

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
1. LÉKAŘSKÁ FAKULTA

Doktorský studijní program v biomedicíně

Studijní obor: Preventivní medicína a epidemiologie



MUDr. Veronika Dvořáková

**Studium přirozeného průběhu vybraných mitochondriálních
onemocnění**

Natural course of selected mitochondrial disorders

Doktorská disertační práce

Školitel: prof. MUDr. Tomáš Honzík, Ph.D.

Školitel konzultant: doc. MUDr. Martin Magner, Ph.D.

Praha 2024

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem řádně uvedla a citovala všechny použité prameny a literaturu. Současně prohlašuji, že práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

Souhlasím s trvalým uložením elektronické verze mé práce v databázi systému meziuniverzitního projektu Theses.cz za účelem soustavné kontroly podobnosti kvalifikačních prací.

V Praze dne 3. 9. 2024

MUDr. Veronika Dvořáková

Podpis:

Identifikační záznam

DVOŘÁKOVÁ, Veronika. Studium přirozeného průběhu vybraných mitochondriálních onemocnění. Praha, 2024; 104 stran. Disertační práce. Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta, Klinika pediatrie a dědičných poruch metabolismu. Vedoucí závěrečné práce: prof. MUDr. Tomáš Honzík, Ph.D.

SOUHRN

Úvod: Mitochondriální onemocnění jsou svým charakterem multisystémová, s progredujícím průběhem a v naprosté většině případů obtížně léčitelná. Vzhledem k jejich nízké incidenci je diagnostika svízelná, a ne vzácně dokončena až ve fázi ireverzibilního poškození organismu.

Cíl: Záměrem práce bylo studium přirozeného průběhu vybraných mitochondriálních onemocnění, charakteristika rozvoje jednotlivých symptomů, následná individualizace dispenzární péče s cílem prevence další deteriorace klinického stavu. Dalším úkolem bylo dokumentovat potenciál registrů v péči o pacienty se vzácným onemocněním tak, aby získaná data vedla k optimalizaci klinického a laboratorního monitorování pacientů a optimálnímu nastavení adekvátní léčby.

Materiál: Do práce bylo zahrnuto 50 diagnostikovaných českých pacientů s prevalentní mutací v *MT-TL1* genu způsobující MELAS syndrom, mezinárodní soubor 48 pacientů s deficitem transmembránového proteinu 70, soubor pěti pacientů, u kterých se mitochondriální onemocnění projevilo psychiatrickými příznaky, a pacientka s mitochondriálním onemocněním a jeho vzácným biochemickým projevem hyperamonémie. Do části zabývající se úlohou mezinárodních registrů ve studiu vzácných metabolických poruch bylo zařazeno 38 pacientů z České republiky s onemocněními ze skupiny organických acidurií a poruch cyklu močovininy.

Závěr: Tato práce umožnila detailní klinické a biochemicko-genetické studium více než 140 osob se vzácným onemocněním. Získaná data vedla k novým genotypově–fenotypovým korelacím a rozšíření diferenciálně–diagnostických rozvah. Přestože se jedná o onemocnění obtížně léčitelná, naše data podporují důležitost časně diagnostiky a zajištění adekvátní terapie. Zahájení terapie před klinickou manifestací onemocnění a možnosti prenatální genetické diagnostiky jsou toho času jediné možnosti, jak u naprosté většiny vzácných onemocnění zabránit ireverzibilnímu poškození organismu.

Klíčová slova: vzácná onemocnění, mitochondriální onemocnění, MELAS syndrom, TMEM70 deficit, hyperamonémie, organické acidurie, poruchy cyklu močovininy

ABSTRACT

Introduction: Mitochondrial diseases are multifaceted in nature, progressing over time and in the vast majority of cases, difficult to treat. Due to their low incidence, their diagnostics is difficult, and it is not uncommon for it to be completed only in the phase of irreversible damage to the organism.

Objective: The aim of this study was to investigate the natural course of selected mitochondrial diseases, characterize the development of individual symptoms, and subsequently individualize outpatient care with the goal of preventing further deterioration of the clinical condition. The next task was to document the potential of registries in caring for patients with rare diseases so that the collected data would lead to the optimization of clinical and laboratory monitoring of patients and the optimal adjustment of appropriate treatment.

Material: The study included 50 diagnosed Czech patients with a prevalent mutation in the *MT-TL1* gene causing MELAS syndrome, an international cohort of 48 patients with a deficiency in transmembrane protein 70, a group of five patients presenting psychiatric symptoms due to mitochondrial diseases, and a patient with a rare biochemical manifestation of hyperammonemia in mitochondrial disease. The section focusing on the role of international registries in the study of rare metabolic disorders included 38 patients from the Czech Republic with diseases from the group of organic acidurias and urea cycle disorders.

Conclusion: This study enabled a detailed clinical and biochemical-genetic investigation of over 140 individuals with a rare disease. The obtained data led to new genotype-phenotype correlations and expanded differentially diagnostic considerations. Although the diseases are difficult to treat, our data support the importance of early diagnosis and ensuring adequate therapy. The initiation of treatment before the clinical manifestation of the disease and the options for prenatal genetic diagnostics are currently the only ways to prevent irreversible damage to the body in the vast majority of rare diseases.

Keywords: rare diseases, mitochondrial diseases, MELAS syndrome, TMEM70 deficiency, hyperammonemia, organic acidurias, urea cycle disorders

PODĚKOVÁNÍ

V prvé řadě bych velmi ráda poděkovala svému školiteli, prof. MUDr. Tomáši Honzíkovi, Ph.D., za projevenou důvěru a podněcující vedení v oblasti vědecké práce a klinické praxe. Svým přístupem k dětem a jejich rodinám, způsobem uvažování a oddaností medicíně stále inspiruje mne i další kolegy v péči o dětské pacienty.

Dále bych ráda poděkovala svému školiteli konzultantovi, doc. MUDr. Martinu Magnerovi, Ph.D., za veškerou pomoc a cenné připomínky při vzniku publikací.

Jsem velmi vděčná za možnost pracovat pod vedením prof. MUDr. Jiří Zemana, DrSc., který mi představil svět pediatrie, naučil mě klást otázky a být připravena i na nečekané odpovědi.

Velké poděkování patří všem kolegům z Kliniky pediatrie a dědičných poruch metabolismu 1. LF UK a VFN v Praze, bez jejichž nasazení by péče o naše pacienty nebyla na současné vynikající úrovni.

S klinickou částí se pojí též část laboratorní, kde především Laboratoř pro studium mitochondriálních onemocnění hraje zcela nezastupitelnou diagnostickou a vědeckou roli. Jmenovitě patří mé poděkování Ing. Markétě Tesařové, Ph.D. a RNDr. Haně Hansíkové, CSc. Za celoživotní podporu vděčím svým rodičům, kteří pro mě byli vždy vzorem svou oddaností rodině a práci, vedli mě k vytrvalosti a pílí a umožnili mi se rozvíjet.

Velké poděkování patří mému manželovi Václavovi za podporu, nekonečný optimismus a pomoc při hledání rovnováhy mezi pracovním a rodinným životem. Mé dcery Anežka a Barborka vnesly do mého života mnoho radosti, smíchu a životního elánu, za což jim velice děkuji.

Mimořádné poděkování patří všem našim pacientům a jejich rodinám, kteří souhlasili se zapojením do našich studií i přes svůj často náročný životní osud.

Disertační práce vznikla za podpory GAUK 38515, UNCE 204011, PRVOUK P24/LF1/3 a SVV – UK 260256/2016. Specifická podpora byla poskytnuta MZ CR AZV 16-32341A, RVO-VFN 64165, GA 14-36804G, IGA NT 14156/3, IGA NT 13114/4 a MSM 0021620849.

ZKRATKY

3MGA	3–methylglutakonová acidurie
A	Adenin
Acetyl-CoA	Acetyl–koenzym A
ADC	Apparent Diffusion Coefficient, rozměr difuze (molekul vody) ve tkáni při vyšetření MRI
ARG1	Argináza 1
ASL	Argininsukcinát lyáza
ASS	Argininsukcinát syntetáza
ATP	Adenosin trifosfát
BH4	Tetrahydrobiopterin
BE	Base excess (přebytek bazí)
C	Cytosin
CISD1	CDGSH iron sulfur domain 1
CK	Kreatinkináza
CNS	Centrální nervový systém
COX	Cytochrom <i>c</i> oxidáza
CPEO	Chronická progresivní externí oftalmoplegie
CPS1	Karbamoylfosfátsyntetáza 1
CSF	Cerebrospinal fluid (mozkomíšní mok)
DddA	Double-stranded DNA deaminase toxin A (deamináza dvouvláknové DNA toxinu A)
DdCBE	DddA-derived cytosine base editor (DddA-derivovaný editor cytosinové báze)
DNA	Deoxyribonukleová kyselina

DOA	Dominantní Kjerova atrofie optiku
DPM	Dědičné poruchy metabolismu
DWI	Diffusion Weighted Imaging
E-IMD	European registry and network for Intoxication type Metabolic Diseases (evropský registr pro intoxikační typ poruch metabolismu)
FEP	Plně vyjádřený fenotyp
FLAIR	Fluid Attenuated Inversion Recovery
FSGS	Fokálně segmentální glomeruloskleróza
G	Guanin
GA1	Glutarová acidurie typ 1
HHH sy	Syndrom hyperornitinemie–hyperamonémie–homocitrulinurie
iNO	Inhalovaný oxid dusnatý
IUGR	Intrauterinní růstová restrikce (intrauterine growth restriction)
IVA	Isovalerová acidurie
KMP	Kardiomyopatie
KSS	Kearnsův–Sayreův syndrom
LHON	Leberova hereditární neuropatie optiku
LCHAD	Deficit 3–hydroxyacyl–CoA dehydrogenázy mastných kyselin s dlouhým řetězcem
MELAS	Syndrom mitochondriální myopatie, encefalopatie, laktátové acidózy a iktu podobných příhod
MERRF	Myoklonická epilepsie s ragged red fibres
MetabERN	European Reference Network for Hereditary Metabolic Disorders (evropská síť pro dědičné metabolické poruchy)
MIDD	Syndrom maternálně dědičného diabetu a hluchoty

MILS	Maternálně dědičný Leighův syndrom
MLASA	Mitochondriální myopatie, laktátová acidóza a sideroplastická anémie
MMA	Metylmalonová acidurie
MPI-CDG	Mannose phosphate isomerase-congenital disorder of glycosylation (kongenitální porucha glykosylace na podkladě deficitu manóza-fosfát izomerázy)
MRI	Magnetická rezonance
MRT	Mitochondrial replacement therapy (terapie náhradou mitochondrií)
MST	Maternal spindle transfer (přenos mateřského dělicího vřeténka)
mtDNA	Mitochondriální deoxyribonukleová kyselina
MT-TL1	Mitochondriálně kódovaná transferová ribonukleová kyselina pro leucin 1
NAD (H)	Nikotinamid adenin dinukleotid (hydrogen)
NAGS	N-acetylglutamát syntáza
NARP	Neurogenní svalová slabost, ataxie a retinitis pigmentosa
nDNA	Nukleární deoxyribonukleová kyselina
NOS	Syntáza oxidu dusnatého
OA	Organická acidurie
OAT	Ornitin aminotransferáza
OP	Oligosymptomatický fenotyp
OTC	Ornitintranskarbamyláza
ORNT1	Ornitin translokáza
OXPHOS	Systém mitochondriální oxidativní fosforylace
PA	Propionová acidurie
PBT	Polar body transfer (přenos pólového tělíska)

PCR–RFLP	Polymerase chain reaction–restriction fragment length polymorfism (polymerázová řetězová reakce s použitím polymorfismu délky restričních fragmentů)
PGM1-CDG	Phosphoglucomutase 1 deficiency-congenital disorder of glycosylation (kongenitální porucha glykosylace na podkladě deficitu fosfoglukomutázy 1)
PMM2-CDG	Phosphomannomutase 2 deficiency-congenital disorder of glycosylation (kongenitální porucha glykosylace na podkladě deficitu fosfomanomutázy 2)
PNT	Pronuclear transfer (přenos prvojádra)
POLG	Polymeráza gama
PPHN	Perzistující plicní hypertenze novorozence
PUS1	Pseudouridin syntáza 1
RIRCD	Reversible infantile respiratory chain deficiency (reverzibilní infantilní deficiencie respiračního řetězce)
RRF	Ragged red fibers (mitochondrie svalových vláken abnormální svou velikostí a tvarem, který tvoří vzhled rozeklaných červených vláken)
rRNA	Ribosomální ribonukleová kyselina
SCID	Těžká kombinovaná imunodeficiencie
SCO2	Asemblační protein cytochrom <i>c</i> oxidázy
SLSMD	Single large-scale mitochondrial DNA deletion (rozsáhlá delece mtDNA)
SMA	Spinální muskulární atrofie
T	Thymin
TMEM70	Transmembránový protein 70
tRNA	Transferová ribonukleová kyselina
UCD	Urea cycle disorder (porucha cyklu močoviny)
UEC	Uroepiteliální buňky

OBSAH

1.	Úvod	12
1.1.	Vzácná onemocnění.....	12
1.2.	Dědičné poruchy metabolismu	14
1.3.	Mitochondriální onemocnění.....	15
1.4.	Mitochondrie	17
1.4.1.	Historie výzkumu mitochondrie	17
1.4.2.	Struktura mitochondrie	17
1.4.3.	Systém oxidativní fosforylace	20
1.4.4.	Mitochondriální dědičnost.....	22
1.5.	Hlavní klinické projevy mitochondriálních onemocnění	28
1.6.	Vybraná mitochondriální onemocnění	46
1.6.1.	MELAS syndrom	46
1.6.2.	Deficit TMEM70	47
1.6.3.	Projevy hyperamonémie u mitochondriálních onemocnění	48
1.7.	Možnosti prevence mitochondriálních onemocnění.....	51
1.7.1.	Prenatální a preimplantační genetická diagnostika	51
2.	Cíle studie.....	55
2.1.	A) Studovat přirozený průběh a preventivní aspekty MELAS syndromu (Mitochondriální myopatie, Encefalopatie, Laktátová acidóza a iktu podobné příhody – Stroke-like episodes).	58
2.2.	B) Zhodnotit klinický průběh dalších mitochondriálních onemocnění s rizikem rozvoje hyperamonémie vyžadující včasnou terapii.	58
2.3.	C) Demonstrovat význam mezinárodních registrů při posuzování přirozeného průběhu onemocnění u pacientů trpících vybranými vzácnými dědičnými poruchami metabolismu.	59
3.	Materiál a metodika.....	60
3.1.	Materiál.....	60
3.1.1.	Vázáno na cíl A1) Přirozený průběh a preventivní aspekty MELAS syndromu	60
3.1.2.	Vázáno na cíl A2) Psychiatrická manifestace pacientů s MELAS syndromem.....	62

3.1.3.	Vázáno na cíl B1) Klinické projevy 48 pacientů s deficitem TMEM70.....	62
3.1.4.	Vázáno na cíl B2) Hyperamonémie u pacientky s deficitem ATP syntázy	63
3.1.5.	Vázáno na cíl C) Význam mezinárodních registrů – E-IMD registr.....	63
3.2.	Metodika.....	64
3.2.1.	Izolace mitochondrií ze svalové biopsie.....	64
3.2.2.	Molekulárně genetické vyšetření.....	64
3.3.	Statistické zpracování.....	64
3.4.	Etika.....	64
4.	Výsledky a diskuze.....	65
4.1.	Cíl A) Studovat přirozený průběh MELAS syndromu (Mitochondriální myopatie, Encefalopatie, Laktátová acidóza a iktu podobné příhody – Stroke-like episodes).....	65
4.1.1.	Cíl A1) Popsat fenotypové spektrum 50 nositelů mutace m.3243A>G pomocí vytvořené databáze MELAS pacientů. Zvláštní pozornost byla věnována sekvenci rozvoje klinických příznaků.	65
4.1.2.	Cíl A2) Charakterizovat psychiatrickou manifestaci pacientů s MELAS syndromem.....	71
4.2.	Cíl B) Zhodnotit klinický průběh dalších mitochondriálních onemocnění.....	74
4.2.1.	Cíl B1) Detailně analyzovat variabilitu klinických projevů u 48 pacientů s deficitem TMEM70 v rámci multicentrické mezinárodní spolupráce.....	74
4.2.2.	Cíl B2) Zdůraznit význam hyperamonémie u pacienta se vzácnou poruchou funkce ATP syntázy způsobenou mutací m.8851T>C v mitochondriální DNA.	78
4.3.	Cíl C) Demonstrovat význam mezinárodních registrů při posuzování přirozeného průběhu onemocnění u pacientů trpících vybranými vzácnými dědičnými poruchami metabolismu.	79
5.	Závěry a praktické dopady studie.....	84
6.	Seznam publikací s vazbou na vznik teze (celkový impact factor 11,584).....	85
7.	Další publikace autorky.....	86
8.	Ocenění.....	87
9.	Literatura	88
10.	Přílohy	104

1. Úvod

Mitochondriální onemocnění patří do skupiny tzv. vzácných onemocnění. Sama struktura, funkce a semiautonomie mitochondrie dává vznik velmi heterogennímu klinickému projevu při její možné patologii. Výzkum na poli mitochondriální medicíny, ale i ostatních dědičných poruch metabolismu, se v posledních letech těší velikému zájmu i vzhledem k rozvoji technických možností diagnostiky. Největší záležitostí je ovšem na dané onemocnění v první řadě pomyslet, což vzhledem k široké variabilitě postižení tělních systémů není vždy snadné. Proto jsou v posledních desetiletích organizovány registry pro pacienty s vzácným onemocněním. Snahou této práce je studium klinického spektra vybraných mitochondriálních onemocnění s důrazem na rozvoj jednotlivých příznaků v čase. Získaná data jsou zásadní pro možnosti optimalizace a individualizace dispenzární péče a tím i preventivního ovlivnění onemocnění. V práci byla vyzdvihnuta i úloha registrů při studiu vzácných onemocnění – konkrétně pacientů s intoxikačním typem poruchy metabolismu.

1.1. Vzácná onemocnění

Vzácná onemocnění (tzv. „sírotčí“ = orphan) představují rozsáhlou skupinu klinických entit, jejichž výskyt v populaci je méně než 5 z 10 000 obyvatel (definice uvedena v nařízení Evropské unie o léčivých přípravcích pro vzácná onemocnění 1999). V Evropě je postiženo těmito onemocněními 27–36 milionů lidí (Rodwell 2014) a tato skupina celkově zahrnuje asi 8 tisíc klinických jednotek (seznam dosud identifikovaných onemocnění lze nalézt v mezinárodní databázi www.orpha.net). Jsou zde zařazena četná geneticky podmíněná onemocnění, dědičné poruchy metabolismu, vzácné zhoubné nádory a imunodeficity a všechny malignity dětského věku. Přestože ve většině (až 80 %) případů mají tato onemocnění jasně definované genetické příčiny (www.orphadata.org), řadí se sem rovněž vzácná infekční a autoimunitní onemocnění. Svým projevem se jedná o onemocnění závažná, často chronická a progredující. První příznaky je mnohdy možné zaznamenat již při narození či v dětském věku, přibližně polovina se však projevuje až v dospělosti – jako např. Huntingtonova nemoc, Crohnova choroba, amyotrofická laterální skleróza nebo karcinom štítné žlázy (Orphanet 2022).

Vzhledem k nízkému výskytu onemocnění v populaci je diagnostika často svízelná a stanovení správné diagnózy může trvat i řadu let. Z tohoto důvodu je nutná úzká spolupráce klinických specialistů spolu s vědci za účelem sdílení výsledků výzkumu vedoucí k lepšímu pochopení biologické podstaty vzácných onemocnění. Organizace mezinárodních databází a registrů umožňuje koncentraci dat a tím i možnost stanovení možných diagnostických a terapeutických

doporučení, tedy postup, který by byl na národní úrovni vzhledem k nízké prevalenci onemocnění jen velmi těžko dosažitelný.

Pro většinu ze vzácných onemocnění není vzhledem ke genetickému podkladu dostupná kauzální terapie. K roku 2022 bylo v Evropě Evropskou lékovou agenturou registrováno 277 „orphan drugs“, ta jsou však určena pouze pro cca 5 % vzácných onemocnění (Heard 2020). V současné době je proto výzkum vzácných onemocnění, rozvoj časně diagnostiky a vývoj vhodné terapie výrazně podporován.

Prevence vzácných onemocnění je pro nízkou incidenci v populaci velmi složitá. U některých onemocnění již existuje sekundární prevence cestou laboratorního novorozeneckého screeningu – od června 2016 je v České republice do celoplošného testování zahrnuto 18 onemocnění (kongenitální hypotyreóza, kongenitální adrenální hyperplazie, cystická fibróza a 15 dědičných poruch metabolismu), viz (Votava 2022). V lednu 2024 byl po úspěšném dvouletém pilotním projektu celoplošný novorozenecký screening rozšířen o spinální muskulární atrofii (SMA) a těžkou kombinovanou imunodeficienci (SCID). Sekundární a terciární prevence se formou preventivních vyšetření a případného genetického vyšetření dále uplatňuje v rodinách s již vyskytujícím se vzácným onemocněním. Primordiální a primární prevence s cílem omezení samotné incidence onemocnění je možná pouze částečně, a to zejména u infekčních, onkologických a některých autoimunitních onemocnění.

1.2. Dědičné poruchy metabolismu

Souhrnná incidence všech dosud známých dědičných poruch metabolismu (DPM) se odhaduje na 1 : 200–500. Skupina DPM zahrnuje 1907 různých onemocnění (IEMbase 2024) a představuje téměř 1/3 všech onemocnění ze skupiny geneticky podmíněných vzácných nemocí. Ne všechna DPM však do skupiny vzácných onemocnění patří – např. některé dyslipidemie/hyperlipidemie (výskyt v populaci 1 : 300) a hyperurikémie (výskyt v populaci 1 : 500). Mezi nejčastější DPM kromě dvou výše uvedených patří skupina mitochondriálních onemocnění a poruchy metabolismu aminokyselin a organické acidurie (výskyt v populaci 1 : 5 000 a 1 : 4 000 resp.), následované lysosomálními onemocněními, poruchami β -oxidace mastných kyselin, porfyriemi, dědičnými poruchami glykosylace a peroxisomálními onemocněními (Hončík 2022, Kubáčková a kol. 2014). Dědičnost těchto chorob může být autozomálně recesivní, dominantní i gonosomálně vázaná (vázaná na chromosom X). V případě mitochondriálních onemocnění pak i maternální dědičnost, jejíž specifika budou diskutována dále.

V patogenezi většiny DPM se uplatňuje enzymatický defekt metabolické dráhy. Hromadění nemetabolizovaného substrátu či chybění produktu postižené enzymatické reakce pak ústí v klinický obraz onemocnění. Mezi další patogenetické mechanismy patří dysfunkce transportních proteinů, asemblačních proteinů či poruchy jiných proteinů souvisejících s metabolickou dráhou. Vzhledem k přítomnosti společných metabolických drah pro řadu buněk v organismu bývá často přítomno multiorgánové postižení (Hončík 2016).

Klinicky se DPM mohou projevit charakteristickým postižením konkrétního orgánu (např. postižením jater a tvorbou jaterních adenomů u tyrosinémie I. typu; postižením kosterního svalstva u glykogenózy typu V) nebo kombinací orgánového postižení (splenomegalie, anémie, trombocytopenie, postižení skeletu u Gaucherovy nemoci). Příznaky celé řady DPM jsou však často jen málo specifické a představují tak další výzvu v jejich diagnostice – porucha růstu, váhové neprospívání, porucha psychomotorického vývoje, nechutenství, zvracení, porucha vědomí. Dědičné poruchy metabolismu mohou postihnout osoby kteréhokoli věku, novorozenecký (např. organické acidurie, poruchy cyklu močoviny) a střední věk nevyjímaje (např. některé typy glykogenóz, AD dědičná neuronální ceroidlipofuscinóza, Niemannova–Pickova nemoc typ C). Závažnost onemocnění je obecně dána typem molekulárního defektu a zbytkovou aktivitou postiženého enzymu nebo proteinu.

1.3. Mitochondriální onemocnění

Mitochondriální onemocnění představují skupinu chorob charakterizovaných dysfunkcí systému oxidativní fosforylace (OXPHOS), Krebsova cyklu a deficitu pyruvátdehydrogenázového komplexu. Svými nálezy se jedná o onemocnění klinicky, biochemicky a geneticky velmi heterogenní. Vzhledem k poruše energetického metabolismu jsou nejčastěji postiženy orgány s vysokými energetickými nároky (mozek, smyslová ústrojí, srdce, kosterní sval) (Wallace 1999), viz **Obr. 1**. Některé poruchy jsou typické postižením více orgánových systémů, jako je tomu např. u nejčastějšího mitochondriálního onemocnění syndromu mitochondriální myopatie, encefalopatie, laktátové acidózy a iktu podobných příhod (MELAS) (Manwaring 2007). Druhým pólem je pak postižení pouze jednoho orgánu u Leberovy hereditární optické neuropatie (LHON) (Yu-Wai-Man 1993). Přestože má průběh často progresivní charakter, onemocnění může někdy po dekády zůstat stabilní.

