-474, 1981
- Oostra R.J., Bolhuis P.A., Wijburg F.A., Zom-Ende G., Bleeker-Wagemakers E.M. Leber's hereditary optic neuropathy: correlations between mitochondrial genotype and visual outcome. Journal of Medical Genetics 31:280-286, 1994
- Osawa S., Jukes H.T., Watanabe K., Muto A. Recent evidence for evolution of the genetic code. Microbiological Reviews 56:229-264, 1992
- Papadimitriou A., Comi G.P., Hadjigeorgiou G.M., Bordoni A., Sciacco M., Napoli L., Prelle A., Moggio M., Fagiolari G., Bresolin N., Salani S., Anastasopoulos I., Giassakis G., Divari R., Scarlato G. Partial depletion and multiple deletions of muscle mtDNA in familial MNGIE syndrome. Neurology 51:1086-1092, 1998.
- Pearce S., Nezich C.L., Spinazzola A. Mitochondrial diseases: Translation matters. Molecular and Cellular Neuroscience 55: 1-12, 2013
- Petty R.K.H., Harding A.E., Morgan-Huges J.A. The clinical future of mitochondrial myopathies. Brain 109:915-919, 1986

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
06/05/2024 06:07:01 EEST - 3.143.254.184

- Pietromonaco S., Denslow N., O'Brien T.W. Proteins of mammalian mitochondrial ribosomes. Biochimie 73:827-836, 1991
- Pohjoismaki J.L.O., Goffart S. Of circles, forks and humanity: topological organisation and replication of mammalian mitochondrial DNA. BioEssays: news and reviews in molecular, cellular and developmental biology 33:290-299, 2011
- Pohjoismaki J.L.O., Holmes J.B., Wood S.R., Yang M.Y., Yasukawa T., Reyes A, Bailey L.J. et al. Mammalian mitochondrial DNA replication intermediates are essentially duplex but contain extensive tracts of RNA/DNA hybrid. Journal of Molecular Biology 397:1144-1155, 2010
- Pontarin G., Ferraro P., Valentino M.L., Hirano M., Reichard P., Bianchi V. Mitochondrial DNA depletion and thymidine phosphate pool dynamics in a cellural model of mitochondrial neurogastrointestinal encephalopathy. Journa; of Biological Chemistry 28: 22720-22728, 2006
- Porteus M.H., Carroll D. Gene targeting using zinc finger nucleases. Nature Biotechnology 23:967-973, 2005
- Poulton J., Deadman M.E., Gardiner R.M. Duplication of mitochondrial DNA in mitochondrial myopathies. Lancet 1:236;240, 1989
- Poulton J., Chiarrati M.R., Meirelles F.V., Kennedy S. Wells D., Holt I.J. Transmission of mitochondrial DNA diseases and ways to prevent them. PLoS Genetics 6 : doi:10.1371/journal.pgen.1001066 , 2010
- Pozzan T., Magalhaes R., Rizzuto R. The comeback of mitochondria to calcium signaling. Cell Calcium 28:279-283, 2000
- Puri A., Pradhan A., Chaudhary G., Singh V., Sethi R., Narain V.S. Symptomatic complete heart block leading to a diagnosis of Kearns – Sayre Syndrome. Indian Heart Journal 64:515-517, 2012
- Quande A., Zierz S., Klingmuller D. Endocrine abnormalities in mitochondrial myopathy with external ophthalmoplegia. Clinical Investigator 70:396-402
- Rabinowitz M., Swift H. Mitochondrial nucleic acids and their relation to the biogenesis of mitochondria. Physiological Reviews 50:376-427, 1970
- Rigoli L., Di Bella C. Wolfram syndrome 1 and Wolfram syndrome 2. Current Opinion in Pediatrics 24:512-517, 2012
- Rorbach J., Richter R., Wessels H.J., Wydro M., Pekalski M., Farhoud M., Kuhl I., Gaisne M., Bonnefoy N., Smeitink J.A., Lightowlers R.N., Chrzanowska-Lightowlers Z.M. The