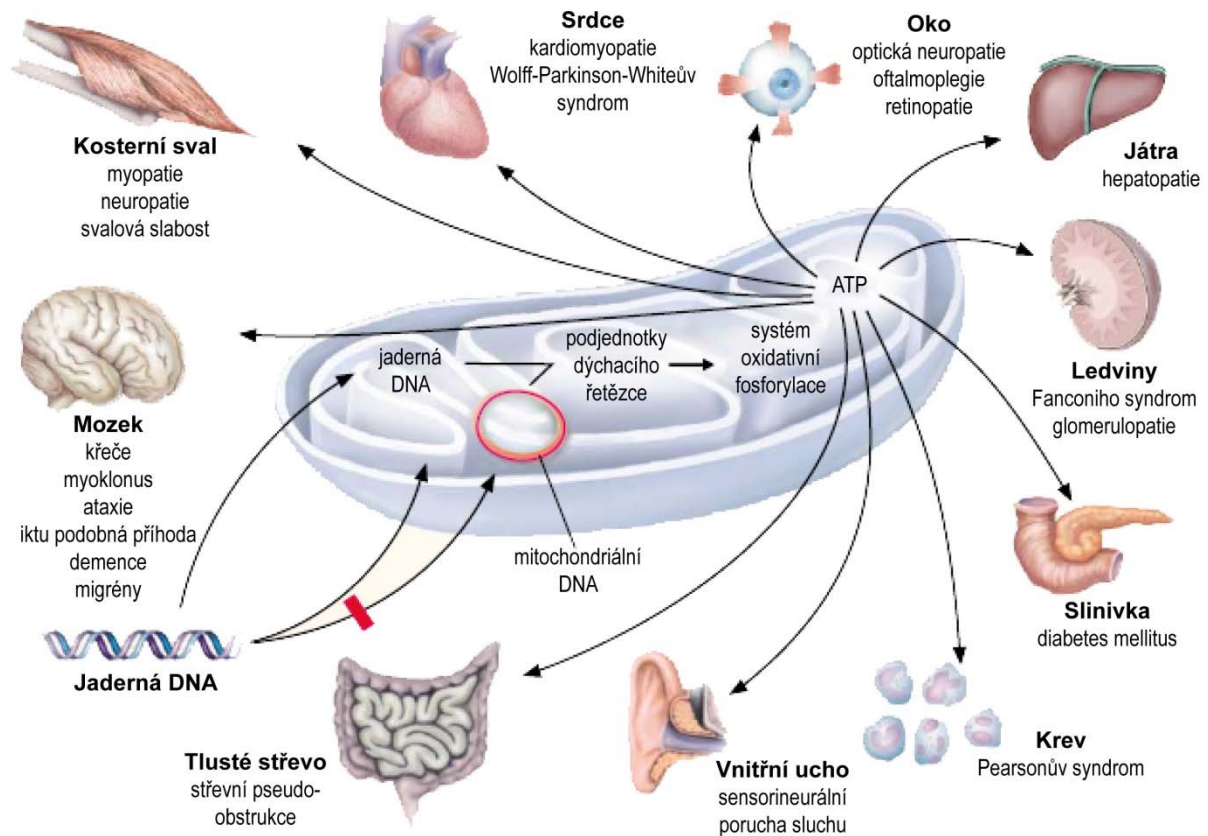
Poprvé bylo mitochondriální onemocnění popsáno švédským endokrinologem Rolfem Luftem v roce 1962 (Luft 1962), kdy popsal ženu se závažným hypermetabolickým stavem při eufunkci štítné žlázy. Diagnóza Luftovy nemoci byla stanovena na základě svalové biopsie, která prokázala masivní proliferaci mitochondrií (ragged-red fibers), ultrastrukturálně zvětšené mitochondrie s četnými kristami, a pozorovaných biochemických abnormalit – volné spřažení oxidace a fosforylace. Zajímavostí je, že toto onemocnění je patrně zcela nejvzácnější (popsány pouze 2 případy) ze všech mitochondriálních onemocnění a je pravděpodobně způsobeno mutací v jaderné DNA, ačkoli patogenní mutace dosud nebyla nalezena (DiMauro 2013, DiMauro 1976).

Na biochemické úrovni byla skupina mitochondriálních chorob dokumentována až v letech 1970–1977. Defekty v mitochondriální DNA způsobující onemocnění byly popsány v roce 1988 dvěma nezávislými vědeckými týmy – rozsáhlé delece mtDNA ve svalových biopsiích pacientů s mitochondriálními myopatiemi a bodová mutace v genu kódující subjednotku NADH dehydrogenázy asociovaná s Leberovou hereditární optickou neuropatií (DiMauro 2019).

V současné době je známo přes 400 mitochondriálních onemocnění na podkladě mutací v jaderné i mitochondriální DNA (Stenton 2021). Dle místa vzniku mutace může být dědičnost onemocnění maternální, autosomální i gonosomální. U dospělých pacientů s primárním mitochondriálním onemocněním je mutace nejčastěji přítomna v mitochondriální DNA (mtDNA), a to v téměř 80 % (Gorman 2016). V dětském věku jsou pak nejčastější příčinou

bodové mutace v jaderné DNA a maternální dědičnost se vyskytuje pouze u cca 25 % dětí (Thorburn 2004).

Prevalence všech mitochondriálních onemocnění bez ohledu na místo mutace je odhadována u dospělých na 1 : 8000 a u dětí na 1: 5000 (Eloise 2020, Rahman 2020), nicméně vzhledem ke zlepšující se diagnostice a porozumění této skupině onemocnění lze odhadovat její další nárůst.



Obr. 1: Klinická heterogenita symptomů mitochondriálních onemocnění (převzato a upraveno z <http://www.childneurologyfoundation.org/disorders/mitochondrial-diseases/>; Johns D. r:1995)

1.4. Mitochondrie

1.4.1. Historie výzkumu mitochondrie

Začátek výzkumu mitochondrie sahá do čtyřicátých let 19. století, kdy pouze pár let po objevení buněčného jádra byla pomocí světelného mikroskopu zaznamenána přítomnost intracelulárních struktur pravděpodobně reprezentující mitochondrie. Byl to ale až německý patolog a histolog Richard Altmann, který díky specifickému barvení v roce 1890 popsal „bioblasty“, struktury, které se samy replikují a v buňce vykonávají vitální funkce (Altmann 1890). Tímto zjištěním byly zároveň položeny základy endosymbiotické teorii, která byla dále studována nejen u mitochondrií, ale také u rostlinných plastidů. Samotné pojmenování „mitochondrie“ zavedl Carl Benda v roce 1898. Název mitochondrie pak pochází z řeckého „*mitos*“ (vlákno) a „*chondros*“ (granule), což dohromady odpovídá protáhlému tvaru těchto organel. Bližší studium těchto organel dovolila týmu Claudea a Fullama až elektronová mikroskopie v roce 1945 (Masters 2009). První fotografie mitochondrie ve vysokém rozlišení publikoval Palade a Sjöstrand v letech 1952–1953. Tyto snímky potvrzovaly přítomnost dvojité membrány, jejíž vnitřní vrstva je složena do „krist“, jak výchlipky membrány uvnitř mitochondriální matrix nazval Palade (Masters 2009).

Počátky studia funkčních vlastností mitochondrie se datují do roku 1900, kdy Michaelis speciálním redoxním barvivem Janes Green B prokázal oxidoredukční potenciál mitochondrie. Buněčná respirace byla popsána v roce 1912 Kingsburym, nicméně větší pokrok v popisu enzymatických reakcí sahá až do druhé poloviny třicátých let 20. století, a to zejména díky osvojení si techniky izolace mitochondrií (v roce 1934 Bensley a Hoerre). Krebsův cyklus byl popsán v roce 1937 a o 12 let později pak produkce adenosin trifosfátu (ATP) dýchacím řetězcem Kennedym a Lehningerem (Kennedy 1949, Krebs 1937).

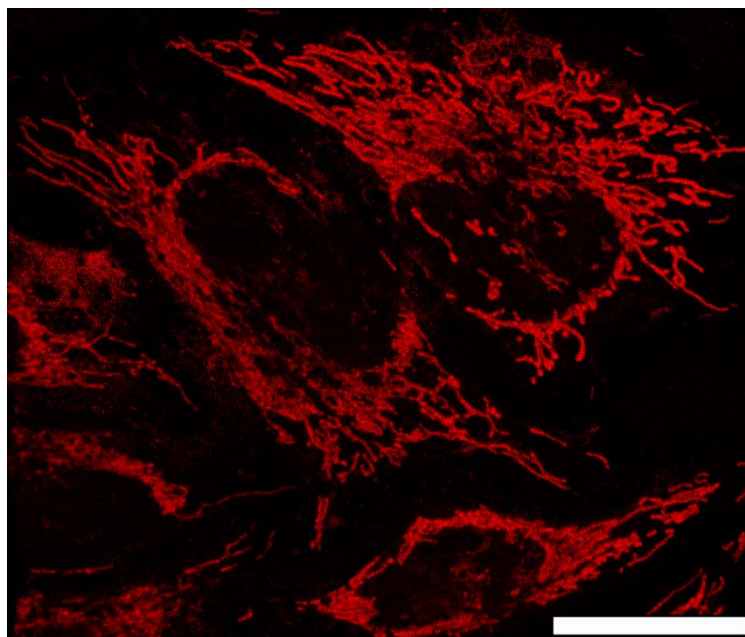
První izolace mitochondriální deoxyribonukleové kyseliny (DNA) se povedla týmu Chance v roce 1961. Dále následovalo studium mutací v mitochondriální DNA.

1.4.2. Struktura mitochondrie

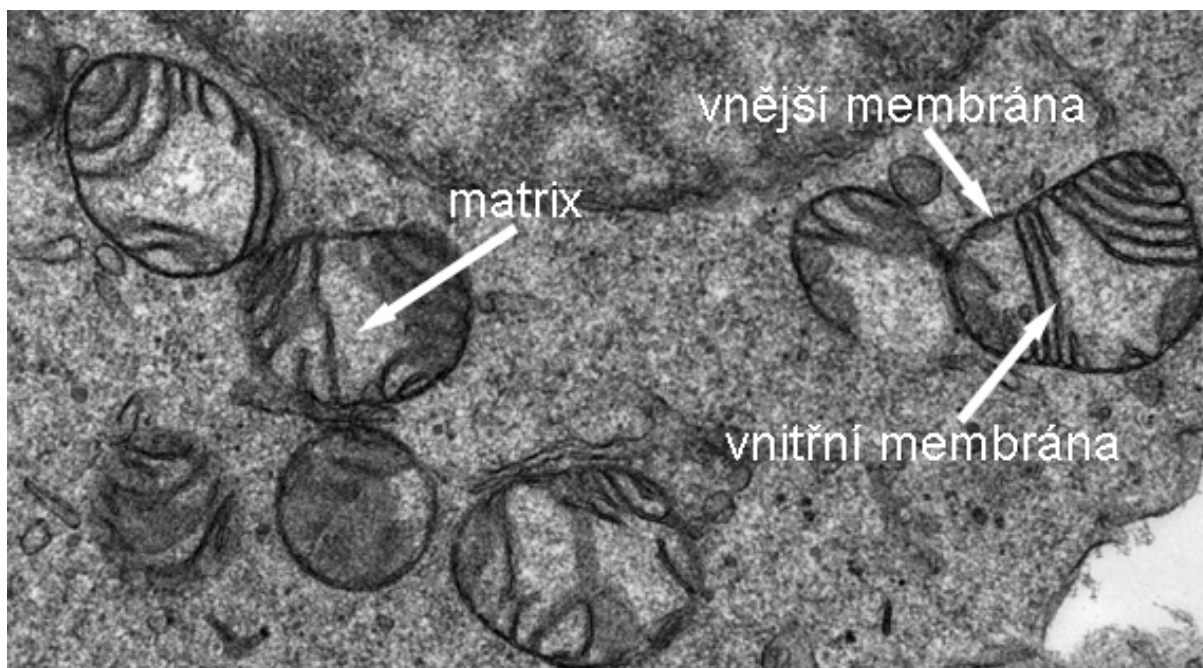
Mitochondrie je semiautonorní organela velikosti 0,5–1 mikrometru nejčastěji oválného tvaru vyskytující se v živočišných buňkách ve vysokém počtu kopií (stovky až tisíce) (Alberts 2002). Ve vysoce metabolicky aktivních tkáních, jako např. játra obsahují buňky až tisíce mitochondrií, naproti tomu v zralých erythrocytech žádné. Tvar mitochondrie i její pozice v buňce je velmi variabilní (často v závislosti na typu tkáně, jejím fyziologickém a vývojovém

stavu a dále energetické náročnosti dané tkáně) a spolu s ostatními mitochondriemi tvoří dynamickou mitochondriální síť (Bereiter-Hahn 1994), viz **Obr. 2**.

Již první pozorování světelným mikroskopem dalo tušit přítomné membráně obklopující organelu, nicméně až elektronové snímky s vysokým rozlišením z let 1952–1953 odhalily přítomnost dvojité membrány, z nichž vnitřní list tvoří kristy. Vnější a vnitřní membrána tak oddělují mezimembránový prostor a vnitřní mitochondriální matrix. Tato buněčná struktura dává za vznik několika kompartmentům, z nichž každý má svou vlastní speciální funkci – viz **Obr. 3**.



Obr. 2: Mitochondriální síť. HeLa wild type buňky značené mitotrackerem (konfokální mikroskopie, měřítko zvýrazněno bíle, odpovídá 20 μm ; laskavě zapůjčeno: Mgr. Tereza Daňhelovská, Laboratoř pro studium mitochondriálních poruch KPDPM 1. LF UK a Všeobecné fakultní nemocnice v Praze).



Obr. 3: Mitochondrie wild type HEK 293 buněk (transmisní elektronová mikroskopie, 1400x, mikroskop JEOL JEM, Peabody, Massachusetts; fixace manganistan draselný; laskavě zapůjčeno: Mgr. Marie Rodinová, Laboratoř pro studium mitochondriálních poruch KPDPM 1. LF UK a Všeobecné fakultní nemocnice v Praze)

Vnější mitochondriální membrána obklopuje celou organelu a tvoří jí lipidová dvojvrstva (lipidy tvoří až 40 % hmotnosti) s nízkým obsahem kardiolipinu. Součástí membrány jsou poriny, které jsou přítomny ve vysokém počtu. Jedná se o transportní proteiny tvořící vodní kanály, které umožňují permeabilitu většině metabolitů až do molekulové hmotnosti 5 000 daltonů (Alberts 2002). Větší molekuly využívají transportní (translokázový) systém vnější membrány. Ten je důležitý zejména pro přestup proteinů kódovaných jádrem buňky (Kmieć 2012).

Intermembránový prostor je tvořen prostorem mezi vnější a vnitřní membránou mitochondrie. Složení je téměř identické chemickému složení cytosolu až na obsazení některých bílkovin, které jsou do prostoru transportovány translokázovým systémem vnější a vnitřní membrány (Neupert 2007).

Vnitřní mitochondriální membrána obsahuje oproti vnější membráně vysoké procento kardiolipinu, který ji činí výrazně nepropustnou jak pro ionty, tak také pro větší molekuly. Svou hmotností je z více než 75 % tvořena proteiny, které hrají klíčovou roli v energetickém metabolismu a na základě svých funkcí mohou být rozděleny na (Alberts 2002):

1. Proteiny tvořící komplexy systému oxidativní fosforylace
2. ATP–syntázu
3. Transportní proteiny
4. Proteiny umožňující fúzování a štěpení mitochondrií

Vnitřní membrána mitochondrie je zvrásněná do krist a tubulů, čímž několikanásobně zvětšuje povrch membrány. Čím vyšší je spotřeba ATP buňkou, tím větší je obsah tubulů a krist v mitochondriích.

Mitochondriální matrix je prostor obklopený vnitřní mitochondriální membránou. Nachází se v ní genetická informace mitochondrie – kruhová mtDNA, proteosyntetický aparát (mitochondriálních ribosomy, tRNA) a stovky různých enzymů. V matrix mitochondrie probíhají důležité metabolické procesy jako Krebsův cyklus, část cyklu močoviny, biosyntéza hemu nebo oxidace pyruvátu a mastných kyselin (Alberts 2002).

1.4.3. Systém oxidativní fosforylace

Dýchací řetězec neboli systém oxidativní fosforylace (OXPHOS), je hlavní generátor energie buňky ve formě adenosin trifosfátu (ATP), **Obr. 4.** Systém přenosu energie byl objasněn v roce 1961 britským biochemikem Peterem D. Mitchellem. Za svou chemiosmotickou teorii (Mitchell 1961) byl v roce 1978 oceněn Nobelovou cenou v biochemii. Dle této teorie dochází díky transmembránovému protonovému gradientu k oxidaci substrátů za současné fosforylace adenosindifosfátu (ADP) na ATP.

Systém je tvořen čtyřmi enzymatickými komplexy na vnitřní membráně mitochondrie a ATP–syntázou, která je někdy nazývána komplexem V.

Komplex I, NADH–koenzymQ oxidoreduktáza, je složen ze 44 podjednotek, z nichž 7 je kódováno mtDNA

Komplex II, sukcinát–koenzymQ oxidoreduktáza, je tvořen 4 podjednotkami a je plněn kódován jadernou DNA

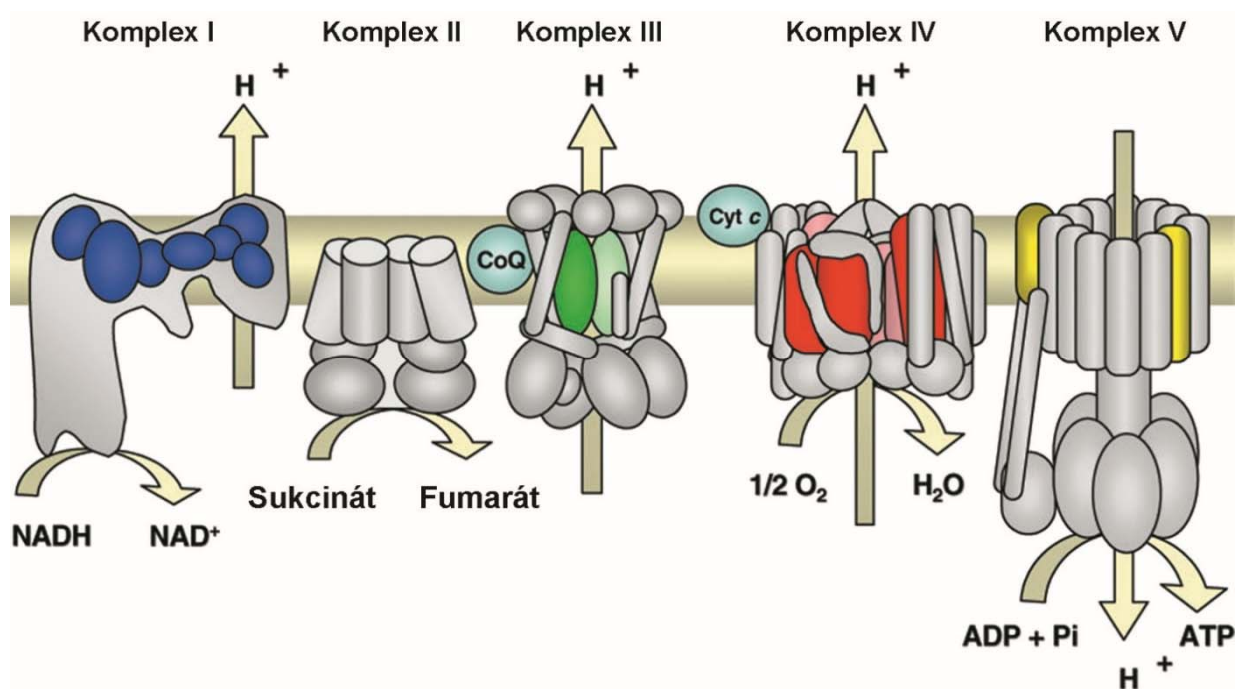
Komplex III, CoQH₂–cytochrom–*c*–oxidoreduktáza, se skládá z 11 podjednotek a všechny až na cytochrom *b* jsou kódovány jadernou DNA

Komplex IV, cytochrom-*c*-oxidáza, je tvořen 14 podjednotkami, z nichž 3 jsou kódovány mitochondriální DNA a tvoří katalytické jádro komplexu

ATP-syntáza je tvořena 18 podjednotkami, z nichž 2 jsou kódovány mtDNA.

Koenzym Q a cytochrom *c* jsou také účastníky tohoto systému díky přenosu elektronů mezi jednotlivými komplexy (Wallace 1999).

Hlavním substrátem pro tvorbu energie v buňkách jsou sacharidy, proteiny a mastné kyseliny, jejichž metabolity jsou směřovány do Krebsova cyklu a následně dýchacího řetězce. Při postupné oxidaci redukovaných NADH (nikotinamid adenin dinukleotid) a FADH₂ (flavin adenin dinukleotid) dochází k přenosu elektronů z atomu vodíku na kyslík v komplexu číslo IV. Zároveň při průchodu elektronů jednotlivými komplexy jsou komplexy pumpovány protony přes vnitřní mitochondriální membránu a dochází k tvorbě významného protonového gradientu. Zpětný tok protonu komplexem V – ATP-syntázou vede její cyklickou konformační změnou k tvorbě ATP (Alberts 2002).



Obr. 4: Schematické znázornění enzymatických komplexů (komplex I–IV) a ATP-syntázy (komplex V) na vnitřní straně mitochondriální membrány. Obrázek převzat a přeložen z (Zeviani 2004). Zkratky: NADH redukovaná forma nikotinamid adenin dinukleotidu; NAD nikotinamid adenin dinukleotid; H⁺ proton; O₂ kyslík, H₂O voda, ADP adenosindifosfát, Pi fosfát v neorganické iontové formě; ATP adenosintrifosfát; CoQ koenzymQ; Cyt *c* cytochrom *c*.

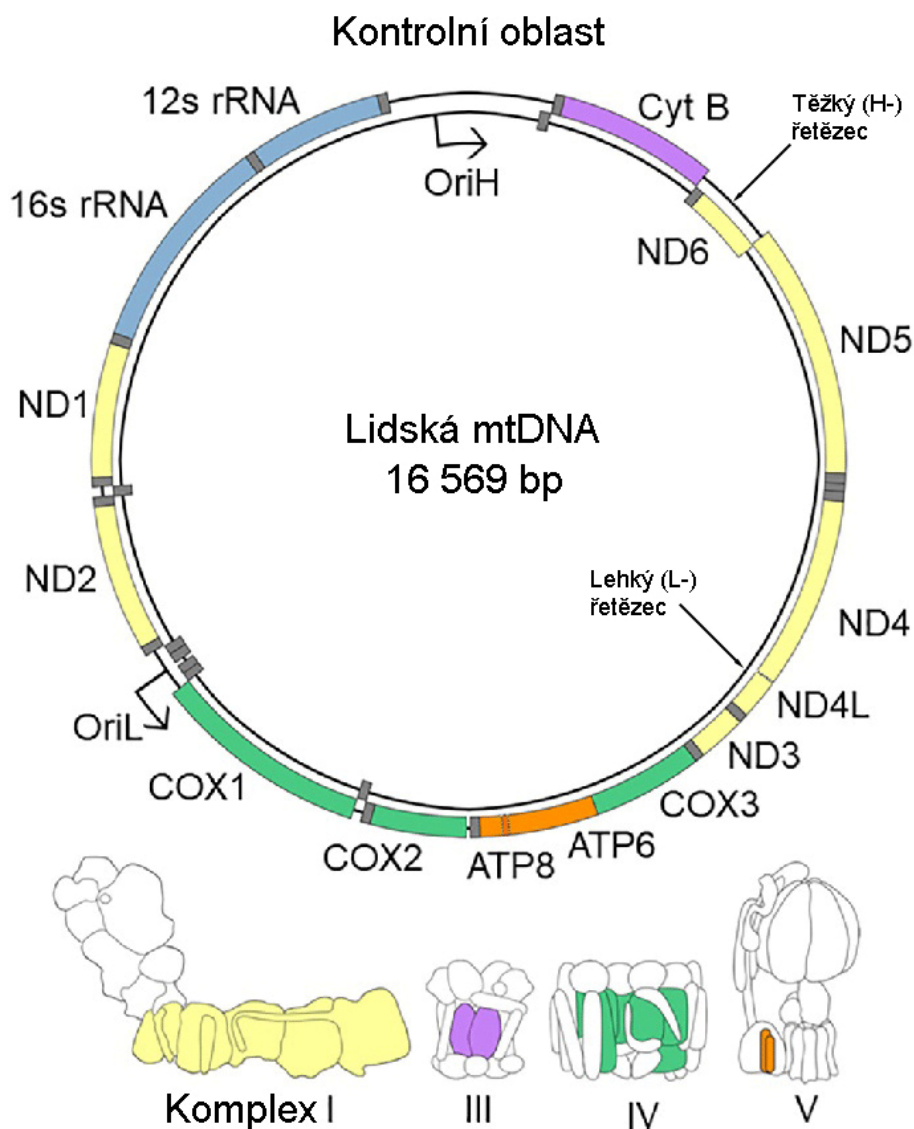
1.4.4. Mitochondriální dědičnost

Proteosyntéza mitochondriálních proteinů zajišťujících oxidativní fosforylaci je funkčně řízena dvěma genomy: mitochondriální DNA (mtDNA) a nukleární DNA (nDNA). Tímto je dána dvojitá dědičnost mitochondriálních onemocnění – maternální a jaderně chromosomální. Lidská mtDNA je cirkulárně uspořádaná dvouřetězcová molekula mající délku 16 569 nukleotidových párů bází, které obsahují 37 genů, viz **Obr. 5** (Chocron 2019).

Mitochondriální DNA kóduje kromě genů pro 12S a 16S ribosomální RNA (rRNA) a 22 transferových RNA (tRNA) pouze 13 z přibližně 1 200 mitochondriálních proteinů (Calvo 2010, Rath 2021), což je cca 1 % mitochondriálního proteomu (Filograna 2021). Nukleární DNA kóduje 1171 známých a 442 předpokládaných mitochondriálních proteinů (Smith 2016), zahrnujících podjednotky OXPHOS, asemblační faktory pro komplexy OXPHOS a proteiny nutné pro udržování mtDNA.

V každé mitochondrii buňky je obsaženo až 10 kopií mtDNA. Při počtu stovek až tisíců mitochondrií v buňce tak činí počet kopií mtDNA na jednu buňku 10^3 – 10^5 (Burger 2003, Robin 1988). Vzhledem k charakteru maternální dědičnosti však není obsah genetické informace uložené v mitochondriích v každé buňce identický. V průběhu buněčného dělení jsou mitochondrie náhodně segregovány do dceřiných buněk. Mitochondriální DNA je tak mezi nové buňky distribuována zcela náhodně a dochází tak i k nerovnoměrnému rozdělení mutované DNA. Směs mutované a nemutované (wild-type) molekuly mtDNA v buňce se nazývá heteroplazmie (Holt 1990), viz **Obr. 6**. Naopak stav, kdy buňka obdrží pouze normální, nebo naopak mutované mitochondrie se nazývá homoplazmie.

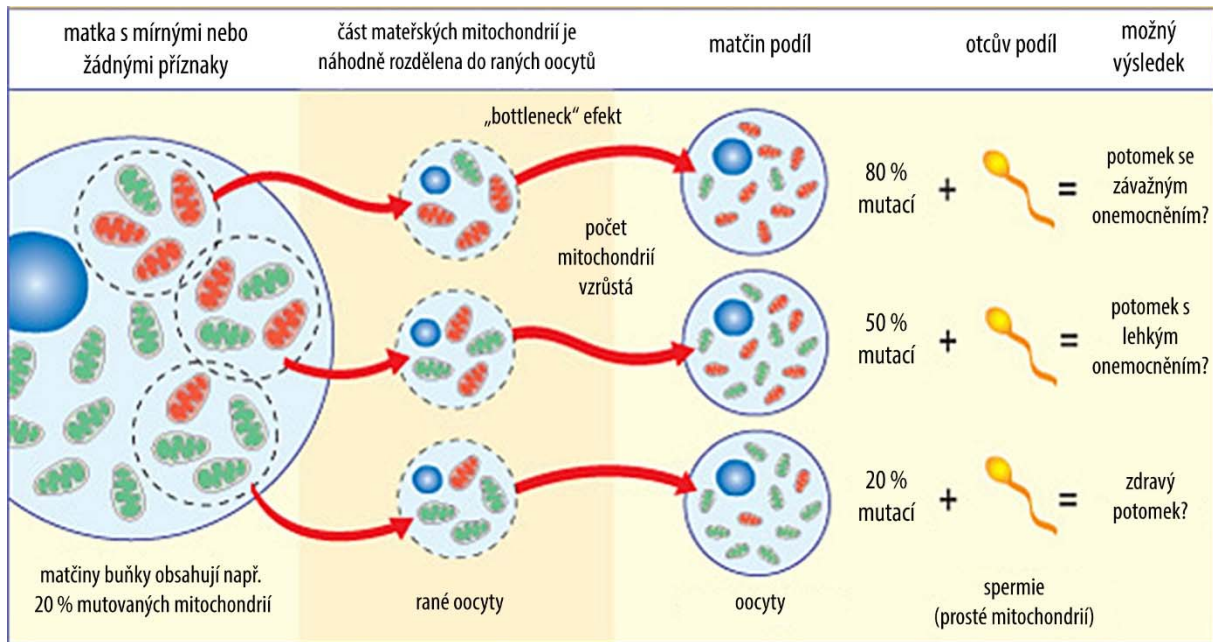
Hladina mutované mtDNA se může lišit mezi jednotlivými tkáněmi a orgány u jedné osoby i v rámci jedné rodiny a je příčinou rozmanitého klinického obrazu, viz **Obr. 7**.



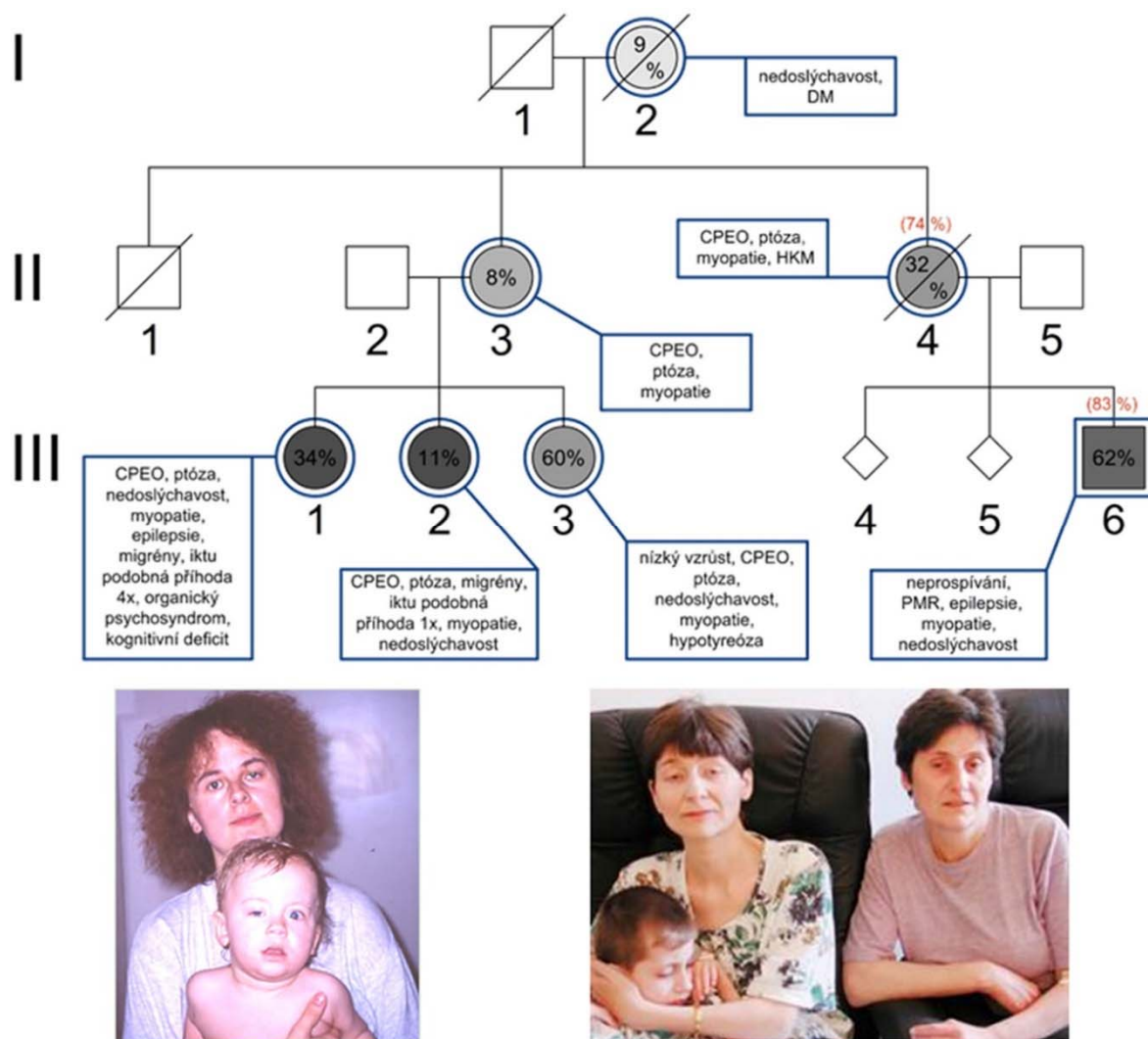
Obr. 5: Genetická mapa mitochondriální DNA. Lidská mtDNA je složena z 16 569 párů bází a tvoří ji 2 řetězce, které jsou označovány jako „lehký“ (L- „light“) a „těžký“ (H- „heavy“). MtDNA kóduje 11 messenger RNA, které jsou určeny k translaci 13 podjednotek dýchacího řetězce (vyznačeno barevně – žlutá komplex I, fialová komplex III, zelená komplex IV, oranžová ATP syntáza), 2 ribosomální RNA (modře) a 22 transferových RNA (šedě). Kontrolní oblast obsahuje promotory pro transkripci L- i H- řetězce.

ND1–ND6 a ND4L – podjednotky komplexu I; cyt *b* cytochrom *b* – podjednotka komplexu III; COI–COIII – cytochrom *c* oxidáza; ATP6 a ATP8 – podjednotky ATP syntázy; OriL; OriH začátek transkripce „těžkého“ řetězce; OriL začátek transkripce „lehkého“ řetězce

Převzato a upraveno z (Chocron 2019) .



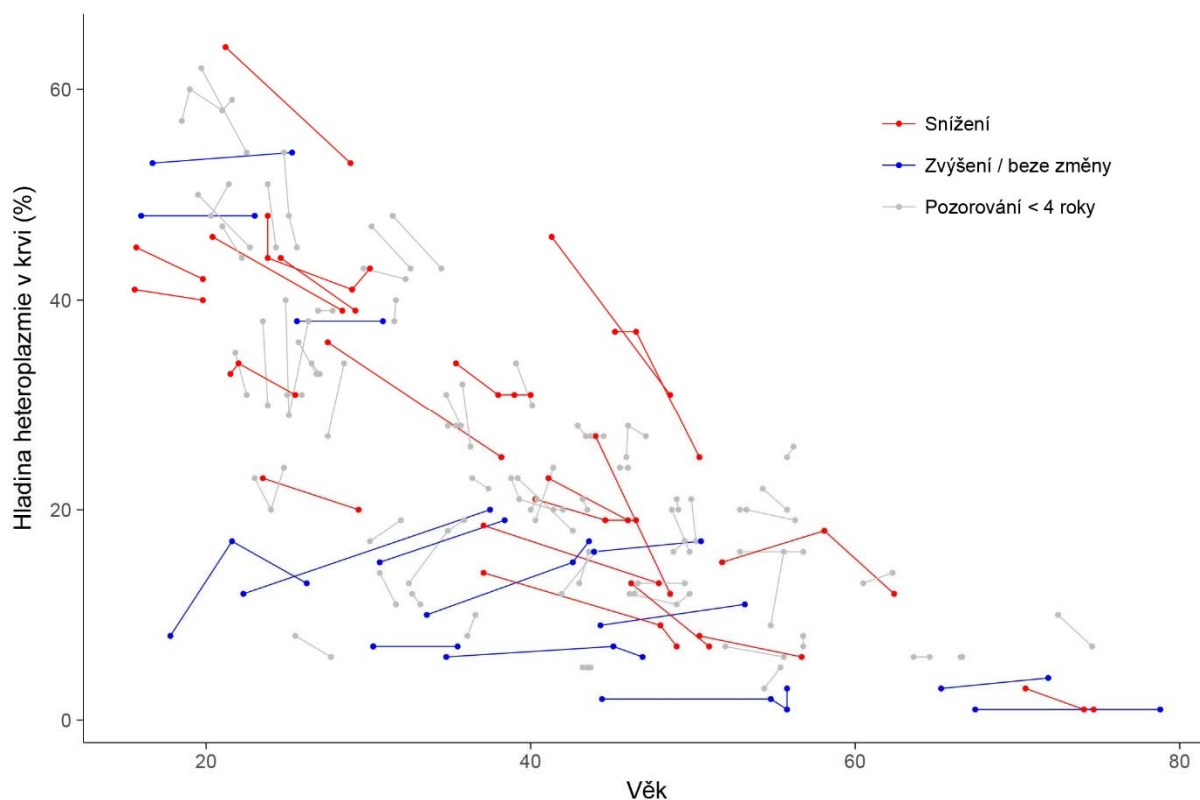
Obr. 6: Tzv. „bottleneck“ efekt a vliv na hladinu heteroplazmie. Efekt je dán výraznou redukcí (proto hrdlo láhve) a pak multiplikací mtDNA. V průběhu oogeneze zárodečných buněk matky dochází k náhodnému rozdělení mitochondrií s mutovanou DNA a nemutovaných mitochondrií do oocytů. Tento proces je zcela náhodný a dává vznik liniím s různou mírou heteroplazmie (procento mutovaných a nemutovaných mitochondrií v buňce) či homoplazmie (přítomnost výhradně mutovaných/nemutovaných mitochondrií). Tíže onemocnění potomka může záviset na procentu mutované mtDNA oocytu, ze kterého bylo dítě počato. Převzato a upraveno z <https://www.mda.org/disease/mitochondrial-myopathies/causes-inheritance>.



Obr. 7: Typický rodokmen MELAS s viditelnou maternální dědičností a variabilní klinikou, kterou dokládají další dvě (jiné) rodiny, jejichž fotografie jsou pod rodokmenem. Na fotografii vlevo matka, u níž je přítomna mírná bilaterální ptóza, její dítě má již však ptózu významnou a jednostrannou. Na fotografii vpravo je patrné zhoršování onemocnění v generacích. Černě je značena hladina heteroplazmie v krvi, červeně ve svalu. Odstín šedi odráží tíži obtíží (od nejsvětlejší – mírné obtíže, po nejtmaší – nejtěžší). Hladina heteroplazmie u této rodiny nekoreluje s tíží obtíží.

Rodokmen a fotografie zapůjčeny prof. MUDr. Jiřím Zemanem, DrSc. Publikováno se souhlasem pacientů.

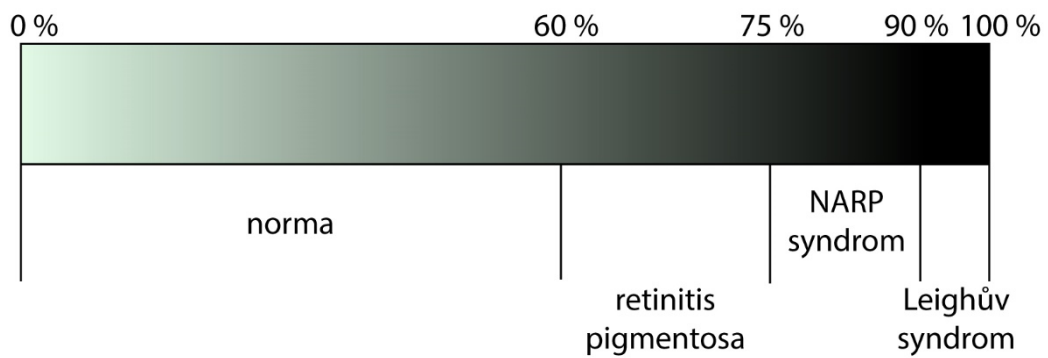
Hladina heteroplazmie se dále může měnit s věkem (Wachsmuth 2016). V posledních letech je diskutována zejména měnící se hladina heteroplazmie v krvi u, kdy je udáván roční pokles až ~2,3 % (**Obr. 8**), přičemž pokles podílu mutované mtDNA u popisované kohorty neměl vliv na průběh a tíži onemocnění. (Grady 2018). Při vyšetřování jiných, snadno obdržitelných tkáních, jako například buněk močového sedimentu, byl zjištěn významný rozdíl mezi pohlavími – u mužů o 19,2 % vyšší hladina oproti ženám (Grady 2018).



Obr. 8: Pokles hladiny heteroplazmie m.3243A>G v krvi.

Vývoj hladiny heteroplazmie v krvi u jedinců s více měřeními (N = 96). Každý bod představuje jedno měření heteroplazmie; body spojené čarou představují jednotlivé pacienty. Pacienti sledovaní po dobu 4 a více let jsou zvýrazněni červeně u těch, kteří vykazují pokles (N = 21), resp. modře u těch, kteří vykazují zvýšení nebo nevykazují žádnou změnu (N = 14). Převzato a přeloženo z (Grady 2018).

Threshold efektem je nazýván stav, kdy se při jisté hladině heteroplazmie mutované mtDNA onemocnění manifestuje klinicky a biochemicky, viz **Obr. 9**. Tyto dva efekty – threshold a heteroplazmie jsou hlavními důvody pro mimořádnou klinickou heterogenitu matroklinně děděných onemocnění. Zároveň tyto dva procesy jsou příčinou obtížné prenatální diagnostiky, a tak i primární prevence.



Obr. 9: Prahová hypotéza (threshold thesis) pro mutaci m.8993T>G. Rozdílná hladina mutované mtDNA v genu pro *MT-ATP6* ústí v rozdílné klinické spektrum – od asymptomatického nosičství, po pigmentovou retinopatii (hladina mutované mtDNA 60–75 %), přes syndrom neurogenní svalové slabosti, ataxie a retinitis pigmentosa (heteroplazmie 75–90 %) až Leighův syndrom (heteroplazmie nad 90 %) (Bakare 2021).

1.5. Hlavní klinické projevy mitochondriálních onemocnění

Klinická manifestace mitochondriálních onemocnění je velmi heterogenní a jak již bylo řečeno dříve, nejčastěji jsou postiženy orgány s vysokými nároky na produkci energie. U některých onemocnění dochází ke specifickému postižení jednoho orgánu (např. Leberova hereditární atrofie optiku, LHON), avšak častější je postižení více orgánových systémů tvořící specifický klinický obraz zahrnutý pod pojmenovaný syndrom. Mezi nejznámější z těchto syndromů patří myoklonická epilepsie s ragged-red fibres (MERRF sy.), mitochondriální myopatie, encefalopatie, laktátová acidóza a iktu podobné příhody (MELAS sy.), Kearnsův–Sayreův syndrom (KSS) nebo Leighův syndrom. Přestože u těchto syndromů byla popsána klinická/biochemická kritéria ke stanovení diagnózy, pacienti často vykazují užší/rozšířenější fenotyp nebo dokonce překryvné syndromy (Kolarova 2016, Wei 2021). Přehled nejčastějších mitochondriálních syndromů udává **Tab. 1**.

Tab. 1: Nejčastější mitochondriální syndromy dle (Finsterer 2006b, Honzik 2010, Rai 2015)
 Zkratky: IUGR intrauterinní růstová restrikce; mtDNA mitochondriální DNA; SLSMD single large-scale mitochondrial DNA deletion

Onemocnění	Molekulární etiologie	Klinické projevy	Hlavní postižené orgány
Mitochondriální myopatie, encefalopatie, laktátová acidóza, stroke-like epizody (MELAS)	Nejčastěji m.3243A>G <i>MT-TL1</i> v mtDNA	Stroke-like epizody, epilepsie, encefalopatie, myopatie, neprospívání	Kosterní svalstvo, mozek, srdce
Maternálně dědičný diabetes mellitus a hluchota (MIDD)	m.3243A>G <i>MT-TL1</i>	Sensorineurální hluchota, diabetes, myopatie, zácpa	Sluch, endokrinní pankreas
Myoklonická epilepsie s ragged-red fibres (MERRF)	m.8344A>G <i>MT-TK</i>	Generalizovaná epilepsie, ataxie a myopatie	Kosterní svalstvo, mozek, srdce
Neuropatie, ataxie a retinitis pigmentosa (NARP)	m.8993T>G <i>MT-ATP6</i>	Porucha zraku až slepota, mozečková ataxie, křeče, kognitivní poruchy, sensorimotorická neuropatie	Mozek, oči
Leberova hereditární optická neuropatie (LHON)	m.3460G>A <i>MT-ND1</i> , m.11778G>A <i>MT-ND4</i> , m.14484T>C <i>MT-ND6</i>	Akutní/subakutní ztráta zraku, ztráta zrakové ostrosti, atrofie n. opticus	Oči
Leighův syndrom	Bodové mutace v mtDNA a/nebo nDNA genech, jako je <i>SURF1</i>	Laktátová acidóza, neprospívání, myopatie, bilaterální symetrické léze v oblasti bazálních ganglií	Mozek, kosterní svalstvo, oči, periferní nervový systém

Kearnsův-Sayreův syndrom (KSS)	Rozsáhlá delece mtDNA (SLSMD)	CPEO, pigmentová retinopatie, poruchy srdečního rytmu, diabetes mellitus, ataxie	Kosterní svalstvo, mozek, srdce, oči
Pearsonův syndrom (PS)	SLSMD	Sideroblastická anémie, pancytopenie, porucha exokrinního pankreatu, laktátová acidóza	Kostní dřeň, exokrinní pankreas, játra, ledviny, mozek
Chronická progresivní externí oftalmoplegie (CPEO)	SLSMD	Ptóza, mírná proximální svalová slabost	Kosterní svalstvo
Mitochondriální neurogastrointestinální encefalopatie (MNGIE)	Mutace v jaderném genu <i>TYMP</i> způsobující delece a deplece mtDNA	Svalová slabost, ptóza, oftalmoplegie, periferní neuropatie, gastrointestinální dysmotilita, kachexie, leukoencefalopatie	Střevo, kosterní svalstvo, mozek, periferní nervový systém
Deficit proteinu TMEM70	Mutace v jaderném genu <i>TMEM70</i>	IUGR, neprospívání, encefalopatie, myopatie, opoždění psychomotorického vývoje, hypertrofická kardiomyopatie, 3-methylglutakonová acidurie	Kosterní svalstvo, mozek, srdce
Barthův syndrom	Mutace v jaderném genu <i>TAZ</i>	Kardiomyopatie, myopatie, porucha růstu, cyklická neutropenie	Kosterní svalstvo, srdce, kostní dřeň
Wolframův syndrom (DIDMOAD)	Mutace v jaderném genu <i>WFS-1</i>	Diabetes insipidus, diabetes mellitus, atrofie n. opticus, hluchota	Oči, hypofýza, vnitřní ucho

Friedreichova ataxie	Mutace v jaderném genu <i>FXN</i> (intronová expanze GAA repeatů)	Porucha chůze, třes, dysartrie, hypertrofická kardiomyopatie, porucha zraku a sluchu, DM	Mozeček, srdce, oči, sluch, pankreas
Alpersův-Huttenlocherův syndrom	Mutace v jaderném genu <i>POLG1</i> způsobující depleci mtDNA	Farmakorezistentní epilepsie, ataxie, periferní neuropatie, jaterní selhání	Mozek, mozeček, kosterní svalstvo, periferní nervový systém, játra
Costeffův syndrom	Mutace v jaderném genu <i>OPA3</i>	Porucha zrak. ostrosti, atrofie n. opticus, extrapyramidové jevy, spasticita	Oči, mozek
SANDO syndrom (sensorická ataktická neuropatie, dysartrie, oftalmoplegie)	Mutace v jaderném genu <i>POLG</i>	Migrény, křeče, dysartrie, CPEO, sensorická ataktická neuropatie	Mozek, periferní nervový systém
Mohrův-Tranebjaergové syndrom	Mutace v jaderném genu <i>TIMM8A</i> , dědičnost X-vázaná recesivní	Hluchota, dystonie, ataxie, kortikální slepota, spasticita, dysfagie	Mozek, mozeček

Jednotlivé klinické příznaky popisované u mitochondriálních onemocnění:

Svalové postižení – Myopatie s příznaky svalové slabosti (převážně proximální), intolerance fyzické zátěže, klidové svalové bolesti nebo čistě jen hypotonie patří mezi velmi časté příznaky. Typicky se postižení manifestuje brzkou únavou při fyzické zátěži, která je běžně spojena s mírným vyčerpáním, jako je například výstup jednoho patra schodů. Pacienti často mohou pokračovat v aktivitě po krátké pauze, nicméně symptomy se po znovuobnovení aktivity vrací, podobně jako u jiných metabolických myopatií. (Berardo 2010). Svalová slabost může být spojena se svalovými křečemi a zvracením po fyzické námaze, které je spojeno se vznikem laktátové acidózy (Rahman 2020). Příznaky svalového postižení jsou většinou sdruženy se symptomy postižení ostatních orgánů, nicméně byla již popsána izolovaná mitochondriální myopatie v dětském věku, která má neprogresivní charakter a spontánně odeznívá do 2-3 let věku – reverzibilní infantilní myopatie z důvodu deficiencie respiračního řetězce (RIRCD – reversible infantile respiratory chain deficiency) (Boczonadi 2015, Horvath 2009). Kojenci se projevují těžkou svalovou slabostí, hypotonií a problémy s krmením v prvních dnech až týdnech života a jejich stav může vyžadovat umělou plicní ventilaci a krmení nasogastrickou sondou. Klinický stav dětí se většinou začne upravovat před završením prvního roku života (Boczonadi 2015).

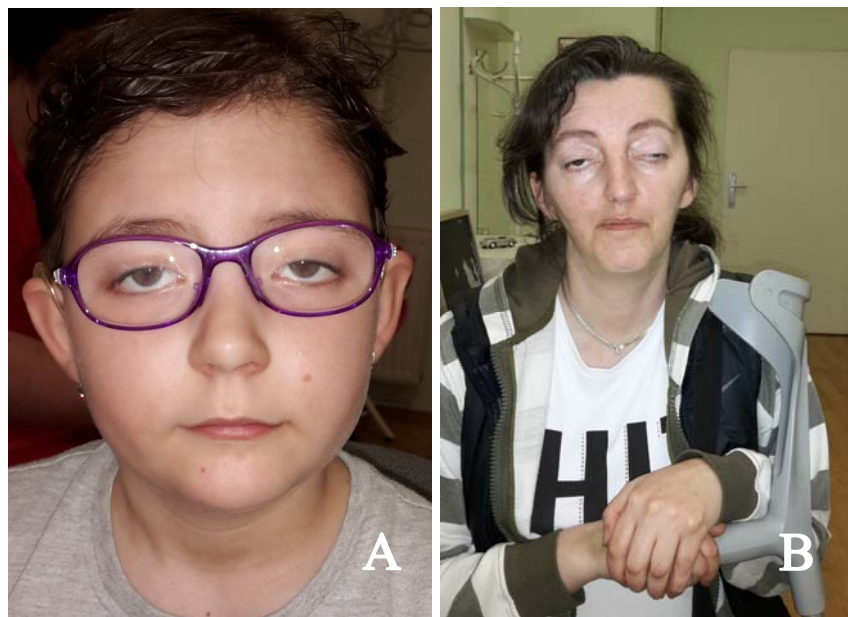
V laboratorních vyšetřeních mohou být při mitochondriálních myopatiích zaznamenány zvýšené hladiny svalových enzymů (kreatinkináza – CK, myoglobin) dosahujících až hodnot svědčících pro rhabdomyolýzu (Patchett 2011), tento nálezn však není často přítomný a pacienti mohou vykazovat čistě klinické obtíže.

Mezi onemocnění s typickým postižením svalů při delecii mtDNA patří Kearnsův–Sayreův syndrom, Pearsonův syndrom a chronická progresivní zevní oftalmoplegie (CPEO). První dvě zmíněná jsou onemocnění multisystémová. Chronická progresivní oftalmoplegie je pak onemocnění s nástupem v dospělosti, kdy dochází k progresivnímu postižení okoohybných svalů s ptózou, někdy může zahrnovat také oropharyngeální a proximální svalovou slabost (Olimpio 2021). Myopatie při variantě v mt-tRNA pak zahrnuje velmi častý MELAS a MERRF syndrom. Z jaderných mutací podílejících se na vzniku mitochondriální myopatie lze zmínit mutace v genu *YARS2* a *PUS1*, které dávají za vznik syndromu MLASA – mitochondriální myopatie, laktátová acidóza a sideroblastická anémie.