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
06/05/2024 06:07:01 EEST - 3.143.254.184

human mitochondrial ribosome recycling factor is essential for cell viability. Nucleic Acids Research 36:5787-5799, 2008

- Rotig A. Human diseases with impaired mitochondrial protein synthesis. Biochimica et Biophysica Acta 1807:1198-1205, 2011
- Rotig A., Lebon S., Zinovieva E., Mollet J., Sarzi E., Bonnefont J.P., Munnich A. Molecular diagnostics of mitochondrial disorders. Biochimica et Biophysica Acta 1659:129-135, 2004
- Rubenstein D.S., Thomasma D.C., Schon E.A., Zinaman M.J. Germ-line therapy to cure mitochondrial disease:protocol and ethics of on vitro ovum nuclear transplantation. Cambridge Quarterly of Healthcare Ethics 4:316-339, 1995
- Sacconi S., Salviati L., Nishigaki Y., Walker W.F., Hernandez-Rosa E., Trevisson E., Delplace S., Desnuelle C., Shanske S., Hirano M., Schon E.A., Bonilla E., De Vivo D.C., DiMauro S., Davidson M.M. A functionally dominant mitochondrial DNA mutation. Human Molecular Genetics 17:1814-1820, 2008
- Santra S., Gilkerson R.W., Davidson M. Ketogenic treatment reduces deleted mitochondrial DNAs in cultured human cells. Annals of neurology 56:662-669, 2004
- Saraste M. Oxidative phosphorylation at the fin de siècle. Science 283:1488-1493, 1999
- Sbisa E., Tanzariello F., Reyes A., Graziano P., Saccone C. Mammalian mitochondrial D-loop region structural analysis: identification of new conserved sequences and their functional and evolutionary implications. Gene 205:125-140, 1997
- Scarpulla R.C. Transcriptional paradigms in mammalian mitochondrial biogenesis and function. Physiological Reviews 38:611-638, 2008
- Schaefer A.M., McFarland R., Blakely E.L., He L., Whittaker R.G., Taylor R.W., Chinnery P.F., Turnbull D.M. Prevelance of mitochondrial DNA disease in adults. Annals of Neurology 63:35-39, 2008
- Scheffler I.E. Mitochondria, 2nd edition. Wiley and Sons, New York, 2008
- Schon A.E. Mitochondrial genetics and disease. Trends in Biochemical Sciences. 25:555-560, 2000
- Schon A.E., DiMauro S., Hirano M,., Gilkerson W.R. Therapeutic prospects for mitochondrial disease. Trends in Molecural Medicine 16:268-276, 2010
- Serrano M., Garcia-Silva M., Hernandez E., O'Callaghan M., Quijada P., Martinez-Aragon A., Ormazabal A., Blazquez A., Martin M.A., Briones P., Lopez-Gallardo E., Pineda M.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
06/05/2024 06:07:01 EEST - 3.143.254.184

Kearns – Sayre syndrome: cerebral folate deficiency, MRI findings and a new cerebrospinal fluid biochemical features. Mitochondrion 10:429-432, 2010