Chronická PEO – Jak již bylo zmíněno výše, do mitochondriálních myopatií patří i typický projev chronické progresivní zevní oftalmoplegie (CPEO) (Anteneova 2020, Lehmann 2016).

Je přítomen jak u syndromu CPEO a Kearnsova–Sayreova syndromu s delecemi v mtDNA, tak u MELAS syndromu při bodových mutacích v mtDNA. Chronická PEO byla poprvé popsána roku 1868 oftalmologem Albrechtem von Gräefem, který referoval ženu nespecifikovaného věku s parciální ptózou a kompletní obrnou pohledu se zachováním funkce pupilárních svalů, která byla neměnná po dobu sledování 6 let (Hirano 2023). Jedná se o zvolna probíhající progresivní paralýzu zevních očních svalů projevující se poruchou pohledu vzhůru nebo do stran. Tento náález často také doprovází ptóza (pokles očních víček), viz **Obr. 10**. Porucha funkce očních svalů je dána zejména nedostatečnou produkcí ATP při velkém počtu nervosvalových plotének v dané oblasti. V diferenciální diagnostice toho příznaku je nutno pamatovat také na možnost nemitochondriální formy CPEO, jako je myotonická dystrofie, kongenitální myopatie, pletencové svalové dystrofie (limb-girdle muscular dystrophies), Gravesova oftalmopatie a další (Rowland 1997).

Mezi další projevy postižení okoohybných svalů u mitochondriálních onemocnění patří nystagmus a strabismus, které se mohou kombinovat spolu s CPEO.



Obr. 10: A) Ptóza očních víček u 11leté pacientky s Kearnsovým-Sayreovým syndromem. B) Ptóza a progresivní zevní oftalmoplegie u 39leté pacientky s Kearnsovým-Sayreovým syndromem. (Z archivu prof. MUDr. Tomáše Honzíka, Ph.D. Fotografie byly pořízeny se souhlasem pacienta či zákonných zástupců).

Nervový systém – U průměrného dospělého jedince činí hmotnost mozku jen cca 2 % celkové tělesné hmotnosti, nicméně spotřebovává přibližně 20 % celkové dodávky kyslíku a 25 % dodávky glukózy tkáním a jedná se tedy o orgán s vysokými metabolickými nároky. Vysoká

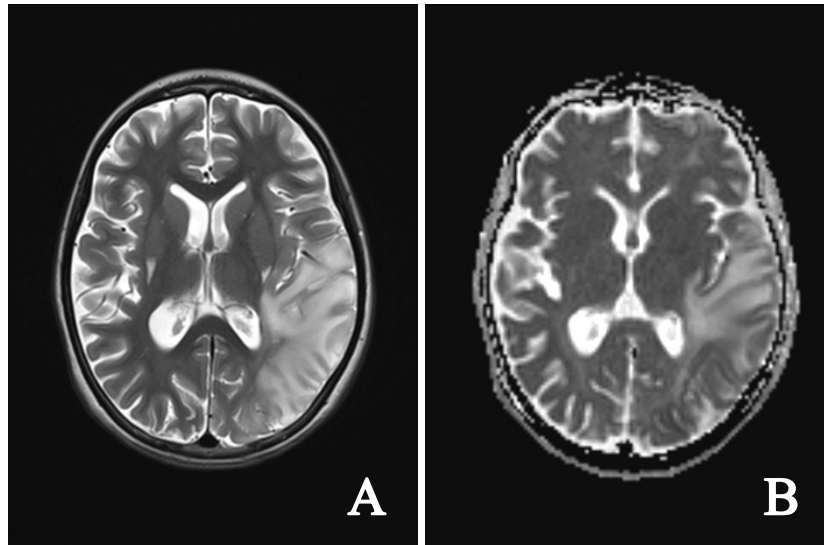
rychlost metabolismu je poměrně konstantní bez ohledu na míru mentální a motorické aktivity (Sokoloff 1955). Předpokládá se, že každý neuron v substantia nigra obsahuje jeden až dva miliony mitochondrií (Misgeld 2017). Důsledkem je, že i při malých změnách v produkci energie v mitochondriích dochází k preferenčnímu postižení mozku a nervového systému.

Neurologické projevy jsou u mitochondriálních onemocnění velmi variabilní a postihují jak centrální, tak periferní nervový systém. V dětském věku často nacházíme projevy ve smyslu opoždění psychomotorického vývoje např. u deficiencie ATP syntázy při mutaci v genu *TMEM70*, *ATP5F1E*, *ATP5O* (Honzik 2010, Zech 2022), Leighova syndromu, MEGDEL syndromu (Finsterer 2020), či deficitu proteinu SURF1 (Piekutowska-Abramczuk 2009). Dalším častým projevem jsou křeče, které postihují až 50 % dětí s mitochondriálním onemocněním (Magner 2011, Scaglia 2004). Charakter křečí je rozmanitý, u dětí bývají více pozorovány infantilní spasmy nebo Westův syndrom, v pozdějším věku je pak přítomna myoklonická epilepsie (typicky MERRF sy.) nebo tonicko-klonické křeče. Křeče mohou být projevem probíhající stroke-like epizody, viz níže. V průběhu života pacientů s mitochondriálním onemocněním se může v různé míře rozvíjet encefalopatie, kdy je patrné postupné snižování kognitivních schopností nebo psychiatrické abnormality. Mezi další projevy postižení centrálního nervového systému (CNS) patří pyramidové jevy, hyperreflexie, spasticita nebo ataxie. Postižení periferních nervů zahrnuje nejčastěji axonální sensorimotorickou polyneuropatii (neurogenní svalová slabost s ataxií a retinitis pigmentosa – NARP sy.) (Rawle 2013, Thorburn 1993).

Stroke-like epizody – K typickému projevu postižení centrálního nervového systému u MELAS syndromu patří iktu podobné příhody (SLE), nicméně mohou se objevit i u jiných mitochondriálních onemocnění, např. u mutací v genu *POLG* či vzácných variantách v mtDNA (Kaufmann 2004, Ng 2022a). Jak název napovídá, tyto mozkové příhody nejsou zapříčiněny ischemií ve vaskulárním řečišti mozku. Přesný mechanismus vzniku stále není znám a v současné době existují dvě hypotézy. První hypotéza je v současné době šířeji přijímaná – neuronální hyperexcitabilita a cytopatie na podkladě nedostatečné produkce ATP (Lax 2017, Ng 2023). Druhou je tzv. „mitochondriální angiopatická teorie“, kdy abnormální akumulace mitochondrií ve stěně cév vede k endoteliální dysfunkci, snížené syntéze NO a nízké sérové koncentrace argininu a citrulinu (El-Hattab 2016, Koga 2005). Nízká syntéza NO vede ke ztrátě cerebrovaskulární autoregulaci a vazodilataci, která ústí v tvorbu ischemických ložisek při stroke-like epizodě. Této hypotézy se využívá při terapeutickém podávání L-argininu a L-citrulinu v době ataky, jak bude blíže diskutováno níže.

Neurologické projevy stroke-like epizody se odvíjí od části kortexu, který je postižen. Mezi nejčastější klinické symptomy patří nově se objevená porucha vědomí, bolesti hlavy mající až charakter migrény a křeče (Ng 2022a). Křeče ve spojitosti se SLE jsou obvykle fokální, s možnou poruchou vědomí a v některých případech mohou progredovat do generalizovaných tonicko-klonických křečí (Li 2021). Poměrně častá je porucha visu z důvodu postižení zadní zrakové dráhy. U pacientů mohou být přítomny unilaterální výpadky zorného pole (kvadrantopsie nebo hemianopsie), vizuální halucinace až kortikální slepota (Fine 2021, Ng 2022a). U více než poloviny pacientů se SLE byly popsány pozitivní vizuální fenomény následované výpadkem zorného pole (Ng 2022a). K diferenciaci mezi probíhající SLE s bolestí hlavy doprovázené vizuálními symptomy a migrénou s aurou patří zejména delší doba trvání u SLE (typicky hodiny až dny), setrvalá přítomnost defektů zorného pole a typickým nálezem na MRI a EEG. Z dalších možných příznaků doprovázejících iktu podobnou příhodu lze jmenovat např. deficity řeči, jako je expresivní či receptivní afázie.

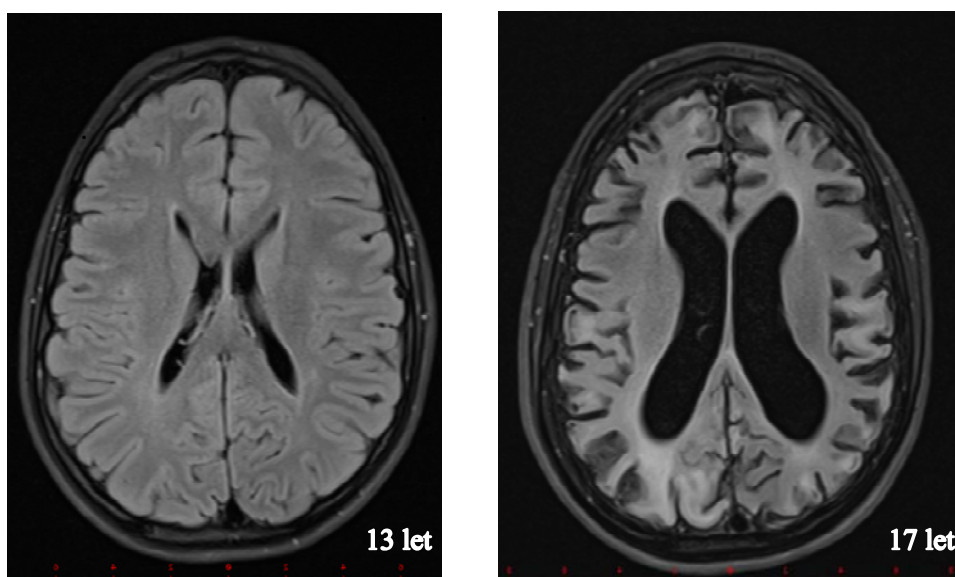
Při zobrazení MRI (magnetic resonance imaging) mozku se SLE obvykle projevují jako (sub-)akutní kortikální a subkortikální léze s restrikcí difuze při predilekčním postižením okcipitálního a parietálního laloku mozku na MRI (Finsterer 2006a, Zheng 2022). Léze neodpovídají cévnímu zásobení a typicky se zobrazují v T1 váženém obraze T1 jako hypointenzní, v T2-/T2 FLAIR váženém obraze hyperintenzní, v modu DWI (Diffusion Weighted Imaging) hyperintenzní a s variabilními změnami v ADC (Apparent Diffusion Coefficient) mapování (hypo/iso/hypertenzita) (Ng 2023). Charakteristický nález na magnetické rezonanci mozku u naší 10leté pacientky při probíhající iktu podobné příhodě je patrný na **Obr. 11**.



Obr. 11: MRI mozku u 10leté pacientky s MELAS syndromem (prevalentní mutace m.3243A>G) při akutně probíhající iktu podobné příhodě. A) T2 vážený obraz, B) mód DWI, nálezu dominuje rozsáhlé hyperintenzní ložisko temporo-parieto-okcipitálně vlevo kortiko-subkortikálně, které postihuje i značnou část bílé hmoty výše zmíněných laloků. Dále patrna starší ložiska bilaterálně frontálně a drobnější ložiska temporálně a okcipitálně vpravo, kde je patrná i lokální atrofie. V modu DWI je patrná restrikce difuzně především u rozsáhlého ložiska temporo-parieto-okcipitálně vlevo, mírně i frontálně parasagitálně. Z archivu prof. MUDr. Tomáše Honzíka, Ph.D. a Radiodiagnostické kliniky 1. LF UK a VFN v Praze.

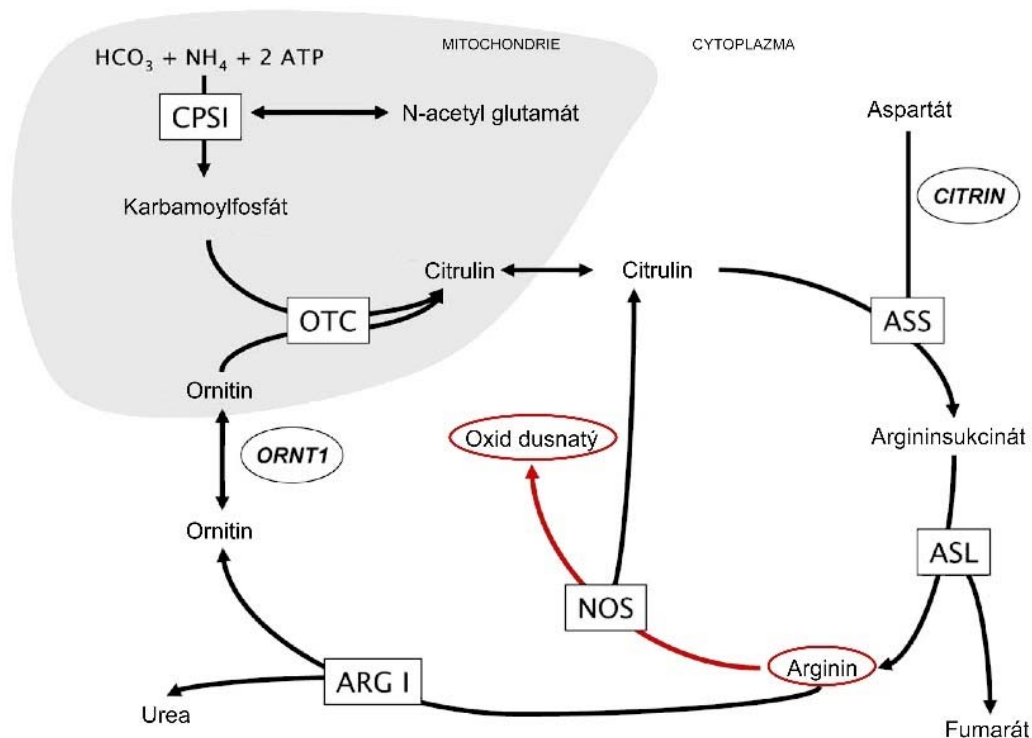
Vyšetření EEG v akutním stavu prokazuje fokální epileptiformní výboje častěji než generalizované a jsou většinou lokalizovány do posteriorních oblastí (Hikmat 2020, Li 2021).

Dle definice Hirana z roku 1992 by se SLE měly typicky objevovat u jedinců do 40 let věku (Hirano 1992), nicméně ve studii Ng. a kol. 32 % pacientů vyvinulo svou první SLE ve 40 letech a později (Ng 2022a) a toho času již není věk nástupu relevantní pro stanovení diagnózy. Časný nástup iktu podobných příhod může být spojen s horší prognózou onemocnění (Kaufmann 2011). Přestože po příhodě většinou dochází k úpravě symptomů, opakované SLE vedou k postupné atrofii mozku (Zheng 2022) a progresivní kognitivní deterioraci. Příkladem je náš pacient, který prodělal 16 stroke-like epizod a k úmrtí došlo v 17 letech při rozvoji další SLE a statu epilepticu. Jeho MRI je na **Obr. 12**.



Obr. 12: MRI mozku u chlapce s MELAS syndromem (prevalentní mutace m.3243A>G) s kognitivní deteriorací. Na MRI patrna progrese závažné atrofie mozku, v 17 letech přítomno také rozsáhlé ložisko stroke-like příhody vlevo okcipitálně. Z archivu prof. MUDr. Tomáše Honzíka, Ph.D. a Radiodiagnostické kliniky 1. LF UK a VFN v Praze.

Management stroke-like epizody spočívá v razantním potlačení křečových projevů antiepileptiky a benzodiazepiny (Ng 2023, Orsucci 2022). Podání valproátu je kontraindikováno u pacientů se známou mutací v *POLG* genu. Podávání L-argininu v době akutní stroke-like epizody je v našem regionu oblasti zavedeno a doporučováno, nicméně nemá plnou podporu evidence-based medicine (Ng 2019, Stefanetti 2022). Mechanismus působení podání L-argininu na syntézu NO je vyobrazen na **Obr. 13**.

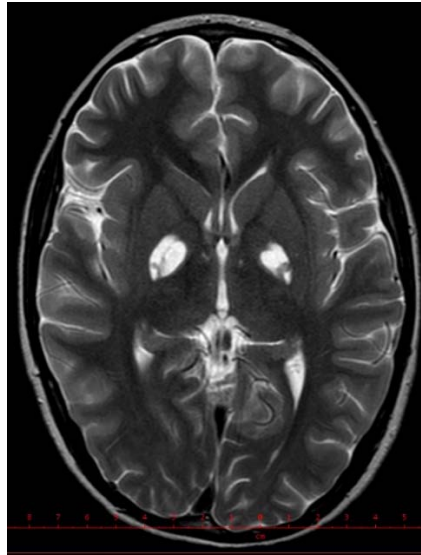


Obr. 13: Schematické znázornění cyklu močoviny a oxidu dusnatého. Červeně je zvýrazněna přeměna argininu na oxid dusnatý. Zahrnutý jsou následující enzymy: CPS I karbamoylfosfát syntetáza; OTC ornitintraskarbamyláza; ASS argininsukcinát syntetáza; ASL argininsukcinát lyáza; ARG I argináza; NOS syntáza oxidu dusnatého; ORNT1 ornitin translokáza a citrín – přenašeče. Převzato a přeloženo z (Neill 2009).

Leighův syndrom – Známý také jako subakutní nekrotizující encefalomyopatie, je geneticky heterogenní progresivní neurodegenerativní onemocnění asociované s mitochondriální dysfunkcí. V současné době je známo, že Leighův syndrom je zapříčiněn mutacemi ve více než 80 genech lokalizovaných jak v mtDNA (25 % případů), tak nDNA (75 % případů), s možným postižením energetického metabolismus na všech jeho úrovních (Bakare 2021). Dědičnost je maternální, autosomálně recesivní nebo vázaná na chromosom X.

I když se jedná o geneticky velmi variabilní onemocnění, klinický průběh je u více než tří čtvrtin pacientů podobný. Charakteristicky se onemocnění začne projevovat v kojeneckém věku regresem psychomotorického vývoje, těžkou hypotonií s přechodem do spasticity, poruchou zraku, extrapyramidovou symptomatologií (dyskinézy, dystonie), ataxií a příznaky postižení pontu a prodloužené míchy (dechovými a polykacími obtížemi, termolabilitou). Onemocnění rychle progreduje a vede k úmrtí většinou do 5 let věku. Až u 40 % pacientů se rozvine mnohdy farmakorezistentní epilepsie různého charakteru. Zobrazení MRI mozku bývá často se

symetrickým nálezem lézí, které mohou časem regredovat, zatímco jiné přetrvávají dále se vyvíjí. Postižení bývá nejčastěji lokalizováno do středočárových struktur – bazálních ganglií (zejm. putamen), thalamu a mozkového kmene. Příkladem je chlapec s mutací v jaderně kódovaném genu *PDHA1*, **Obr. 14**. Laboratorně je častá přítomnost laktátové acidózy. Rozvoj onemocnění po roce věku je spojen s lepší prognózou (Sofou 2014).

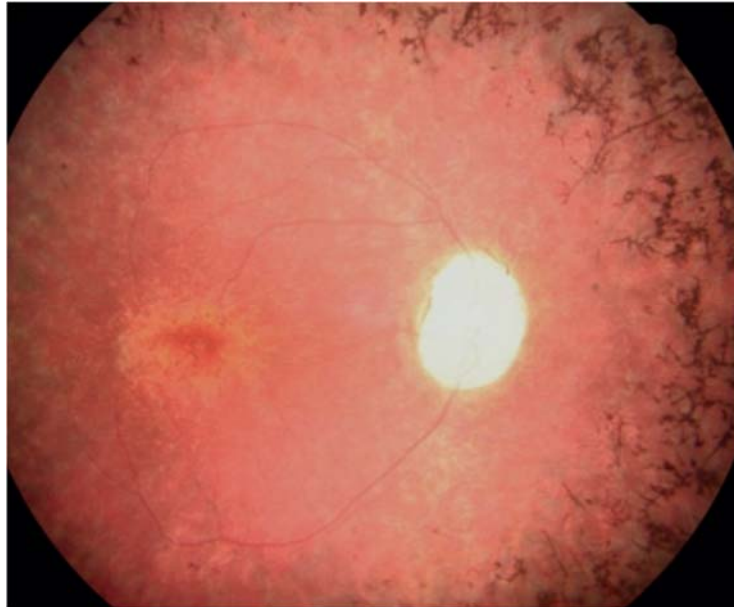


Obr. 14: MRI mozku v T2 sekvenci 9letého chlapce s mutací v genu *PDHA1* prokazuje signálové změny podezřelé z možné mitopatie/metabolické vady – symetricky v bazálních gangliích (globus pallidum bilat.) a mozkových pedunklech v oblasti substantia nigra, nevýrazně kolem 4. komory. Z archivu prof. MUDr. Tomáše Honzíka, Ph.D. a Radiodiagnostické kliniky 1. LF UK a VFN v Praze.

Postižení zraku a sluchu – Mezi možné projevy postižení zraku u mitochondriálních onemocnění patří pigmentová retinopatie. Vzniká na podkladě poruchy oxidativního metabolismu v mitochondriích, která rezultuje v degeneraci pigmentového epitelu sítnice, hypovaskularizaci sítnice a alteraci funkce tyčinek a čípků. Klinicky se manifestuje šeroslepostí, sníženou zrakovou ostrostí, možné jsou výpadky zorného pole až postupná ztráta zraku. Při vyšetření očního pozadí má v časně fázi nález charakter „pepře a soli“, ale může progredovat do obrazu retinitis pigmentosa. Často je přítomno těžké makulární postižení.

Pigmentová retinopatie je spolu s CPEO patognomická zejména pro Kearnsův-Sayreův syndrom. V největší publikované kohortě pacientů s KSS byla přítomna u 71 % (Khambatta 2014). Dystrofické změny sítnice mohou časem progredovat do chorioretinální atrofie. Z dalších mitochondriálních onemocnění je nutno zmínit syndrom NARP, podmíněný mutacemi v genu kódujícím podjednotku ATP-syntázy. Při vyšetření očního pozadí je

popisován náleznem „pepř a sůl“, který může progredovat do výraznějších přesunů pigmentu a atrofie sítnice, viz Chyba! Nenalezen zdroj odkazů.. Pigmentová retinopatie bývá součástí i dalších mitochondriálních onemocnění s multiorgánovým postižením, jako je Leighův syndrom nebo MELAS.



Obr. 15: Retinitis pigmentosa u chlapce se syndromem NARP (neurogenní svalová slabost, ataxie a retinitis pigmentosa). Typické shluky pigmentu ve tvaru kostních buněk v periferii sítnice, zúžené cévy a bledý terč zrakového nervu (archiv Oční kliniky 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Všeobecné fakultní nemocnice v Praze), převzato z (Baráková D. 2022)

Retinální gangliové buňky, které svými 1,2 miliony axony dávají za vznik optickému nervu, jsou obzvláště citlivé k neurodegeneraci související s mitochondriální dysfunkcí. Neuropatie optiku je dominantním klinickým projevem Leberovy hereditární neuropatie optiku (LHON), která je nejčastěji způsobena bodovými mutacemi v mtDNA kódující podjednotky komplexu I dýchacího řetězce. Mitochondriální dysfunkce ústí v selektivní neurodegeneraci retinálních gangliových buněk. K manifestaci onemocnění dochází ve většině případů v časně dospělosti (15-35 let) ztrátou centrální zrakové ostrosti, poruše barvocitu a kontrastní citlivosti na jednom oku, přičemž za 6-8 týdnů se symptomy objeví i na oku druhém (Carelli 2023). Postižení jsou 4-5x častěji muži (Yu-Wai-Man 2011). V České republice je v současné době diagnostikováno přes 150 pacientů a byly popsány i případy, kdy onemocnění zahrnuje i jiné, než pouze oční projevy (je pak označován jako LHON plus), či se vyskytuje v překryvných syndromech jako LHON/MELAS (Danhelovska 2020, Kolarova 2016). Terapeuticky je registrováno podávání idebenonu, analogu koenzymu Q₁₀. Pro pacienty s prevalentní mutací m.11778G>A je nadějí

genová terapie podaná intravitreálně, která je ve fázích výzkumu (Zuccarelli 2020). Neuropatie optiku je charakteristickým projevem také dominantní Kjerovy atrofie optiku (DOA), při které jsou oční projevy podobné jako u LHON a z dalších příznaků lze jmenovat CPEO, myopatii, ataxii a periferní neuropatii. Z dalších mitochondriálních onemocnění lze uvést MERRF syndrom a Costeffův syndrom, Friedreichovu ataxii, viz **Tab. 1**.

Porucha sluchu ve smyslu sensorineurální ztráty byla detekována až u 21 % pacientů s mitochondriálním onemocněním (Scaglia 2004). Nedslychavost až hluchota je popisována zejména u pacientů s následujícími syndromy: MELAS, MERRF, DIDMOAD, Mohrův-Tranebjaergové syndrom. Může ústít v hluchotu s nutností zavedení kochleárního implantátu. Zejména u dětí je nutné pečlivé sledování s včasnou diagnostikou možného postižení tak, aby zavedení adekvátní terapie (sluchadla, kochleární implantát) zamezilo poruše vývoje řeči.

Srdeční postižení – Vzhledem k faktu, že funkce kardiomyocytů je plně závislá na oxidativní fosforylaci, postižení srdce je u mitochondriálních onemocnění běžné a často bývá determinantou prognózy onemocnění. Celkový výskyt postižení srdce u mitochondriálních onemocnění je udáván 20-40 % (Brunel-Guitton 2015, Scaglia 2004), u nejčastějšího onemocnění MELAS až 55 % (Brambilla 2019). Postižení se může týkat jak struktury a funkce kardiomyocytů, tak převodního systému srdce.

Kardiomyopatie (KMP) je projevem postižení srdečního svalu strukturálně a funkčně a vyskytuje se ve 3 základních typech – dilatační, hypertrofická a restriktivní. Hypertrofická kardiomyopatie je nejčastějším typem a je popisována u 23 % dětí (Scaglia 2004) a 18 % dospělých s mitochondriálním onemocněním (Wahbi 2015). Bývá nalézána např. u deficiencie proteinu TMEM70 (Atay 2013, Honzik 2010), deficitu proteinu SCO1/SCO2 (Bohm 2006, Magner 2010, Vondrackova 2014), MERRF nebo MELAS syndromu (Hsu 2016, Song 2019). Pro Barthův syndrom je typická dilatační kardiomyopatie ústící v srdeční selhání, ačkoli i hypertrofická forma nebo nekompaktní myokard a endokardiální fibroelastóza byly popsány (Mazurova 2017, Mazurova 2013, Spencer 2006).

Poruchy převodního systému patří k méně častým projevům postižení srdce. Wolffův-Parkinsonův-Whiteův syndrom neboli syndrom preexcitace s výskytem 6 % u dospělých s mitochondriálním onemocněním (Wahbi 2015) patří mezi nejčastější. Je přítomen typicky u Kearnsova-Sayreova syndromu, kdy se porucha rytmu projevuje většinou až po očním postižení a může progredovat do kompletního atrioventrikulárního bloku s projevy synkopy až náhlé srdeční smrti (Kabunga 2015). Z dalších je třeba jmenovat ventrikulární a

atrioventrikulární blokády s nejvyšší rizikovostí u pacientů s MELAS syndromem (Wahbi 2015).

Hematologické projevy – Postižení kostní dřeně je dalším z možného celotělového účinku mitochondriální dysfunkce. Pro pacienty s Barthovým syndromem je typická cyklická neutropenie doprovázená opakovanými infekty (van Raam 2009) Mezi charakteristické projevy onemocnění hematopoetického systému patří sideroblastická anémie až pancytopenie, které vidáme u jedinců s deplečními syndromy jako Pearsonův syndrom nebo Kearnsův–Sayreův syndrom (Finsterer 2015). V našem souboru pacientů jsou přítomni také pacienti se vzácnými mutacemi v jaderné DNA (geny *COX10*, *PUS1*), kteří se manifestovali mitochondriální dysfunkcí s život ohrožující anémií vyžadující opakované podání erytrocytárních koncentrátů (Anteneova 2020, Antonicka 2003, Tesarova 2019).

Endokrinní onemocnění – Endokrinní poruchy jsou poměrně častým příznakem mitochondriálních onemocnění a je odrazem snížené hormonální produkce nebo sekrece. Nejčastějším projevem je diabetes mellitus. Může být variabilně přítomen jako jeden z mnoha dalších příznaků, jako je tomu u syndromu MELAS, nebo může patřit do typického klinického obrazu určitého syndromu – např. maternálně dědičný diabetes mellitus a hluchota (MIDD syndrom) nebo diabetes insipidus, atrofie n. opticus a hluchota (Wolframův syndrom). Průměrný věk stanovení diagnózy diabetes mellitus u pacientů s MIDD syndromem byl 38-39 let (Guillausseau 2001, Whittaker 2007), tento údaj tedy nelze použít k diskriminaci od jiných typů diabetu. Patofyziologicky se jedná o kombinaci nedostatečné sekrece inzulinu a inzulinové rezistence. Autoprotilátky proti buňkám ostrůvků nebyly v rozsáhlých kohortových studiích významně zachyceny a předpokládá se tedy non-autoimunitní proces (Guillausseau 2001, Suzuki 2003). V kohortě pacientů s MIDD syndromem bylo v době stanovení diagnózy diabetu mellitu 13 % pacientů inzulin dependentních (Whittaker 2007) a 41 % pacientů zůstalo po celou dobu sledování non-inzulin dependentních.

Další možné klinické projevy zahrnují poruchu funkce štítné žlázy, hypoparatyreózu, hypogonadismus, adrenální dysfunkci, nedostatek růstového hormonu (Chow 2017). Nízký vzrůst je často popisován u Barthova syndromu a pacientů s deficitem proteinu TMEM70. Porucha růstu nemusí být vždy způsobena nízkou hladinou růstového hormonu, ale může být způsobena celkovým metabolickým vyčerpáním organismu (Ng 2022b).

Postižení gastrointestinálního traktu – Postižení gastrointestinálního traktu je v popředí klinického obrazu u pacientů s mitochondriální neurogastrointestinální encefalopatií (MNGIE

syndrom), kdy postižení jedinci trpí na opakované ataky abdominálních bolestí, diskomfortu a průjmy se zvracením, které mohou ústit v malabsorpční syndrom až těžkou dystrofií (Honzik 2006). Obdobné obtíže můžeme zastihnout, i když v menší míře, také např. u pacientů s MELAS syndromem (Finsterer 2017). Pro MELAS syndrom je z gastrointestinálních symptomů typická chronická střevní pseudo-obstrukce, která je popisována až u 40 % pacientů (Sekino 2012). Má tendenci se manifestovat v návaznosti na iktu podobné příhody a mívá rekurentní charakter (Fernandez Forcelledo 2021, Ng 2016). Zevní insuficience pankreatu je typická pro Pearsonův syndrom, který se typicky manifestuje v prvním roce věku selháním kostní dřeně s projevy sideroblastická anémie a často také trombocytopenie a neutropenie. Zevně sekretorická pankreatická insuficience má u pacientů za následek chronické průjmy, malabsorpci a neprospívání. Histopatologicky je popisováno zejména postižení buněk acinů, které bývají nahrazeny pojivem a cévy, duktální a Langerhansovy buňky pankreatu bývají ušetřeny (Pearson 1979). Symptomatická terapie zahrnuje suplementaci pankreatických enzymů a vitaminů rozpustných v tucích (Scheers 2022).

Postižení ledvin – Ledvinné postižení nepatří mezi dominantní projevy mitochondriálních onemocnění a pokud dojde k onemocnění, ve většině případů probíhá subklinicky. Vzhledem k vysoké koncentraci mitochondrií v tubulech ledvin je nejčastějším projevem tubulární porucha ve smyslu Fanconioho syndromu s projevy glykosurie, aminoacidurie, fosfaturie, bikarbonaturie a možným rozvojem proximální tubulární acidózy (Emma 2012). Bývá popisován u MELAS syndromu (Martin-Hernandez 2005), Pearsonova či Kearnsova-Sayreova syndromu (Govers 2021). Pro vysoké energetické nároky ledvinné tkáně je renální manifestace velmi heterogenní, zahrnující i různé typy glomerulonefritid, polycystické onemocnění a poškození intersticia ledvin. Přestože u většiny pacientů s mitochondriálním onemocněním je dominantním projevem postižení ostatních orgánových systémů (kosterní svalstvo, nervový systém, srdce), existují případy, kdy renální manifestace byla primární, jako je tomu například u dvou rodin s mutací v genu *BCS1L* ovlivňující asemblaci komplexu III dýchacího řetězce, u nichž byly hlavní projevy Fanconioho syndromu a opoždění vývoje (Kanakano 2022). U 18 pacientů s prevalentní mutací m.3243A>G způsobující MELAS proteinurie vyústila až v chronické renální selhání s nutností transplantace ledvin. Biopsický nález ledvin u 69 % pacientů prokázal fokálně segmentální glomerulosklerózu (FSGS) (de Laat 2019).

Psychiatrické projevy – Vzhledem k vysoké metabolické aktivitě mozku jsou u pacientů s mitochondriálním onemocněním popisovány četné neurologické symptomy, jak již bylo zmíněno výše. Bohužel, možné neuropsychiatrické projevy zůstaly po dlouhou dobu v pozadí

pozornosti kliniků. V dospělé populaci pacientů s mitochondriálním onemocněním je jejich výskyt udáván v 60-70 % (Fattal 2007, Mancuso 2013). Psychiatrická onemocnění jsou v jinak zdravé populaci zachycena v cca 20-30 % (Inczedy-Farkas 2012, Mancuso 2013), což je značný rozdíl a potvrzuje významný dopad dysfunkce produkce ATP na funkci CNS. Nejčastějšími popisovanými projevy je deprese přítomná u 28 % pacientů v kohortové studii s MELAS syndromem (de Laat 2012) a v 54 % ve skupině pacientů s mitochondriálním onemocněním (Fattal 2007). U pacientů s MELAS syndromem byly popsány také psychotické stavy charakterizované halucinacemi, bludy, stavy zmatenosti, psychomotorickou excitací nebo stuporem (Feddersen 2003, Kaufman 2010) a byly zaznamenány případy vzniku organické poruchy osobnosti u dospělých pacientů, u nichž byl posléze diagnostikován MELAS syndrom (Anglin 2012, Koller 2003). Dosud neexistují rozsáhlé studie na manifestaci psychiatrických poruch v dětské populaci, ve francouzské kohortě 12 dětí a adolescentů s již diagnostikovaným mitochondriálním onemocněním byla jedna třetina dětí diagnostikována s depresivními symptomy. Šest dětí udávalo stavy úzkosti a u poloviny z nich poté byla diagnostikována úzkostná porucha (Riquin 2021). Celkově lze ale předpokládat, že frekvence, se kterou jsou mitochondriální onemocnění asociována s psychiatrickými projevy bude podhodnocena. Velká část pacientů s psychiatrickým onemocněním podle všeho uniká diagnóze mitochondriálního onemocnění pro jejich poddiagnostikovanost.

Poruchy spánku – U pacientů s mutacemi v jaderné i mitochondriální DNA byly v několika studiích popsány poruchy spánku (Ramezani 2014, Sadler 2002, Smits 2012, Vetrugno 2010). Dosud není zcela jasná patofyziologie těchto obtíží, nicméně se předpokládá vliv strukturálních nebo funkčních změn centrálního/periferního nervového systému, spíše než primární důsledek mitochondriální dysfunkce (Prihodova 2021). Největší metaanalýza čítající 54 pacientů publikovaná Ramezani et. al. byla s nálezem, že až 22 % pacientů trpí na centrální spánkovou apnoei či snížené dechové úsilí jakožto odpověď na hypoxii/hyperkapnii (44 %). Pouze 9 % studovaných jedinců trpělo obstrukční spánkovou apnoei (Ramezani 2014). V našem centru pro pacienty s mitochondriálními neuropatiemi optiku ve spolupráci s Neurologickou klinikou VFN proběhla studie zjišťující možné poruchy spánku u 36 pacientů se syndromem LHON a Dominantní atrofií optiku. Tato dvě onemocnění spojuje selektivní degenerace retinálních gangliových buněk, která vede k subakutní nebo chronické ztrátě zraku. Na základě diagnostického rozhovoru bylo zjištěno, že 42 % pacientů trpí nespavostí, 31 % ronchopatií a 11 % nadměrnou denní spavostí. Čtyři pacienti splňovali kritéria pro syndrom neklidných nohou (Prihodova 2021). Téměř tři čtvrtiny pacientů měly abnormální výsledky při použití

dotazníku Pittsburgh Sleep Quality Index, 20 % pacientů při použití Epworth Sleepiness Scale, nicméně nebyla zjištěna korelace mezi abnormálními výsledky dotazníků a nálezy na noční polysomnografii (Prihodova 2021). Oproti metaanalýze Ramezani et. al. byla obstrukční spánková apnoe přítomna u 22 % našich pacientů, což odpovídá průměrnému výskytu v evropské populaci (Heinzer 2015). Centrální spánková apnoe byla zjištěna pouze u jednoho pacienta se LHON syndromem a chronickým srdečním selháním (Prihodova 2021). Vysoká incidence subjektivních stesků týkajících se spánku našich pacientů bez korelace na polysomnografickém záznamu je v souladu se studií týkající se 20 pacientů s CPEO (Smits 2012). Dle dostupných výsledků lze usuzovat, že u pacientů s mitochondriálními optickými neuropatiemi je retinohypotalamický trakt je ušetřen a retinální gangliové buňky jsou schopny detekovat a dále přenášet informaci o světle do vyšších etází CNS a nedochází tak k poruše cirkadiálního rytmu (La Morgia 2010, Prihodova 2021).

1.6. Vybraná mitochondriální onemocnění

1.6.1. MELAS syndrom

MELAS syndrom (Mitochondriální myopatie, Encefalopatie, Laktátová Acidóza a iktu podobné příhody – Stroke-like episodes) patří mezi nejčastější mitochondriální onemocnění s prevalencí 0,18 : 100 000 (Yatsuga 2012) a udávanou frekvencí mutace až 236 : 100 000 (Manwaring 2007). Jedná se o vzácné geneticky velmi heterogenní multisystémové onemocnění s maternální dědičností. Z více než 80 % je zapříčiněno mutací m.3243A>G v genu *MT-TL1* kódující mitochondriální tRNA pro leucin (UUA/UUG). Tato nejznámější mutace byla poprvé objevena Gotem a spolupracovníky v roce 1990 (Goto 1990), ačkoli klinicky bylo onemocnění popsáno již v roce 1984 Pavlakisem na souboru 11 pacientů (Pavlakis 1984). Dosud bylo popsáno celkem 39 mutací způsobujících MELAS nebo jeho překryvné syndromy (Mitomap 2024). Mezi nejčastější mutace kromě již výše zmíněné patří m.3271T>C (Goto 1991) způsobující onemocnění v cca 10 % a dále m.3291T>C a m.3260A>G. Kromě genu kódující tRNA pro leucin mohou být přítomny mutace i v dalších genech – *MT-ND1*, *MT-ND5*, *MT-TH* a dalších. Široká variabilita mutací má za následek variabilní klinický projev, v některých případech může být mutace příčinou specifického orgánového postižení, jako je tomu například u mutace m.13513G>A (p.Asp393Asn) v genu *MT-ND* spojená s častějším postižením srdce (Galera-Monge 2019).

Klinická kritéria pro diagnostiku MELAS syndromu zavedl v roce 1992 (Hirano 1992): (1) iktu podobné příhody před 40. rokem života; (2) encefalopatie charakterizovaná křečemi, demencí, nebo obojím; a (3) laktátová acidóza, ragged red fibres (RRF), nebo obojí. V průběhu následujících let však začaly být popisovány klinické případy, kdy pacienti nesoucí mutace charakteristické pro tento syndrom nevykazovali typický klinický obraz obsažený v akronymu MELAS, ale naopak trpěli na klinické příznaky přítomné u jiných mitochondriálních onemocnění – CPEO, ptózu, nedoslýchavost, kardiomyopatii, postižení trávicího traktu, poruchu funkce štítné žlázy. Byly tak organizovány obsáhlé kohortové studie za účelem lepší charakterizace klinického obrazu onemocnění a tím i optimalizace diagnostiky. Rozdělení klinického obrazu na kompletní a nekompletní formu bylo navrženo ve studii čítající 35 pacientů s mutací m.3243A>G pořádané Chinem a kol. (Chin 2014). V této studii také byli také jedinci rozdělení dle tíže fenotypu – pacienti monosymptomatictí a oligosymptomatictí převládali nad plně vyjádřenými pacienty.

Onemocnění se může projevit v kterémkoliv věku, včetně věku novorozeneckého, avšak z téměř jedné poloviny případů je diagnóza stanovena ve věku pod 16 let (Mancuso 2014). Výjimkou však není ani pozdní nástup onemocnění v páté dekádě života (Vanniarajan 2006). V holandské studii zahrnující 87 jedinců s prevalentní MELAS mutací byl navržen termín „dormant carrier“, jenž měl kliniky upozornit na důležitost pečlivého monitorování jedinců, v jejichž maternální linii již bylo diagnostikováno toto onemocnění, ale dosud byli asymptomatictí a byl u nich očekáván rozvoj onemocnění v nadcházejících letech (de Laat 2012).

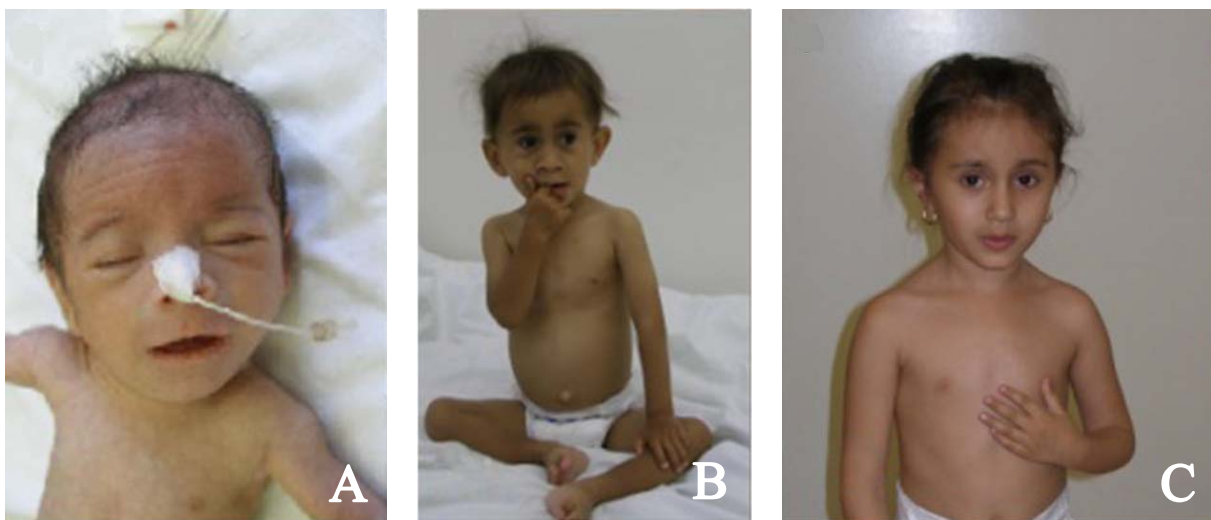
V dětském věku může na onemocnění vzbudit podezření neprospívání, nízký vzrůst a porucha psychomotorického vývoje. K těmto příznakům se může později přidat, ptóza očních víček, zevní oftalmoplegie, epilepsie, svalová slabost a myalgie. Iktu podobné příhody se zpravidla vyvíjejí u pacientů do 40 let věku s již rozvinutým onemocněním a mohou být doprovázeny migrenózními bolestmi hlavy. U pacientů se začátkem onemocnění v dospělém věku bývají symptomy často nespecifické a zahrnují poruchu sluchu, poruchu funkce štítné žlázy, diabetes mellitus.

Ve studiích bylo pozorováno, že například mužské pohlaví by mohlo být rizikovým faktorem pro rozvoj iktu podobných příhod (Mancuso 2014) a plně vyjádřený fenotyp a časný začátek onemocnění (juvenilní forma) souvisel s vyšší mortalitou (Kaufmann 2011, Yatsuga 2012). Tyto a mnohé další údaje vedou lékaře k úvaze, zda existuje určitý predisponující faktor vedoucí k závažnějšímu průběhu onemocnění, nebo zdali je přítomno načasování manifestace určitých klinických příznaků do určitého věkového období pacienta.

1.6.2. Deficit TMEM70

Mutace v nukleárním genu *TMEM70* ústí v deficienci enzymu ATP syntázy, klíčového enzymu v tvorbě energie produkující největší množství ATP v buňce. První onemocnění spojené s deficitem ATP syntázy nukleárního původu bylo poprvé popsáno v roce 1999, ale až v roce 2008 se na našem pracovišti podařilo objasnit přesný genetický defekt – homozygotní mutaci c.317-2A>G s autosomálně recesivní dědičností (Cizkova 2008, Houstek 1999). V následujících letech byli charakterizováni další pacienti nesoucí tuto mutaci, která je typická převážně pro romské etnikum (Honzik 2010), a byly popsány další mutace s korelujícím fenotypem. Onemocnění je charakteristické projevy mitochondriální encefalokardiomyopatie s časným nástupem v novorozeneckém věku a často devastujícím průběhem. Možné fenotypové postižení je v průběhu onemocnění velmi široké: od postižení centrálního

nervového systému, kraniofaciální dysmorfie, opoždění vývoje, svalové hypotonie až po rozvoj kardiomyopatie a metabolické krize s těžkou laktátovou acidózou (**Obr. 16**). U chlapců bývá popisován ve vysoké míře kryptorchismus a hypospadiie. Byla však již popsána i mírná forma onemocnění (Shchelochkov 2010). Pro diagnostiku tohoto onemocnění se zdá být důležitá informace o etnicitě dítěte – častější je u romského etnika. Další důležitou součástí je laboratorní vyšetření – pacienti vykazují 3-methylglutakonovou acidurii (3-MGA) a často těžkou laktátovou acidózu. Hyperamonémie v návaznosti na akutní metabolickou krizi byla popsána již u několika pacientů (Honzik 2010). Vzhledem k široké variabilitě klinických příznaků, ale zároveň poměrně specifickým laboratorním nálezům a prevalentní etnicitě postižených, patří toto onemocnění do základní diferenciální diagnostiky mitochondriálních onemocnění.



Obr. 16: Spektrum fenotypových projevů u pacientů s deficitem TMEM70: A) Novorozenec s deficitem TMEM70 s typickými dysmorfickými rysy v obličeji (prominující čelo, široký kořen nosu, nízko posazené ušní boltce, úzké rty), s hypotonií a neprospíváním pro obtíže s krmením, vyžadujícím enterální výživu nasogastrickou sondou). B) 2,5letý chlapec s deficitem TMEM70 s mírnou faciální dysmorfíí, neprospíváním, dystrofií a umbilikální hernií. C) 5,5letá eutrofická dívka bez dysmorfických rysů v obličeji. (Z archivu prof. MUDr. Tomáš Honzíka, Ph.D. Fotografie byly pořízeny se souhlasem rodičů)

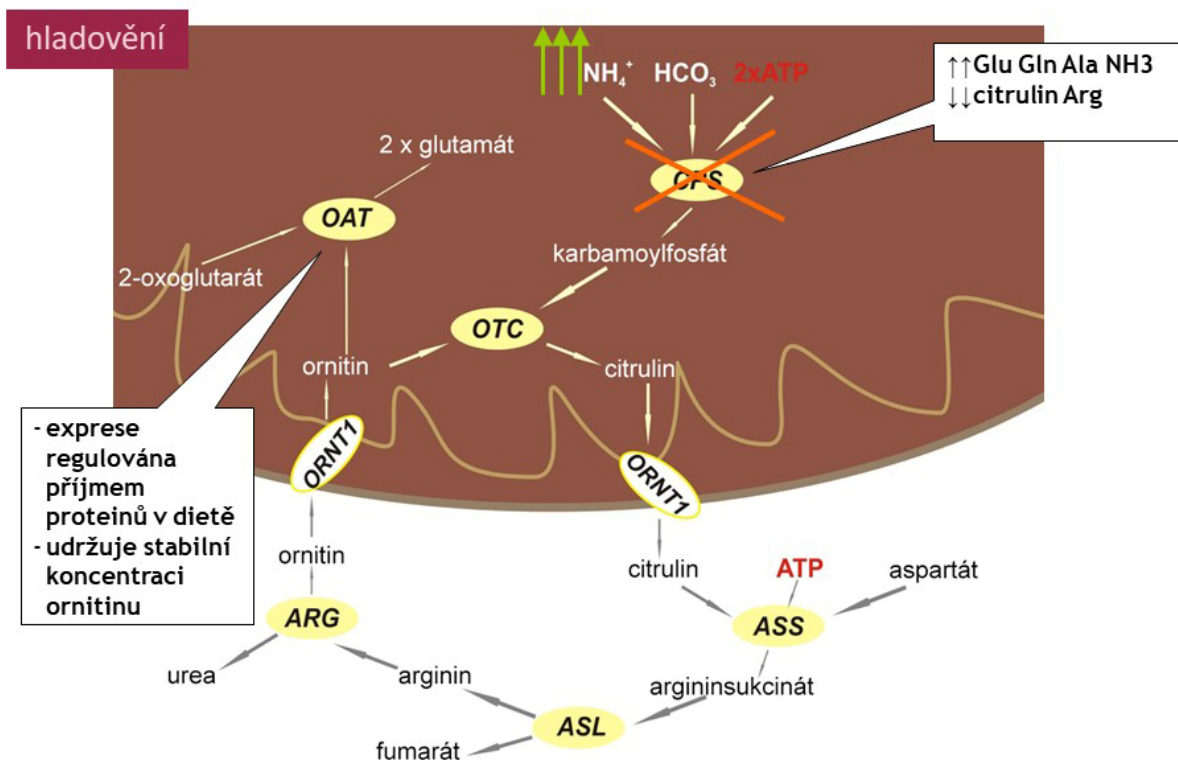
1.6.3. Projevy hyperamonémie u mitochondriálních onemocnění

Nález hyperamonémie je typickým projevem dědičných poruch metabolismus z okruhu poruch cyklu močoviny, organických acidurií a beta oxidace mastných kyselin s dlouhým řetězcem (LCHAD – long chain fatty acid dehydrogenase defect), nicméně je velmi neobvyklý u pacientů s mitochondriálním onemocněním (Ribas 2022). Byl již opakovaně popsán u pacientů

s deficitem TMEM70. Dle našeho názoru je jeho podkladem kritický nedostatek ATP pro enzym karbamoylfosfát syntetázu (CPS) při deficitu ATP syntázy komplexu oxidativní fosforylace v období katabolismu. Bez ATP nemůže CPS detoxifikovat amoniak, dochází k jeho hromadění a projevům jeho neurotoxicity. Patofyziologický mechanismus je zachycen na **Obr. 17**. Terapeuticky lze tento proces částečně ovlivnit infuzní terapií se zvýšeným příjmem glukózy a lipidů a podáním látek snižujících hladinu amonémie, jako je benzoát sodný či fenylbutyrát sodný. Zásadním úkolem je prevence rozvoje katabolismu pomocí frekventní stravy, podávání alkalizačních roztoků a suplementace L-karnitinem, koenzymem Q či riboflavinem,

V literatuře dále již existují pouze ojedinělé kazuistiky pacientů s mitochondriálním onemocněním a projevy hyperamonémie. V našem souboru novorozenců s mitochondriálním onemocněním byla hyperamonémie pozorována u 32 % dětí, které neměly mutaci v proteinu TMEM70 (Honzik 2012). U všech až na jednoho byl zjištěn deficit v systému oxidativní fosforylace, ale nebyla zjištěna genetická příčina obtíží. U pacienta s potvrzeným molekulárně-genetickým nálezem byl diagnostikován syndrom maternálně děděného Leighova syndromu (MILS) při mutaci m. 8993T>G (Honzik 2012),

Dále byl publikován případ chlapce s Barthovým syndromem, který se ve 13 dnech věku manifestoval metabolickou dekompenzací s hladinou amonémie 220,2 $\mu\text{mol/l}$, pH 7,13, laktátovou acidózou a hypoglykemií (Yen 2008). Diagnóza byla stanovena na základě kardiomyopatie ve smyslu tzv. nonkompaktního myokardu levé komory a přítomnosti mutace v *TAZ* genu. Hyperamonémie v rámci mitochondriálních onemocnění byla dokumentována i u deficiencie pyruvát dehydrogenázy (Brown 1987), deficiencie pyruvát karboxylázy (Saudubray 1976), deficiencie UQCRC2 způsobující poruchu komplexu III (Miyake 2013) a deficiencie koenzymu Q (Leshinsky-Silver 2003). Hyperamonémie v rámci DPM stále patří zejména do diferenciální diagnostiky poruch cyklu močoviny, organických acidurií a defektů oxidace mastných kyselin s dlouhým řetězcem, avšak mitochondriální onemocnění by měla být do této diferenciální diagnostiky zejména při přítomnosti kardiomyopatie také začleněna.