- Servidei S. Mitochondrial encephalomyopathies: gene mutations. Neuromuscular disorders 7:13-18, 1999
- Shoffner J.M., Lott M.T., Lezza A.M., Seibel P., Ballinger S.W., Wallace D.C. Myoclonic epilepsy and ragged-red fiber disease (MERRF) is associated with a mitochondrial DNA tRNALys mutation. Cell 61:931-937, 1990
- Shultz B.E., Chan S.I. Structures and proton-pumping strategies of mitochondrial respiratory enzymes. Annual Review of Biophysics and Biomolecular Structure 30:23-65, 2001
- Shutt T.E., Shadel G.S. A compendium of human mitochondrial gene expression machinery with links to disease. Environmental and Molecular Mutagenesis 51:360-379, 2010
- Sigurdardottir S., Helgason A., Gulcher J.R., Stefansson K., Donnelly P. The mutation rate in the human mtDNA control region. American Journal of Human Genetics 66:1599-1609, 2000
- Silvestri S., Santorelli F.M., Shanske S.B., Whitley C.B., Schimmenti L.A., Smith S.A., DiMauro S. Anew mitochondrial DNA mutation in the tRNALeu (UUR) gene associated with cardiomyopathy and ragged red fibers. Human Mutation 3:37-43, 1994
- Sinnathuray A.R., Raut V., Awa A., Magee A., Toner J.G. A review of cochlear implantation in mitochondrial sensorineural hearing loss. Otology & Neurotology 24:418-426, 2003
- Skladal D., Halliday J., Thorburn D.R. Minimun birth prevalence of mitochondrial respiratory chain disorders in children. Brain 126:1905-1912, 2003
- Smith K.J., Kapoor R., Felts P.A. Demyelination: the role of reactive oxygen and nitrogen species. Brain Pathology 9:69-92, 1999
- Smith R.A., Adlam V.J., Blaikie F.H., Manas A.R., Porteous C.M., James A.M., Ross M F., Logan A., Cochemé H.M., Trnka J., Prime T.A., Abakumova I., Jones B.A., Filipovska A., Murphy M.P. Mitochondria – targeted antioxidants in the treatment of disease. Annals of the New York Academy of Sciences 1147:105-111, 2008
- Spinazzola A., Marti R., Nishimo I., Andreu A.L., Naini A., Tadesse S., Pela I., Zammarchi E., Donati M.A., Oliver J.A., Hirano M. Altered thymidine metabolism due to defects of thymidine phosphorylase. Journal of Biological Chemistry 277: 4128-4133, 2002
- Spremulli L.L., Coursey A., Navratil T., Hunter S.E. Initiation and elongation factors in mammalian mitochondrial protein biosynthesis. Progress in Nucleic Acids Research and Molecular Biology 77:211-261, 2004

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
06/05/2024 06:07:01 EEST - 3.143.254.184

- Starkov A.A. The role of mitochondria in reactive oxygen species metabolism and signaling. Annals of the New York Academy of Sciences 1147:37-52, 2008
- Steffann J., Frydman N., Gigarel N., Burlet P., Ray P.F., Fanchin R., Feyereisen E., Kerbat V., Tachdjian G., Bonnefont J.P., Fryman R., Munnich A. Analysis of mtDNA variant segregation during early human embryonic development: a tool for successful NARP preimplantation diagnosis. Journal of Medical Genetics 43:244-247, 2006
- Steuerwald N., Barritt J.A., Adler R., Malter H., Schimmel T., Cohen J., Brenner C.A. Quantification of mtDNA in single oocytes, polar bodies and subcellular components by real-time rapid cycle fluorescence monitored PCR. Zygote 8:209-215, 2000
- Suomalainen A., Kaukonen J., Amati P., Timonen R., Haltia M., Weissenbach J., Zeviani M., Somer H., Peltonen L. An autosomal locus predisposing to deletions of mitochondrial DNA. Nature Genetics 9:146-151, 1995
- Tanaka M., Borgeld H.J., Zhang J., Muramatsu S., Gong J.S. et al. Gene therapy for mitochondrial disease by delivering restriction endonuclease SmaI into mitochondria. Journal of Biomedical Science 9:534-541, 2002
- Tang Y., Schon E.A., Wilichowski E., Vazquez-Memije M.E., Davidson E., King M.P. Rearrangements of human mitochondrial DNA (mtDNA): new insights into the regulation of mtDNA copy number and gene expression. Molecular Biology of the Cell 11:1471-1485, 2000
- Thajeb P., Dai D. Current opinion on the clinical approach to the diagnosis of mitochondrial desease. International Journal of Gerontology 1: 22-30, 2007
- Thorburn D.R., Dahl H.H. Mitochondrial disorders: genetics, counseling, prenatal diagnosis and reproductive options. American Journal of Human Genetics, 106:102-114, 2001
- Thorburn D.R., Surgiana C., Salemi R., Kirby D., Worgan L., Ohtake A., Ryan M. Biochemical and molecular diagnosis of mitochondrial respiratory chain disorders. Biochimica et Biophysica Acta 1659:121-128, 2004
- Twig G., Hyde B., Shirihai O.S. Mitochondrial fusion, fission and aytophagy as a qyality control axis: the bioenergetic view. Biochimical et Biophysica Acta 1777:1092-1097, 2008
- Tzoufi M., Makis A., Chaliasos N., Nakou I., Siomou E., Tsatsoulis A., Zikou A., Argyropoulou M., Bonnefont J.P., Siamopoulou A. A rare case report of simultaneous presentation of myopathy, Addison’s disease, primary hypoparathyroidism and Fanconi syndrome in a child diagnosed with Kearns-Sayre syndrome. European Journal of Pediatrics 172:557-561, 2013