Obr. 17: Patofyziologie hyperamonémie u pacientů s deficitem proteinu TMEM70. Ataky hyperamonémie byly pozorovány bezprostředně po narození nebo v období katabolismu (hladovění).

Detoxifikace amoniaku probíhá v játrech v cyklu močoviny, který je částečně lokalizován v mitochondriální matrix. Při katabolismu dochází ke zvýšené expresi enzymů cyklu močoviny, tak také ke zvýšeným požadavkům na dostatečné fungování systému mitochondriální oxidativní fosforylace. Při analýze profilu aminokyselin v séru v době katabolismu byly u našich dětí pozorovány specifické změny vídané u pacientů s poruchou enzymu karbamoylfosfát syntetázy (CPS). Tento enzym vyžaduje pro svou funkci 2 molekuly adenosin trifosfátu (ATP). U pacientů s deficitem proteinu TMEM70 je však kritický nedostatek ATP syntázy a tím i snížená dostupnost ATP pro CPS a dochází tak k rozvoji hyperamonémie.

Zkratky: ornitin aminotransferáza (OAT), ornitintraskarbamyláza (OTC), karbamoylfosfát syntetáza (CPS), ornitin translokáza (ORNT1), argináza 1 (ARG), argininsukcinát lyáza (ASL), argininsukcinát syntetáza (ASS), amonný kation (NH₄⁺), bikarbonát (HCO₃), glutamát (Glu), glutamin (Gln), alanin (Ala), arginin (Arg), amoniak (NH₃), adenosin trifosfát (ATP). Převzato a přeloženo z (Honzik 2010).

1.7. Možnosti prevence mitochondriálních onemocnění

1.7.1. Prenatální a preimplantační genetická diagnostika

V současné době je u pacientů s mitochondriálním onemocněním možnost prevence transmise onemocnění do další generace možná třemi způsoby – prenatální a preimplantační genetickou diagnostikou a dále dárcovstvím oocyty. Prenatální diagnostika se uplatňuje u jedinců s mutacemi v nukleárních genech nebo přítomností heteroplazmické mtDNA mutace s minimální intertkáňovou variabilitou (výhradně m.8993T>G způsobující Leighův syndrom (Dahl 2000)). Spočívá v molekulárně genetickém vyšetření buněk získaných amniocentézou nebo odběrem choriových klků. Těhotenství se pak dá v případě nálezu kauzální mutace či mutace m.8993T>G s vysokou heteroplazmií ukončit. Výhodou preimplantační genetické diagnostiky je genetické vyšetření embrya ještě před implantací do dělohy. Materiálem, který se používá k tomuto genetickému vyšetření, jsou oocyty fertilizované in vitro. V případě genetického poradenství jiných (než m.8993T>G) maternálních onemocnění s mutací v mtDNA je pro nemožnost odhadnout procento heteroplazmie v tkáních plodu na základě vyšetření v chorio či amniocytech doporučována asistovaná reprodukce formou dárcovství oocyty.

Proto se v současné době vyvíjí nová možnost, jak zachovat genetickou výbavu matky (jadernou DNA) a zamezit rozvoj mitochondriálně děděného onemocnění u potomka – tzv. mitochondrial replacement therapy (MRT). V rámci MRT existují v současnosti 3 metody přenosu genetické informace matky obsažené v chromosomech do enukleovaného oocyty dárkyně – přenos prvojádra (pronuclear transfer, PNT), přenos mateřského dělicího vřeténka (maternal spindle transfer, MST) a přenos pólového tělíska (polar body transfer, PBT), **Obr. 18** (Adashi 2021). Technika přenosu mateřského dělicího vřeténka je v současné době jedinou metodou, která byla v některých zemích (Velká Británie, Austrálie) (Allen 2024) legislativně schválena a byla s úspěchem použita k narození dítěte (Zhang 2017). Limitací této techniky (pozorováno i PNT) je však přenos malého množství perinukleární cytoplasmy obsahující mitochondrie do rekonstituovaného oocyty/zygotu (tzv. „carryover“). Takto vzniklé embryo a následně organismus tak obsahují tkáň s rozdílnou hladinou heteroplazmie. U dítěte narozeného za pomoci techniky MST byla zjištěna hladina heteroplazmie 2,36-9,23 % (Adashi 2021), u potomků makaků, jejichž matka podstoupila MST byl zjištěn nárůst hladiny heteroplazmie až na 33 % (Ma 2021). Tento jev nazývaný reverze byl opakovaně popsán a je poměrně významným omezením minimalizace (ideálně až eliminace) onemocnění u potomstva (Wang 2014, Yamada 2020). Velmi nadějnou se zdá technika přenosu pólového tělíska, která je novější a zatím ve fázi výzkumu. Pólová tělíska při přenosu prakticky postrádají cytoplasmu

a jejich použití tak limituje přenos mitochondrií do darovaného oocyty (Wang 2014). Závislost MRT na dárcovství oocyty nebo zygoty stále vzbuzuje etické, legislativní a náboženské otázky.

V posledních letech jsou tak dále vyvíjeny možnosti, jak snížit hladinu heteroplazmie, tedy množství mutované mtDNA v embryu, bez nutnosti použití asistované reprodukce. Tyto „gene editing tools“ zahrnují použití restrikční endonukleázy cílené mitochondriím, Zinc-finger nukleáz a TAL-effector nukleáz (Pereira 2017). Použití zinc-finger nukleáz a TAL-effector nukleáz je efektivní díky absenci RNA, která by bránila průchodu mitochondriální membránou (na rozdíl od CRISPR-Cas) a v in vitro studiích na buňkách s LHON a NARP se ukázaly být úspěšné (Reddy 2015). Nicméně problémem jsou nukleázami indukované zlomy v mtDNA. Mitochondriální DNA neobsahuje mechanismus, který by reparaoval zlom ve dvouvláknové struktuře DNA a při použití těchto nukleáz dochází ke zničení celé molekuly mtDNA.

Prospektivní se jeví úprava mtDNA za použití editoru bází, konkrétně v současné době studovanému editoru cytosinové báze derivovaného z DddA (deaminázy dvouvláknové DNA toxinu A) (Adashi 2021). DddA-derivovaný editor cytosinové báze (DdCBE) specificky katalyzuje výměnu cytosinové báze za thyminovou v místech, kde je cytosin předcházen thyminem. Významnou limitací toho editoru je fakt, že jeho funkce je závislá na fázi replikace mtDNA, kdy je molekula mtDNA jednovláknová a editor se může navázat (cca 5 dní po fertilizaci) (Adashi 2021). Tato skutečnost snižuje efektivitu DdCBE na 50 % (Aushev 2020, Mok 2020) a jeho použití může být efektivní pouze u onemocnění s manifestací při vysoké hladině heteroplazmie. Dalším úskalím je jeho cílové místo působení – cytosin předcházený thyminem. Přibližně pouze 10 % z dosud známých patogenních mutací v mtDNA by bylo možné za použití DdCBE opravit – mutace vzniklé tranzicí T>C (Adashi 2021). Vedlejším projevem aktivity DdCBE je však i editace transverzních mutací A>C a G>C, které jsou pak nesprávně editovány, **Obr. 18** (Adashi 2021).

Přestože se vývoj editorů bází jeví jako velmi slibná metoda obcházející nutnost dárcovství oocyty/zygoty, MRT je v současné době jedinou používanou technikou k dosažení snížení hladin heteroplazmie v tkáních budoucího potomka. Jsou tak hledány nové postupy, které by vedly ke snížení carryoveru mutovaných mitochondrií matky. Jedním z nich je použití cílené mitofagie – procesu, kdy se mitochondrie matky ještě před MRT označí transmembránovým signálním peptidem CISD1 (CDGSH iron sulfur domain 1), obsahujícím ve svém řetězci receptor pro autofagii (Fan 2023). Po MRT dochází k cílené mitofagii carryover mitochondrií a mitochondrie zdravé dárkyně zůstávají nepoškozené. Použití toho procesu v in vitro studii dokázal snížit přenos mitochondrií z průměrných 4 % na 0.09 % (Fan 2023). Dalším způsobem

snížení hladiny heteroplazmie potomstva je kombinace použití MRT techniky s editorem bází (Adashi 2021).

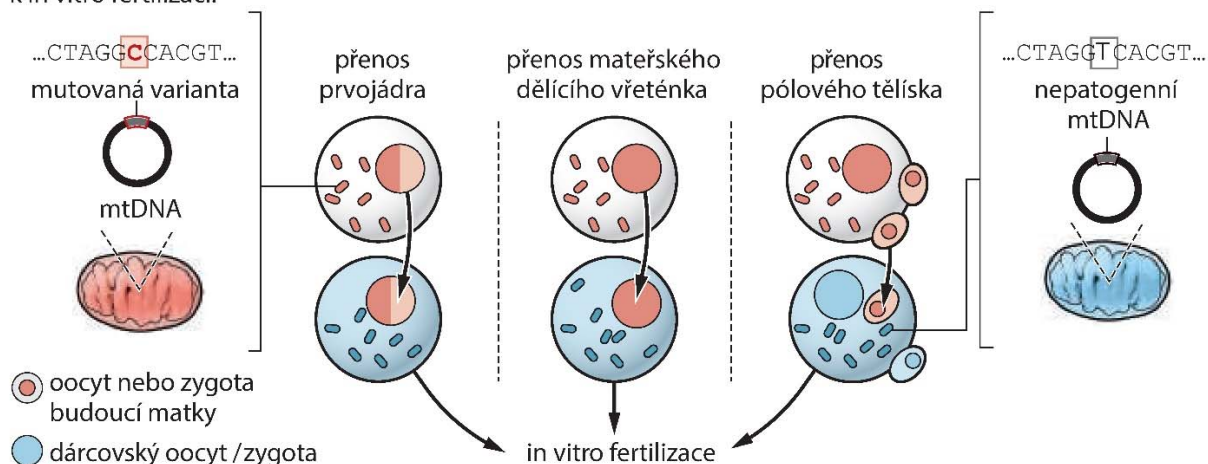
Od schválení MRT ve Velké Británii v roce 2015 (Embryology Authority 2014) a v Austrálii v roce 2022 (The Parliament of the Commonwealth of Australia. House of representatives 2022) za účelem prevence mitochondriálních onemocnění uběhlo poměrně dost času. Od té doby bylo vyvinuto poměrně mnoho způsobů manipulace s mtDNA zárodečné linie buněk, prakticky všechny jsou však stále ve fázi výzkumu. Cílem snažení je ideálně nulový carryover mitochondrií a výhledově na dárcovství nezávislá cílená a bezpečná editace mitochondriální mtDNA.

Úpravy mitochondriální DNA

K prevenci mitochondriálního onemocnění u potomka existují dvě rozdílné cesty s cílem opravy zárodečné linie buněk.

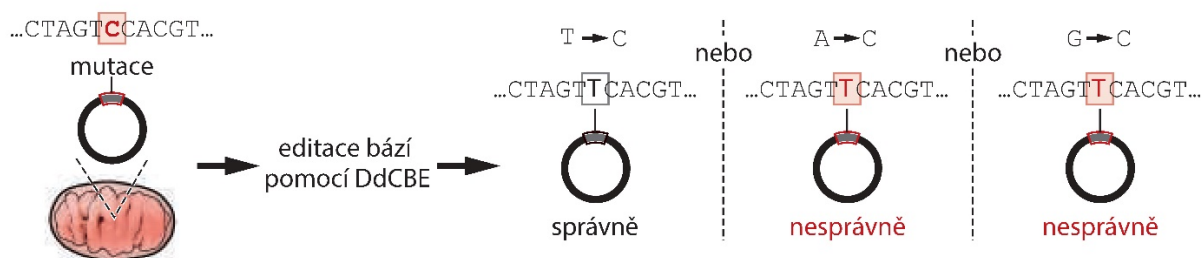
Mitochondrial replacement therapy

Terapie náhradou mitochondrií lze uskutečnit třemi metodami: přenosem prvojádra, přenosem mateřského dělicího vřeténka a přenosem pólového tělíska do enukleovaného dárcovského oocytu nebo zygoty. Rekonstituované buňky obsahují nepatogenní mitochondriální DNA (mtDNA) a mohou být využity k in vitro fertilizaci.



Editace mitochondriálního genomu

Editování mitochondriálního genomu má za cíl využít editory bází k přeměně celého spektra substitučních mutací v mtDNA. Používaný DdCBE editor konvertuje C na T, když C je předcházeno T, a tak opravuje tranziční mutaci (T→C), ale transverzní mutace (A→C nebo G→C) budou nesprávně editovány zpět na T.



Obr. 18: Možnosti úprav mitochondriální DNA. Obrázek a text převzaty a přeloženy z (Adashi 2021).

Zkratky: A adenin; C cytosin; G guanin; T thymin; DddA double-stranded DNA deaminase toxin A (deamináza dvouvláknové DNA toxinu A); dCBE DddA-derived cytosine base editor (DddA-derivovaný editor cytosinové báze)

2. Cíle studie

Široká škála klinických projevů, nekonstantní čas nástupu onemocnění a často nespecifické laboratorní nálezy činí z dědičných poruch metabolismu (a zejména mitochondriálních onemocnění) obtížně diagnostikovatelnou skupinu onemocnění. Variabilita fenotypu až oligosymptomatické vyjádření onemocnění může znesnadnit diagnostiku, která spočívá ve speciálních biochemických a genetických vyšetřeních. Jejich využití by mělo být z důvodu finanční náročnosti a zejména možného zatížení pacienta invazivními postupy uváženo a založeno na diagnostických algoritmech. Stanovení diagnostických algoritmů je ovšem z důvodu výše uvedené charakteristiky onemocnění mnohdy obtížné a vyžaduje podrobné studium problematiky. V rámci preventivní medicíny je pak důležité stanovení přesné genetické podstaty onemocnění, která určí možnosti prenatálního poradenství v rodině.

V Laboratoři pro studium mitochondriálních onemocnění Kliniky pediatrie a dědičných poruch metabolismu (KPDPM) I.LF UK a VFN v Praze bylo od jejího založení v roce 1992 diagnostikováno přes 600 dětských a dospělých pacientů s mitochondriálním onemocněním. Dispenzarizace a léčba těchto pacientů spadá do péče týmu lékařů a zdravotnických pracovníků metabolického centra KPDPM. Vzhledem ke komplexitě klinického postižení a snaze o lepší pochopení patogeneze onemocnění byly již v dřívějších letech provedeny studie se zaměřením na onset, orgánové postižení a průběh onemocnění pacientů s mutacemi v mtDNA. Na sestavě 129 kojenců se začátkem onemocnění v novorozeneckém věku byla demonstrována zejména vysoká incidence hyperamonémie a kardiomyopatie (Honzik 2012). Kardiomyopatie a její další průběh byly dále specificky studovány u českých pacientů s Barthovým syndromem (Mazurova 2013). Na základě těchto studií a stanovených diagnostických algoritmů byla snížena frekvence indikace svalových biopsií a zlepšeno cílení molekulárně genetických vyšetření.

Molekulárně genetická vyšetření umožnila uskutečnění i několika objevů nových klinických jednotek. Jedním z velkých úspěchů byla identifikace deficitu proteinu TMEM70, který se fyziologicky uplatňuje v assemblaci ATPázy, avšak jeho deficit ústí v multiorgánové postižení a poměrně často se vyskytující hyperamonemické krize (Honzik 2010, Houstek 1999). Hyperamonémie jako laboratorní, ale také klinický symptom v rámci encefalopatie se však u pacientů s mitochondriálním onemocněním vyskytují poměrně vzácně (dokumentovány nejčastěji u Barthova syndromu a maternálně děděného Leighova syndromu). Proto bylo zajímavé dokumentovat průběh onemocnění u dívky s již dříve popsanou novou mutací v m.8851T>C (Honzik 2013), kde se tento nálezy vyskytl.

Nezastupitelnou úlohu ve studiu dědičných poruch metabolismu hrají mezinárodní kohortové studie soustřeďující klinická a laboratorní data. Tak tomu bylo například u 44 pacientů s mukopolysacharidózou II typu z České republiky, Slovenska, Chorvatska a Srbska (Dvorakova 2017), nebo u pacientů s Niemann-Pickovou nemocí typu C z 9 center zahrnující i naše pracoviště (Pineda 2016). Dalším způsobem kolekce rozsáhlých dat je organizace patientských registrů s možností zadávání nových informací v čase a prospektivního sledování vývoje onemocnění. Naše metabolické centrum je členem mezinárodního registru neurotransmitterových poruch (Opladen 2016) obsahující data 492 pacientů ze 41 center Evropy, severní Ameriky a Asie (<https://intd-registry.org/>). Tento registr začleňuje pacienty trpící 6 neurotransmitterovými chorobami, 5 typy deficitu BH4 (tetrahydrobiopterinu) a dalšími 9 onemocněními zahrnujícími poruchu metabolismu resultující v těžké postižení CNS. Jeho úkolem je zejména studium přirozeného průběhu onemocnění, ale vzhledem k široké mezinárodní spolupráci také možnost porovnání diagnostických, dispenzárních a terapeutických strategií a dále posouzení efektivity a bezpečnosti nabízené terapie jednotlivými centry. Podobné cíle, avšak v pan-metabolické úrovni (> 800 klinických jednotek) si klade Evropská referenční síť pro vzácné dědičné metabolické poruchy MetabERN (the European Reference Network for Rare Hereditary Metabolic Disorders, (<https://www.ssiem.org/index.php>), která byla zřízena v prosinci 2016 a jejíž součástí je také naše centrum. Jejím cílem je nejen optimalizace a stanovení evropských diagnostických a léčebných postupů, ale dále také poskytnutí široké sítě služeb od možných preventivních postupů, po diagnostické, terapeutické a rehabilitační či paliativní možnosti. Další snahou je nabídnutí sítě podpůrných skupin a organizací pro pacienty. Díky této aktivitě a zařazení našeho centra do MetabERN vzniklo několik významných doporučení pro klinickou praxi se zásadním dopadem na diagnostiko-terapeutickou péči o pacienty se vzácnými DPM. Cílem práce (Cechova 2020) bylo vytvoření doporučení pro diagnostiku a management pacientů s poruchou glykosylace, konkrétně deficitem manóza-fosfát izomerázy (MPI-CDG). Ze stejné skupiny onemocnění byla na podkladě mezinárodní studie zahrnující 31 a 54 center respektive vytvořena doporučení pro pacienty s dalšími formami poruch glykosylace proteinů - PGM1-CDG (deficit fosfoglukomutázy 1) a PMM2-CDG (deficit fosfomanomutázy 2) (Altassan 2019, Altassan 2021). Z okruhu onemocnění malých molekul byla zformována doporučení pro diagnostiku a management metylmalonové a propionové acidurie. Díky kolekci klinických a biochemických dat pacientů s neketotickou hyperglycemií bylo klinické spektrum rozšířeno o mírnější fenotypy s vazbou na určité patogenní varianty umožňující lépe předvídat závažnost onemocnění a upravit management péče o tyto pacienty (Kuseyri

Hubschmann 2022). Podobně byla na základě studie pracovní skupiny studující neurotransmitterová onemocnění detailně popsána fenotypová variabilita onemocnění z okruhu dědičných poruch biogenních aminů (Kuseyri Hubschmann 2021) a vytvořena doporučení pro diagnostiku a léčbu pacientů s deficitem tetrahydrobiopterinu (Opladen 2020).

V roce 2015 bylo na našem pracovišti zřízeno Centrum pro pacienty s mitochondriálními neuropatiemi optiku za účelem optimalizace diagnostických a terapeutických algoritmů a studia rizikových faktorů rozvoje mitochondriálních onemocnění postihujících zrakový nerv. V našem centru při VFN je pravidelně sledováno > 120 pacientů s LHON (75 symptomatických), > 40 pacientů s Dominantní atrofií optiku na podkladě variant v *OPA1*, > 20 pacientů s variantami v *DNAJC30*, 5 pacientů s variantami v *OPA3*, 2 pacienti s Wolframovým syndromem a celá řada dalších pacientů, kteří mají neuropatii optiku jakožto součást multisystémového mitochondriálního onemocnění (MELAS, MERRF, mitochondriální deleční syndromy a jiné). Vzhledem k výborné spolupráci s Oční klinikou VFN jsme působení našeho centra rozšířili i na geneticky podmíněná onemocnění sítnice, rohovky a dalších struktur oka. Detailní studium peripapilární mikrocirkulace u 6 pacientů s LHON syndromem bylo popsáno v (Kousal 2019b). Publikace Kolarova et al. upozorňuje na problematiku překryvných syndromů – konkrétně unikátní symptomatologii u 12leté dívky s náhlou ztrátou zraku, u níž byl diagnostikován překryvný syndrom LHON/MELAS na podkladě mutace m.13046T>C v genu *MTND5*. Cílem studie Liskova et al. byl screening mutace v genu *OPA1* u 82 pacientů s oboustrannou atrofií optiku z center v České republice, Velké Británii a Kanadě. Patogenní mutace byla nalezena u poloviny pacientů, 7 mutací bylo zcela nově popsanych (Liskova 2017). Z mitochondriálních onemocnění bylo postižení struktur oka dále detailně popsáno u Kearnsova-Sayreova syndromu (Dudakova 2021). Úzká spolupráce s Oční klinikou VFN však nezahrnuje pouze pacienty s mitochondriálním onemocněním. Onemocnění oka u dědičných poruch metabolismu na podkladě abnormální glykosylace proteinů se věnují publikace studující pacienty s deficitem alfa-1,3-manosyltransferázy (Farolfi 2021) a steroidní 5 α -reduktázy typu 3 (Kousal 2019a).

Cílem této práce je studium přirozeného průběhu vybraných mitochondriálních onemocnění s ohledem na různé klinické projevy a věk manifestace. Zaměření je i na méně časté symptomy, které pomáhají rozšířit diferenciální diagnostiku a lépe cílit na nyní již velmi pokročilou molekulárně genetickou diagnostiku. Časně stanovení správné diagnózy umožňuje včasné zahájení sledování, terapie a poskytuje možnost preventivního opatření v postižených rodinách ve smyslu prenatálního genetického poradenství.

Zároveň bylo cílem této práce poukázat na význam mezinárodních registrů ve studiu dědičných metabolických onemocnění, konkrétně organických acidurií a poruch cyklu močovin. Záměrem registru je využití dat ke studiu přirozeného vývoje onemocnění, porovnání výsledků různých terapeutických postupů s následnou tvorbou nadnárodních doporučení pro včasnou diagnostiku a léčbu pacientů s daným onemocněním.

Na základě těchto skutečností jsme si stanovili následující cíle práce:

2.1. A) Studovat přirozený průběh a preventivní aspekty MELAS syndromu (Mitochondriální myopatie, Encefalopatie, Laktátová acidóza a iktu podobné příhody – Stroke-like episodes).

A1) Popsat fenotypové spektrum nositelů prevalentní mutace m.3243A>G v *MT-TL1* se zaměřením na charakterizaci časové posloupnosti klinických příznaků.

Studium přirozeného průběhu onemocnění velké kohorty našich pacientů má za úkol zjistit jaká je variabilita fenotypu a zdali by pohlaví, věk manifestace či tíže onemocnění mohly mít vliv na průběh onemocnění, respektive délku přežití. S ohledem na často devastující účinek stroke-like epizod popsat možné predisponující faktory, jejichž ovlivnění by mohlo preventovat jejich vznik. Pozornost bude věnována i vyšetřovacím metodám s cílem zjistit, které tkáně jsou vhodným prostředkem k diagnostice onemocnění při ohledu na zátěž pacienta/specifitu vyšetření.

A2) Charakterizovat psychiatrickou manifestaci pacientů s MELAS syndromem.

Přestože pacienti s MELAS syndromem vykazují širokou škálu symptomů, některé stojí v pozadí zájmu a jejich opomíjení může oddálit správnou diagnostiku a tím i terapii. Jedním z cílů této práce je upozornit i na méně časté manifestace vzácných onemocnění.

2.2. B) Zhodnotit klinický průběh dalších mitochondriálních onemocnění s rizikem rozvoje hyperamonémie vyžadující včasnou terapii.

B1) Detailně analyzovat variabilitu klinických projevů a riziko hyperamonémie u 48 pacientů s deficitem TMEM70 v rámci multicentrické mezinárodní spolupráce.

Po 4 letech od publikování naší první kohortové studie pacientů s deficitem proteinu TMEM70 je cílem rozšířit kohortu o další diagnostikované pacienty nejen v České republice, ale sledovat

i variabilitu symptomů a další vývoj onemocnění. Specifická pozornost bude věnována riziku vzniku hyperamonémie a možnostem jejího ovlivnění.

B2) Zdůraznit význam hyperamonémie u pacientky se vzácnou poruchou funkce ATP syntázy způsobenou mutací m.8851T>C v mitochondriální DNA.

V návaznosti na již publikovaný případ rodiny s vzácnou mutací v genu *MTATP6* je snahou poukázat na neobvyklý projev hyperamonémie u dívky s infaustním průběhem formou kazuistiky a rozšířit tak diferenciální diagnostiku hyperamonémie o další mitochondriální onemocnění.

2.3. C) Demonstrovat význam mezinárodních registrů při posuzování přirozeného průběhu onemocnění u pacientů trpících vybranými vzácnými dědičnými poruchami metabolismu.

Naše pracoviště je díky koncentraci pacientů se vzácnými onemocněními součástí několika nadnárodních patientských registrů. Díky této spolupráci je možné shromažďovat klinická, laboratorní a terapeutická data u celkem 452 pacientů s organickými aciduriemi a 343 pacientů s poruchou cyklu močoviny. Jejich analýzou je možné stanovit fenotyp, průběh a prognózu onemocnění. Optimalizace diagnosticko-terapeutického postupu může pomoci předejít rozvoji některých komplikací a zlepšit prognózu onemocnění.

3. Materiál a metodika

Na našem pracovišti je v současné době sledováno více než 600 pacientů s molekulárně geneticky potvrzeným mitochondriálním onemocněním. Pro možnosti analýzy dat a statistické zpracování byli z tohoto souboru vybráni pacienti s prevalentními mutacemi a diagnózami a dále několik pacientů zajímavých ke kazuistickému zpracování.

Detailní popis použitých materiálů a metod je uveden v jednotlivých originálních článcích v sekci *Přílohy*, zde jsou uvedeny pouze jejich základní principy.

3.1. Materiál

3.1.1. Vázáno na cíl A1) Přírozený průběh a preventivní aspekty MELAS syndromu

3.1.1.1. Soubor pacientů

Do největší retrospektivní studie týkající se klinického průběhu a sekvence následně se vyskytujících příznaků bylo zahrnuto 50 českých pacientů, u nichž byla na našem pracovišti v letech 1996 až 2015 diagnostikována prevalentní mutace m.3243A>G v genu *MT-TL1* (3 měsíce až 62 let v době diagnózy). Tato kohorta zahrnovala 17 jedinců mužského pohlaví a 33 jedinců ženského pohlaví z 22 vzájemně nepříbuzných rodin. Celkem 33 (66 %) pacientů mělo alespoň 1 klinicky vyjádřený příznak typický pro MELAS syndrom, ostatní jedinci zůstali asymptomatictí po celou dobu jejich retrospektivního sledování (průměr 11,4 let). V symptomatické skupině byla zaznamenána převaha žen s poměrem 3,7 : 1 k mužům.

3.1.1.2. Charakterizace pacientů

Celkem 33 jedinců vykazovalo alespoň 1 znak asociovaný s MELAS syndromem, ostatní jedinci byli asymptomatictí. Na základě přítomnosti či nepřítomnosti iktu podobné příhody byli pacienti rozděleni na skupinu plně vyjádřených (FEP = fully expressed phenotype, n = 14, 42 %) a oligosymptomatických pacientů (OP = oligosymptomatic phenotype, n = 19, 58 %). Dle věku nástupu onemocnění (< 16 let vs. ≥ 16 let) pak na juvenilní (53 %) a adultní formu (47 %). Počty pacientů v jednotlivých skupinách jsou vyjádřeny v **Tab. 2**.

3.1.1.3. Sestavení databáze

Za účelem zpracování dat byla sestavena databáze pacientů s MELAS syndromem zahrnující klinická a laboratorní data včetně výsledků molekulárně genetických vyšetření. Klinická data obsahují údaje z výsledků fyzikálního vyšetření a dále výsledky specializovaných vyšetření (kardiologie, neurologie, endokrinologie, oftalmologie, otorinolaryngologie, hematologie) včetně případných zobrazení (sono/magnetická rezonance (MRI) CNS). U prvních vyskytujících se symptomů byl zaznamenán věk jejich nástupu. Při zadávání laboratorních dat bylo rozlišováno, zda odběr proběhl při pravidelné kontrole pacienta, nebo v období metabolické krize.

3.1.1.4. Vzorky tkání

Vzorky krve, moči a likvoru byly využity k základnímu biochemickému i metabolickému vyšetření. Hladina heteroplazmie byla stanovována v krvi (45 pacientů), buňkách vlasových folikulů (40 pacientů), buňkách kosterního svalu (14 pacientů) a uroteliálních buňkách (9 pacientů).

Tab. 2: Demografická data MELAS pacientů s prevalentní mutací m.3243A>G vykazující alespoň 1 klinický symptom asociovaný s MELAS. Jsou uvedena průměrná čísla (mean) v letech + směrodatná odchylka (SD). U jedné pacientky nebylo možné retrospektivně stanovit onset onemocnění, a tak není začleněna do skupiny s juvenilní/adultní formou.

Demografická data symptomatických MELAS pacientů			
	Všechny formy	Juvenilní forma	Adultní forma
Pacienti [muži/ženy] (#)	33 [7/26]	17 [6/11]	15 [1/14]
Věk v době studie (roky)	34 ± 22	24 ± 8	42 ± 13
Věk nástupu onemocnění (roky)	17,4 ± 12,7	7,4 ± 4,2	28,7 ± 9,3
Věk při diagnóze (roky)	28,2 ± 15,7	22,2 ± 14,7	34,1 ± 14,4
Čas od nástupu onemocnění k diagnóze (roky)	12,7 ± 1	13,6 ± 0	9,6 ± 0
Úmrtí (#, %)	11 (33,3 %)	9 (52,9 %)	2 (13,3 %)
Věk při úmrtí (roky)	34,5 ± 16,2	32,4 ± 16,7	44 ± 9
Čas od diagnózy k úmrtí (roky)	4,1 ± 22	4,3 ± 8	3 ± 13

3.1.2. Vázáno na cíl A2) Psychiatrická manifestace pacientů s MELAS syndromem

3.1.2.1. Soubor pacientů

Pět pacientů ze čtyř rodin ve věku 17 až 53 let (3 ženy a 2 muži) bylo zahrnuto do této retrospektivní studie. U 4 pacientů byla potvrzena prevalentní mutace m.3243A>G v *MT-TL1*, u jednoho pacienta m.12706T>C v *MT-ND5*.

Výsledky psychiatrických, metabolických a ostatních klinických a laboratorních dat byly použity k analýze a vyhodnocení. Výsledky byly prezentovány formou krátkých kazuistik.

3.1.3. Vázáno na cíl B1) Klinické projevy 48 pacientů s deficitem TMEM70

3.1.3.1. Soubor pacientů

Devět metabolických center z osmi evropských zemí a jedno centrum z Turecka a Izraele se rozhodlo participovat na této multicentrické retrospektivní studii. Byla shromážděna data od 48 pacientů s potvrzeným deficitem proteinu TMEM70. Třicet osm pacientů, jejichž data byla nyní aktualizována, bylo již dříve publikovaných, deset pacientů bylo zcela nových. V souboru pacientů bylo 26 jedinců mužského a 22 jedinců ženského pohlaví z celkem 38 rodin. Věk pacientů v době poslední klinické kontroly byl 1 měsíc až 26,5 let (průměr 5,7 let). Prevalentní mutace c.317-2A>G v homozygotním stavu v *TMEM70* byla potvrzena u 27 romských dětí a 8 dětí jiného etnika. Pět dětí bylo složenými heterozygoty pro prevalentní mutaci a privátní mutaci c.470T>A, c.628A>C, c.118_119insGT nebo c.251delC. Šest arabských muslimů a dvě turecké děti byly homozygoty pro mutace c.238C>T, c.316+1G>T, c.336T>A, c.578_579delCA, c.535C>T, c.359delC.

3.1.3.2. Sběr dat

Ke shromáždění dat byl použit obsáhlý dotazník čítající 95 položek zaměřující se na klinická a laboratorní data pacientů s deficitem proteinu TMEM70. Byly dotazovány informace týkající se nástupu onemocnění, kongenitálních malformací, postnatálního průběhu, růstu a vývoje, výsledků neurologického a kardiologického vyšetření, zobrazení CNS, postiženích dalších orgánových systémů a počtu metabolických krizí. Z laboratorních výsledků byla evaluována data z biochemického vyšetření krve a moči, dále vyšetření svalové biopsie a mutační analýzy genu *TMEM70*. Samostatnými položkami byly dotazy na chronickou medikaci a léčbu metabolických krizí a dále celková prognóza pacientů. Vyplněné dotazníky z jednotlivých

center byly shromážděny v našem centru, kde byla data dále v programu Microsoft Office analyzována.

3.1.4. Vázáno na cíl B2) Hyperamonémie u pacientky s deficitem ATP syntázy

3.1.4.1. Pacient

Jedná se o ojedinělou kazuistiku dívky s neobvyklým projevem hyperamonémie v rámci mitochondriálního onemocnění (podobně jako u pacientů s deficitem *TMEM70*). Retrospektivně byla analyzována klinická a laboratorní data v průběhu febrilního virového infektu s letálním průběhem. Autoptické nálezy byly konzistentní s diagnózou Leighova syndromu.

3.1.5. Vázáno na cíl C) Význam mezinárodních registrů – E-IMD registr

3.1.5.1. Soubor pacientů

Celkem 795 pacientů z 48 metabolických center zemí Evropské unie, Švýcarska, Srbska, Tchajwanu, Japonska, Indie a USA bylo zařazeno do webového registru E-IMD (European registry and network for Intoxication type Metabolic Diseases). Registrováni byli pacienti s potvrzenou diagnózou některé z organických acidurií, tzn. glutarová acidurie typ 1 (GA1; n = 150), metylmalonová acidurie (MMA; n = 149), propionová acidurie (PA; n = 101), isovalerová acidurie (IVA; n = 52), nebo některé ze skupiny poruch cyklů močoviny, tzn. deficit N-acetylglutamát syntázy (NAGS; n = 5), karbamoylfosfát syntetázy 1 (CPS1; n = 18), ornitintraskarbamylázy (OTC, spolu s nositelkami OTC; n = 196), argininsukcinát syntetázy (ASS; n = 61), argininsukcinát lyázy (ASL; n = 44) nebo arginázy 1 (ARG1; n = 10) a syndromu hyperornitinémie–hyperamonémie–homocitrulinurie (HHH; n = 9).

3.1.5.2. Sběr dat

Mezinárodní heslem zabezpečený registr na webovém rozhraní byl použit ke shromáždění údajů týkajících se klinických a biochemických dat zařazených pacientů (<https://www.eimd-registry.org/>). Registr byl konstruován modulárním způsobem a obsahuje prvky společné pro všechny organické acidurie a poruchy cyklu močoviny, tak také charakteristiky specifické pro určitá onemocnění. Modulární způsob umožňuje jak porovnání prvků jednotlivých onemocnění, tak také detailní fenotypizaci.

3.2. Metodika

3.2.1. Izolace mitochondrií ze svalové biopsie

Mitochondrie z biopsických vzorků příčně pruhovaného svalu byly izolovány z homogenátu dle standardního procesu diferenční centrifugace, který je v detailu popsán v (Max 1972). Čerstvě izolované mitochondrie byly použity k ověření enzymatických aktivit, jinak byl vzorek dále zamražen při $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ pro další analýzy. (Cíl A1).

3.2.2. Molekulárně genetické vyšetření

U pacientů s MELAS syndromem byla DNA izolována z dostupných vzorků metodou fenolové extrakce a přítomnost mutace byla následně stanovena technologií PCR–RFLP (polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism – polymerázová řetězová reakce s použitím polymorfismu délky restrikčních fragmentů) ve všech dostupných vzorcích, tj. v krvi, buňkách vlasových folikulů, uroepiteliálních buňkách a kosterním svalu. Oblast mtDNA mezi nukleotidy m.3130 a m.3558 byla amplifikována pomocí PCR (Plain PP Master Mix, Top Bio, Czech Republic). Po restrikčním štěpení PCR produktů *ApaI* endonukleázou (Thermo Scientific, USA), byly výsledné DNA fragmenty separovány na Agilent High Sensitivity DNA Chipu za použití Agilent 2100 Bioanalyzeru. Intenzity jednotlivých restrikčních fragmentů byly stanoveny za použití Agilent 2100 Expert Software pro každý vzorek. Hladina heteroplazmie byla spočítána jako procento intenzity fragmentu korespondující k mutované mtDNA molekule. (Cíl A1)

3.3. Statistické zpracování

K vyjádření míry přežití u pacientů s MELAS syndromem a deficitem proteinu TMEM70 byla použita Kaplan-Meierova křivka. K porovnání míry přežití mezi skupinou s juvenilní a adultní formou MELAS syndromu pak byla tato křivka doplněna o log-rankový test.

Rozdíly v hladině heteroplazmie mezi asymptomatickou, oligosymptomatickou a plně vyjádřenou skupinou pacientů byly testovány mnohonásobnou lineární regresí, rozdíly mezi dvěma skupinami pacientů pak Wilcoxonovým párovým testem. Hodnoty p méně než 0,05 byly považovány za statisticky významné.

3.4. Etika

Práce zde obsažená proběhla v souladu s Etickými zásadami pro lékařský výzkum s účastí lidských bytostí (Declaration of Helsinki, World Medical Association) a dále byla schválena Etickou komisí VFN a 1. LF UK. Od pacientů byl obdržen informovaný souhlas s účastí ve studii i k nakládání s jejich vzorky.

4. Výsledky a diskuze

4.1. Cíl A) Studovat přirozený průběh MELAS syndromu (Mitochondriální myopatie, Encefalopatie, Laktátová acidóza a iktu podobné příhody – Stroke-like episodes)

Související publikace:

Příloha 1: Dvorakova V., Kolarova H., Magner M., Tesarova M., Hansikova H., Zeman J, Honzik T. The phenotypic spectrum of fifty Czech m.3243A>G carriers. Mol Genet Metab, 2016 Aug;118(4):288–95. IF 3,769; Q2, citováno 27x (k 20. 08. 2024)

Příloha 2: Magner M., Honzik T., Tesarova M., Dvorakova V., Hansikova H., Raboch J., Zeman J. Psychiatric disturbances in five patients with MELAS syndrome. Psychiatr Pol, 2014 Sep–Oct;48(5):1035–45. IF 0,733; Q4, citováno 7x (k 20.08. 2024)

Příloha 3: Dvořáková V., Tesařová M., Honzík T. MELAS syndrom. In Ehler E a kol. Vzácná onemocnění 2. Solen, 2015: 44–56, ISBN:978–80–7471–089–6

Podíl autora na práci: klinické vyšetření pacientů (1, 2, 3), příprava databáze pacientů s MELAS syndromem a zadávání dat do databáze (2), komplementace a analýza dat (1, 2, 3), příprava manuskriptu (1, 2, 3)

4.1.1. Cíl A1) Popsat fenotypové spektrum 50 nositelů mutace m.3243A>G pomocí vytvořené databáze MELAS pacientů. Zvláštní pozornost byla věnována sekvenci rozvoje klinických příznaků.

Ačkoli je syndrom MELAS popisován jako multiorgánové onemocnění s přítomností iktu podobných příhod (SLE), v naší retrospektivní studii pouze 66 % jedinců zařazených do studie mělo přítomno symptomy asociované s tímto syndromem a SLE se manifestovaly jen u méně než poloviny (42 %) z nich. Věk nástupu prvního symptomu byl od 1 měsíce po 47 let věku a u 52 % pacientů se první symptom objevil do věku 16 let (juvenilní forma). Nástup onemocnění v dětském a dorostovém období ve více než 50 % odpovídá již publikovaným kohortovým studiím (Chae 2004, Ma 2010, Mancuso 2014). Zajímavostí je velmi brzký nástup onemocnění u 3 dětí (1 měsíc, 6 měsíců a 2 roky). Všechny tři děti měly opožděný časný psychomotorický vývoj, což může predisponovat k časnějšímu nástupu dalších příznaků a závažnějšímu průběhu MELAS syndromu (Kaufmann 2011).

Nejčastějším prvním prezentujícím symptomem byla myopatie (18 %) následovaná CPEO/ptózou a poruchou sluchu, jako druhý příznak se nejčastěji vyskytovala porucha sluchu následovaná SLE. Interval mezi prvním a druhým symptomem byl $5,0 \pm 8,3$ let (rozmezí 0–28 let), mezi druhým a třetím symptomem $2 \pm 6,0$ let (rozmezí 0–21 let).

Čtyři pacienti zůstali po dobu retrospektivní studie (4–12 let) monosymptomatictí. Nejčastějšími symptomy ve skupině našich pacientů po celou dobu sledování byla porucha sluchu (76 %), myopatie, (56 %) a CPEO (45 %), jejich výskyt spolu s dalšími symptomy a relativním zastoupením oligosymptomatického a plně vyjádřeného fenotypu zobrazuje **Graf 1**. Výskyt jednotlivých příznaků s věkem jejich manifestace zobrazuje **Graf 2**. Přestože se SLE nikdy nevyskytla jako první symptom, poměrně často byla předcházena migrénami. U 70 % pacientů s migrénami později proběhla SLE. Sekvence rozvoje jednotlivých příznaků spolu se SLE u jednoho našeho pacienta je znázorněna na **Obr. 19**. Ačkoli je základní onemocnění nevléčitelné, existují možnosti terapeutické intervence v rámci probíhajících migrén a SLE. Tato informace je velmi důležitá pro možnost změny průběhu onemocnění, protože právě následky po proběhlé SLE se podílí na klinické deterioraci stavu pacienta.

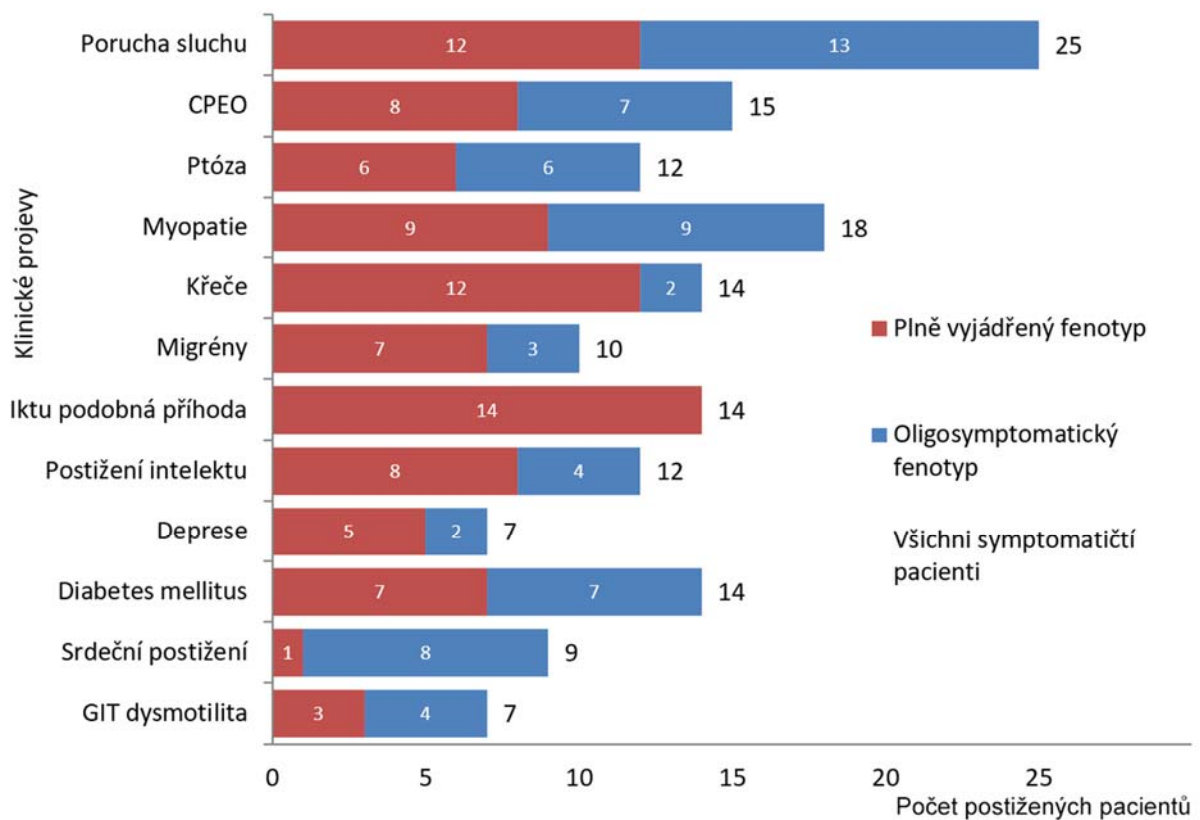
Za dobu trvání retrospektivní studie byla zaznamenána úmrtí 11 pacientů ve věku $32,4 \pm 17,7$ let (rozmezí 9–60) z MELAS asociovaných příčin. Byl pozorován rozdíl v míře přežití mezi juvenilní a adultní formou ($p = 0,005$; Kaplan Meier **Graf 3**).

Laboratorně byla v období klidu častěji přítomna zvýšená hladina laktátu v moči (71 %) než v krvi (62 %). Tímto se nabízí být vyšetření moči lepším diagnostickým markerem. Hladina svalových enzymů se v období metabolické krize zvyšovala oproti období klidu (50 % vs. 33 %). U dvou pacientů jsme zachytili stav rhabdomyolýzy, ačkoli tento symptom byl u MELAS syndromu zaznamenán pouze v ojedinělých případech (Blum 2011, Gabow 1982, Hara 1994, Hirose 1993, Inoue 2007, Kwon 2003, Lofberg 1998). Z toho důvodu bychom rádi zdůraznili nutnost zahrnutí mitochondriálních onemocnění do diferenciální diagnostiky rhabdomyolýzy. Přestože byl přítomný velký přesah v hladinách heteroplazmie mezi asymptomatickými a symptomatickými pacienty, byla pozorována pozitivní korelace mezi hladinou mutované mtDNA v určitých tkáních (uroepiteliální buňky – UEC, vlasy, krev) a tíží onemocnění, viz Chyba! Nenalezen zdroj odkazů..

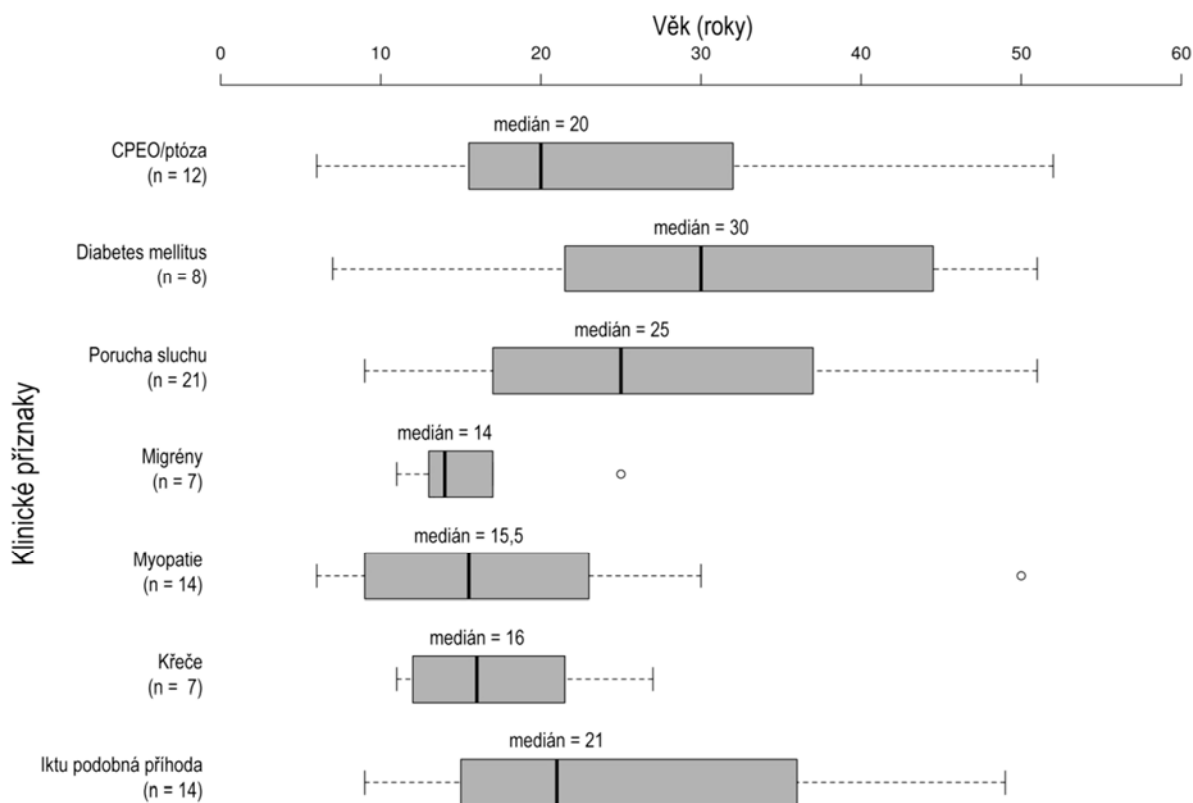
Na základě našich zjištění lze říci, že MELAS syndrom je onemocnění s velmi variabilním průběhem, kdy kterýkoli asociovaný symptom může být prezentující a může zůstat izolován i

po velmi dlouhou dobu. Pochopení přirozeného průběhu onemocnění nám umožňuje lépe předvídat jeho další průběh a monitorovat pacienty, případně včas nastavit adekvátní léčbu.

Přestože je syndrom MELAS považován za multiorgánové onemocnění s výskytem iktu podobných příhod, toto tvrzení bylo naplněno u méně než poloviny jedinců s prevalentní mutací. Ve studiu klinického průběhu onemocnění byl pozorován častější výskyt migrén před následným rozvojem iktu podobných příhod, z čehož plyne možnost zahájení včasné terapeutické intervence se zabráněním progresu nemoci.