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
06/05/2024 06:07:01 EEST - 3.143.254.184

- Urnov F.D., Rebar E.J. Designed transcription factors as tools for therapeutics and functional genomics. Biochemical Pharmacology 64:919-923, 2002
- Valentino M.L., Marti R., Tadesse S., Lopez L.C., Manes L.J., Lysak J., Hahn A., Carelli V., Hirano M. Thymidine and deoxyuridine accumulate in tissues of patients with mitochondrial neurogastrointestinal encephalopathy (MNGIE). Federation of European Biochemical Societies 581:3410-3414
- van der Giezen M., Tovar J. Degenerate mitochondria. EMBO 6:525-530, 2005
- Wallace D.C. Mitochondrial diseases in man and mouse. Science 283:1482-1488, 1999
- Wallace D.C., Singh G., Lott M.T., Hodge J.A., Schurr T.G., Lezza A.M., Elsas L.J., Nikoskelainen E.K. Mitochondrial DNA mutation associated with Leber's hereditary optic neuropathy. Science 242:1427-1430, 1988
- Wallace D.C., Zheng X., Lott M.T., Shoffner J.M., Hodje J.A., Kelley R.I., Epstein C.M., Hopkins L.C. Familial mitochondrial encephalomyopathy (MERRF): Genetic, pathophysiological and biochemical characterization of a mitochondrial DNA disease. Cell 55:601-610, 1988
- Wenz T., Rossi S.G., Roturdo R.L., Spiegelman B.M., Moraes C.T. Increased muscle PGC-1a expression protects from sarcopenia and metabolic disease during aging. Proccedings of the National Academy of Sciences of U.S.A. 106:20405-20410, 2009
- Yuzaki M., Ohkoshi N., Kanazawa I., Multiple deletionsin mitochondrial DNA at direst repeats of non-D-loop regions in cases of familial mitochondrial myopathy. Biochemical et Biophysical Research Communications 164:1352-1357, 1989
- Zaslavsky D., Gennis R. Proton pumping by cytochrome oxidase: Progress, problems, and postulates. Biochimica et Biophysica Acta 1458:164-179, 2000
- Zeviani M., Bonilla E., DeVico D., DiMauro S. Mitochondrial diseases. Neurological Clinics 7:123-156, 1989
- Zeviani M., Moraes C.T., DiMauro S., Nakase H., Bonilla E., Schon E.A., Rowland L.P. Deletions of mitochondrial DNA in Kearns – Sayre syndrome. Neurology 38:1339-1346, 1988
- Zollo O., Tiranti V., Sondheimer N. Transcriptional requirements of the distal heavy – strand promoter of mtDNA. Proceedings of the National Academy of Sciences of U.S.A. 109:6508-6512, 2012

www.rosalind.info

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
06/05/2024 06:07:01 EEST - 3.143.254.184