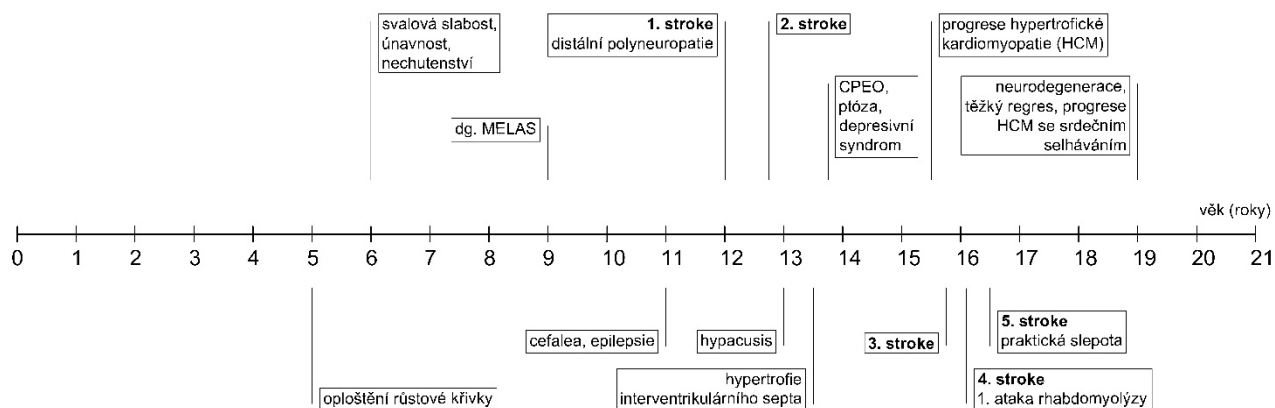


Graf 1: Výskyt jednotlivých klinických příznaků za celou dobu sledování s vyjádřeným relativního zastoupení pacientů s plně vyjádřeným a oligosymptomatickým fenotypem.

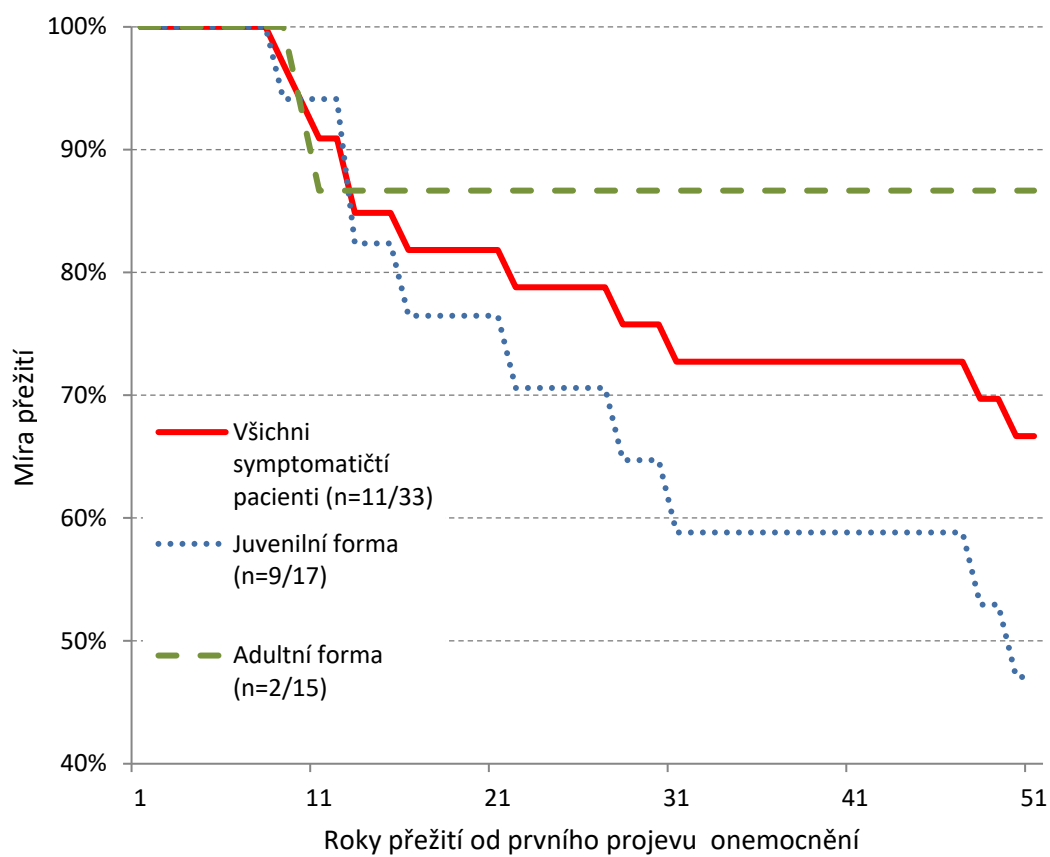


Graf 2: Znázornění nejčastějších klinických příznaků a věku, při kterém se manifestovaly. Nejčastěji se vyskytujícím klinickým symptomem byla porucha sluchu, následována iktu podobnými příhodami, myopatií, poruchou okohybných svalů, diabetem mellitem a neurologickými projevy.

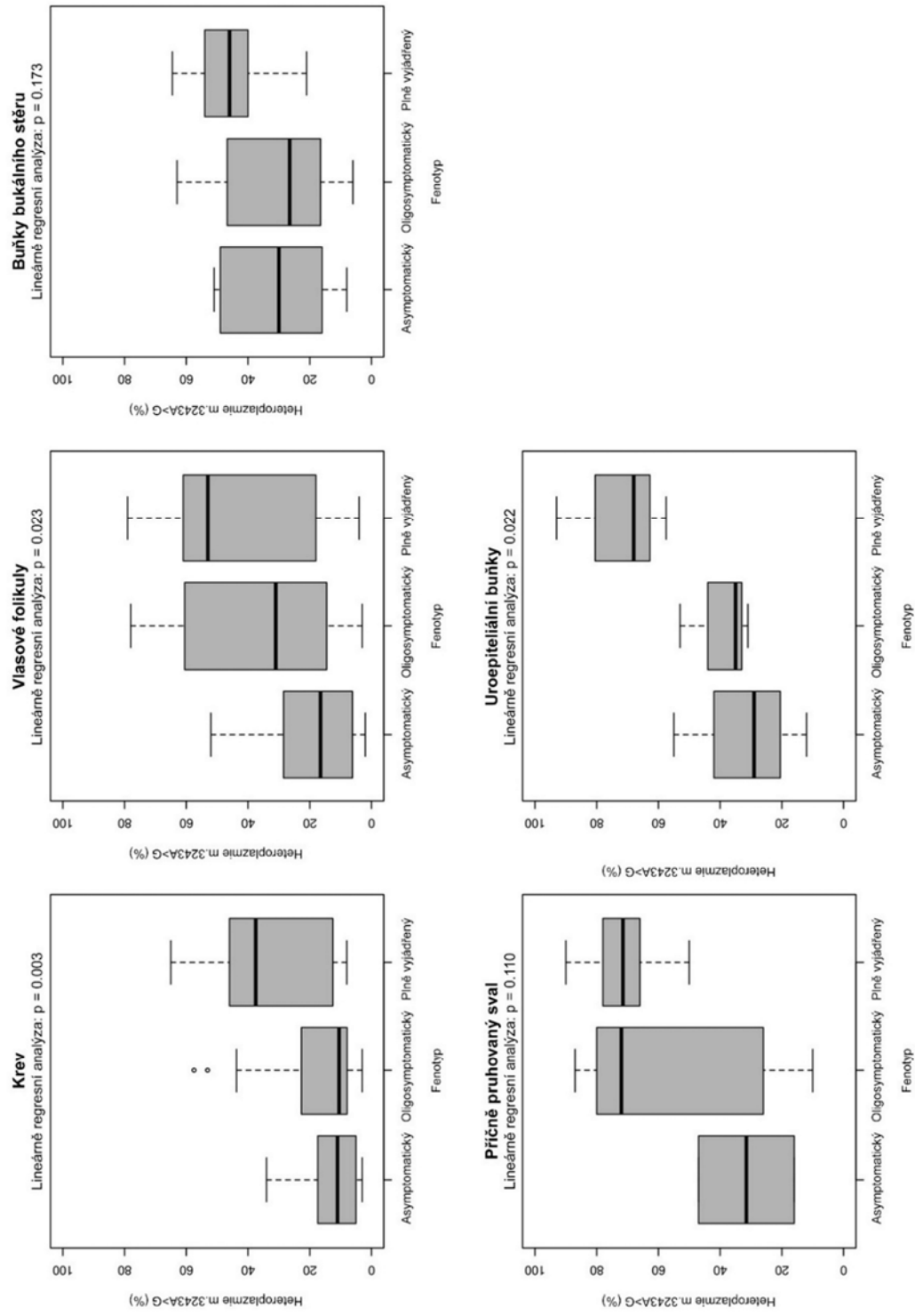
ČASOVÁ OSA PRŮBĚHU ONEMOCNĚNÍ



Obr. 19: Časová osa znázorňující postupný výskyt jednotlivých symptomů typických pro syndrom MELAS u chlapce s prevalentní mutací m.3243A>G s hladinou heteroplazmie 78 % ve svalu, 57 % v krvi a 70 % ve vlasových folikulech.



Graf 3: Kaplan-Meierova křivka přežití u pacientů s MELAS syndromem



Graf 4: Hlady heteroplazmie mutace m.3243A>G v jednotlivých tkáních znázorňující rozdíl mezi pacienty s různě vyjádřenou tíží onemocnění.

4.1.2. Cíl A2) Charakterizovat psychiatrickou manifestaci pacientů s MELAS syndromem.

Mitochondriální onemocnění představují heterogenní skupinu onemocnění, které se manifestují v jakémkoli věku širokým spektrem klinických symptomů, včetně psychiatrických poruch. V naší retrospektivní studii jsme se zaměřili na pět pacientů s MELAS syndromem, u kterých se v průběhu času vyvinulo psychiatrické onemocnění. U čtyř pacientů byla potvrzena prevalentní mutace m.3243A>G v *MT-TL1*, u jednoho pacienta m.12706T>C v *MT-ND5*. Nejčastější psychiatrickou diagnózou byla deprese, která byla přítomna u tří pacientů. Jeden pacient bez deprese trpěl psychotickými (schizofrenii podobnými) příznaky s halucinacemi a organickým amnestickým syndromem, druhý pacient poklesem kognitivních funkcí a stavy zmatenosti. Deprese byla doprovázena úzkostí u jednoho pacienta a organickým psychosyndromem nebo organickou poruchou osobnosti u dalších dvou. U jednoho pacienta deprese předcházela rozvoji iktu podobné příhody. U čtyř pacientů byl zaznamenán pokles kognitivních funkcí. Stavy zmatenosti byly přítomny u třech pacientů a často vyžadovaly hospitalizaci. Narušení sociálních dovedností bylo evidentní u všech pacientů. Shrnutí nejčastějších klinických příznaků asociovaných s MELAS syndromem u popisovaných pacientů viz **Tab. 3**. Psychiatrická manifestace viz **Tab. 4**. Literatura udává vyšší incidenci psychiatrických poruch a zejména deprese u pacientů s mitochondriálním onemocněním (54 %) (Mancuso 2013) než v běžné populaci (15–20 %) (Hirschfeld 2012). Vzhledem k četnosti psychiatrických poruch v běžné populaci se proto nabízí provedení metabolického vyšetření zejména u psychiatrických pacientů s přítomným postižením dalších orgánových systémů (myopatie, porucha sluchu atd.). Tímto lze včasné zahájit jejich sledování a vedení terapie s možným zastavením progresu nemoci a výskytu iktu podobných příhod.

Provedením metabolického vyšetření u pacientů s psychiatrickým onemocněním a přítomným postižením dalších orgánových systémů lze odhalit základní mitochondriální onemocnění, zahájit včasnou terapeutickou intervenci a omezit progresi nemoci.

Tab. 3: Klinická a laboratorní data pěti pacientů s MELAS syndromem

Pacient	1	2	3	4	5
mtDNA mutace	3243A>G	3243A>G	3243A>G	3243A>G	12706T>C
Pohlaví	Žena	Žena	Žena	Muž	Muž
Věk nástupu onemocnění (roky)	16	43	10	6	18
Věk v době diagnózy (roky)	16	44	47	9	36
Věk v době publikace (roky)	31	Úmrtí v 53	Úmrtí v 60	19	38
První symptom	Migrény, zvracení	Deprese	Myopatie	Neprospívání	Porucha sluchu
Rodinná historie	Pozitivní	Pozitivní	Negativní	Pozitivní	Negativní
Myopatie	+	-	+	+	-
Epilepsie	-	-	-	+	+
Iktu podobná příhoda	+	-	+	+	+
Externí oftalmoplegie	-	-	+	+	-
Sensorineurální ztráta sluchu	-	-	+	+	+
Hypertrofická kardiomyopatie	-	-	+	+	-
Zvýšení laktátu v krvi (>2,25 mmol/l)	+	-	+	+	+
MRI/CT změny	+	0	+	+	+

0 – neprováděno

Tab. 4: Psychiatrické symptomy pěti pacientů s MELAS syndromem

Pacient	1	2	3	4	5
mtDNA mutace	3243A>G	3243A>G	3243A>G	3243A>G	12706T>C
Věk nástupu psychiatrických symptomů (roky)	29	43	47	13	32
Porucha kognitivních funkcí	+	-	+	+	+
Deprese	-	+	-	+	+
Úzkost	-	-	-	-	+
Psychotické symptomy	+	-	-	-	-
Stavy zmatenosti	+	-	+	-	+
Narušení sociálních dovedností	+	+	+	+	+
Suicidium	-	+	-	-	-

4.2. Cíl B) Zhodnotit klinický průběh dalších mitochondriálních onemocnění

Související publikace:

Příloha 4: Magner M., **Dvorakova V.**, Tesarova M., Mazurova S., Hansikova H., Zahorec M., Brennerova K., Bzduch V., Spiegel R., Horovitz Y., Mandel H., Eminoğlu FT., Mayr JA., Koch J., Martinelli D., Bertini E., Konstantopoulou V., Smet J., Rahman S., Broomfield A., Stojanović V., Dionisi-Vici C., van Coster R., Morava-Kozicz E., Sperl W., Zeman J., Honzik T. TMEM70 deficiency: long-term outcome of 48 patients. *J Inherit Metab Dis*, 2015 38(3):417–426. IF 3,541; Q2, citováno 38x (k 20.08.2024)

Příloha 5: **Dvorakova V.**, Magner M., Honzik T. Hyperammonemic crisis in a child with ATP synthase deficiency caused by mtDNA mutation m.8851T>C. *Mol Gen Metab Rep*, 2014 Dec 18;2:46. citováno 1x (k 20.08.2024)

Podíl na práci: klinické vyšetření pacientů (4), komplementace a analýza dat získaných formou dotazníku (4), příprava manuskriptu (4, 5)

4.2.1. Cíl B1) Detailně analyzovat variabilitu klinických projevů u 48 pacientů s deficitem TMEM70 v rámci multicentrické mezinárodní spolupráce

Mutace v genu *TMEM70* ústící v deficit ATP syntázy je vzhledem k neustále navyšujícímu se počtu pacientů jedno z nejčastějších mitochondriálních onemocnění dětského věku. Na základě multicentrické mezinárodní spolupráce se podařilo sestavit kohortu pacientů, která je díky své velikosti unikátní a umožňuje podrobnou fenotypovou charakterizaci spolu se studiem průběhu onemocnění, možností terapie a hodnocení klinických výstupů.

Onemocnění pacientů s deficitem TMEM70 se nejčastěji manifestovalo v novorozeneckém období (41 pacientů, 85 %), ve většině těchto případů během prvního dne života (33 dětí) nebo během prvního týdne života (5 dětí). Pozdější začátek onemocnění byl dokumentován u sedmi dětí (15 %), nejzazší čas nástupu onemocnění byl věk dvou let. Nejčastějšími symptomy na začátku onemocnění bylo chabé sání, hypotonie, letargie, dechové a srdeční selhání, často laboratorně doprovázené laktátovou acidózou, 3-methylglutakonovou acidurií a hyperamonémií. U dětí s manifestací v neonatálním období byla hyperamonémie dokumentována častěji (65 %) než u dětí s pozdějším začátkem onemocnění (14 %). V následném průběhu onemocnění byly dokumentovány tyto symptomy: opoždění vývoje (98 %), hypotonie (95 %), opoždění růstu (94 %), nízký vzrůst (89 %), neprogresivní kardiomyopatie (89 %), mikrocefalie (71 %), faciální dysmorfie (66 %), hypospadie (50 % jedinců mužského pohlaví), persistentní plicní

hypertenze novorozence (22 %) a Wolffův–Parkinsonův–Whiteův syndrom (13 %), viz **Graf 5**. Jak je dokumentováno výše, rozpětí klinických příznaků u pacientů s deficitem TMEM70 je podobně jako u jiných mitochondriálních onemocnění velmi široké. Tak jak se rozšiřuje záběr postižených etnik (původně byla mutace popisována pouze u romské populace), tak se objevují i nové mutace a s nimi odlišný a často mírnější průběh onemocnění než v původní tezi o manifestaci v novorozeneckém období a infaustní prognóze. Příkladem je osmiletá dívka z naší kohorty, která jako složený heterozygot prevalentní mutace c.317–2A>G a mutace c.118_119insGT trpí pouze mírnou dyspraxií a atakami myalgie v návaznosti na sportovní aktivitu.

Srdeční postižení je poměrně typický znak pacientů s deficitem TMEM70 (89 %). Nejčastěji byla dokumentována hypertrofická kardiomyopatie (38 dětí), která však ve většině případů nebyla progresivní a u 4 dětí byl zaznamenán regres nálezu. Dilatační kardiomyopatie byla přítomna u dvou dětí a perzistující plicní hypertenze novorozence vyžadující terapii sildenafilem a/nebo inhalovaného oxidu dusnatého (iNO) u deseti dětí. U pěti dětí byla kardiomyopatie odhalena již fetální sonografií.

Limitujícím faktorem stran dalšího přežití a kvality života se u pacientů s deficitem TMEM70 ukázaly být metabolické krize. Nejčastěji se vyskytovaly v neonatálním období, avšak u 24 ze 40 pacientů přeživších novorozenecké období se objevily i později v životě, u 13 z nich dokonce opakovaně. Častým spouštěčem bylo dlouhé lačnění, akutní gastroenteritis a akutní horečnaté onemocnění. Po proběhnutí metabolické krize byl u řady dětí pozorován regres ve vývoji, proto rychlé a razantní podání i.v. glukózy a emulze lipidů se ukázalo být klíčovým pro další průběh onemocnění. Proto na základě našich zkušeností a zkušeností ostatních metabolických center zahrnutých ve studii byl navržen možný postup v rámci řešení metabolických krizí a uvádění pacientů do anestezie, viz **Tab. 5**. S rostoucím věkem pacientů se již metabolické krize vyskytovaly méně často a spolu s tím byla pozorována tendence ke stabilizaci onemocnění a tím i neurologického postižení.

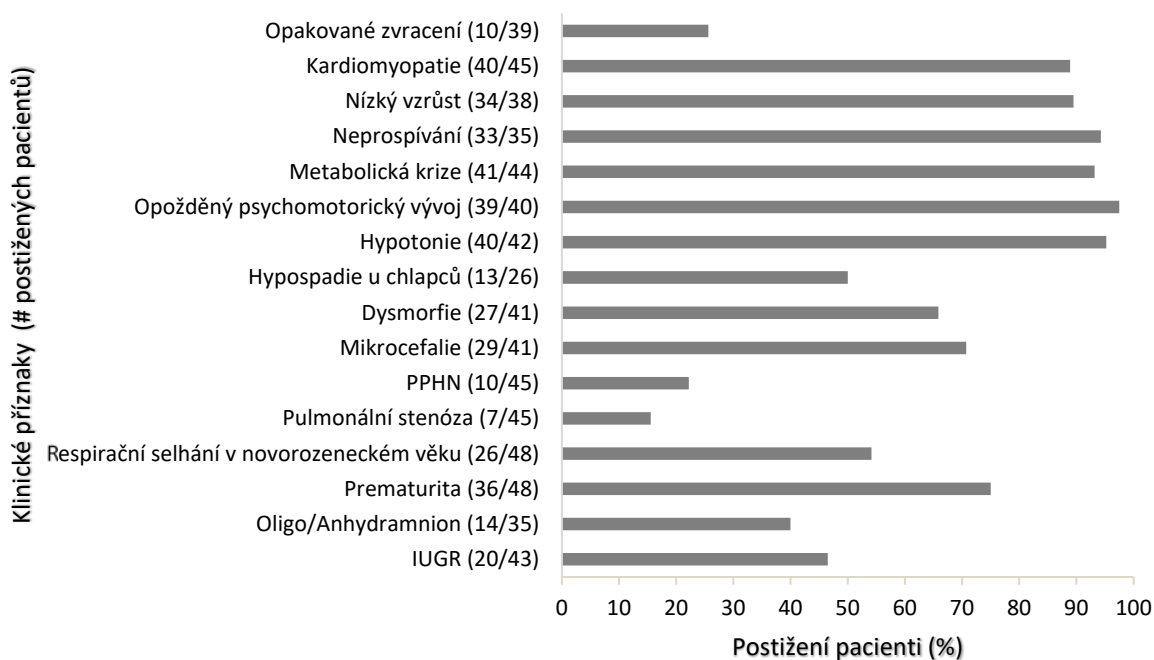
Z biochemických ukazatelů byla u pacientů v době manifestace onemocnění a období metabolických krizí pozorována zejména zvýšená hladina laktátu v krvi (až 32,8 mmol/l; kontroly < 2,1), hyperamonémie (až 900 μ mol/l; kontroly < 100 u novorozenců, < 60 u starších pacientů), hyperalaninémie (až 7 178 μ mol/l; kontroly < 500), hyperurikémie (až 981 μ mol/l, kontroly < 420) a 3–metylglutakonová acidurie (až 504 mmol/mol kreatininu; kontroly < 15)

často doprovázená zvýšenou exkrecí 2–hydroxyglutarátu (až 1 147 mmol/mol kreatininu). U části pacientů byla přítomna také iontová dysbalance a hypo/hyperglykémie.

Desetileté přežití souboru pacientů bylo 63 %. Kritickým obdobím stran přežití byl novorozenecký věk, kdy zemřelo osm pacientů. Děti s neonatální manifestací, které dovršily pěti let věku, již nezemřely a pacienti s pozdějším začátkem onemocnění také dál žijí. Vzhledem k velkému významu metabolických krizí na prognóze a možnosti přežití pacientů je nutná akcentace pravidelného měření hladiny amoniaku v krvi, zejména v době akutních infekcí a dalších stresových zátěží pro organismus.

Deficit proteinu TMEM70 je panetnické multisystémové onemocnění s variabilním průběhem závislým zejména na adekvátním řešení hyperamonemické krize v neonatálním období a časném dětství.

Výskyt klinických příznaků u pacientů s deficitem TMEM70



Graf 5: Výskyt nejčastějších symptomů u pacientů s diagnózou deficitu TMEM70
Zkratky: PPHN perzistující plicní hypertenze novorozence; IUGR intrauterinní růstová restrikce (intrauterine growth restriction)

Tab. 5: Návrhy terapeutických postupů v rámci řešení metabolické krize a uvádění pacientů s deficitem TMEM70 do celkové anestezie

Akutní postupy	Celková anestezie Plánované procedury	Metabolická krize, urgentní operace		Poznámky
		Normální amonémie	Hyper- amonémie	
Zastavit příjem proteinů	Ne	Ne	Ano	Maximálně 24 (-48) hodin
Podat glukózu i.v., každé 3 hodiny monitorovat hladinu glukózy	Ano [§]	Ano	Ano	Iniciálně podat pouze 2/3 k věku stanovené dávky [£]
Časně zahájit podání emulze lipidů v dávce až 3,5 g/kg/den	Ne ^Δ	Ano	Ano	Snížit vysokou dávkou lipidů po 48 (-72) hodinách, denně monitorovat hladinu triglyceridů ^Ψ
Zvážit terapii scavengerem amoniaku, L-argininem nebo dokonce N-karbamylglutamátem, v závislosti na hladině amoniaku	Ano [□]	Ne	Ano	Doporučeno standardní dávkování ^Ω . Mímotělní detoxifikace by měla být zahájena, pokud hladina amoniaku v krvi přesáhne 400–500 μmol/l [¶] nebo pokud není přítomna adekvátní odpověď na léčbu po 3–6 hodinách
Upravit acidózu podáním bikarbonátu i.v.	Ano [□]	Ano	Ano	Je preferováno kontinuální podávání infúze N nutné zajistit přesné dávkování dle stavu acidobazické rovnováhy

§ žádné lačnění, nahradit stravu podáním 10% glukózy intravenózně spolu s odpovídajícím množstvím elektrolytů v dávce 8–10 mg/kg/min pro novorozence a kojence
6–7 mg/kg/min pro děti
4–5 mg/kg/min pro adolescenty
3–4 mg/kg/min pro dospělé

Infúze by měla být ponechána po celou dobu operace. Infúzi je možné přerušit až ve chvíli, kdy dítě začne tolerovat stravu.

£ dle našich zkušeností jsou pacienti s deficitem TMEM70 extrémně náchylní k rozvoji hyperglykemie v rámci probíhající metabolické krize (dokonce i při odpovídajícím přívodu glukózy). Pacienti jsou také velmi citliví na rychlé zvýšení hladiny inzulínu a laktátu při terapii inzulínem. V tomto aspektu pacienti s deficitem TMEM70 imitují pacienty s metylmalonovou a propionovou acidurií.

Δ pro déle trvající chirurgické operace může být zváženo podání emulze lipidů intravenózně (1 až 2 g/kg/den i.v.)

Ψ v průběhu akutní metabolické krize je přítomna výborná tolerance vysokého přívodu lipidů, což pomáhá zastavit katabolismus a podporovat anabolismus (většinou v případech kdy je problémem intolerance glukózy).

□ pokud je zabezpečen adekvátní přísun glukózy, není u stabilních pacientů podstupujících plánované zákroky častý výskyt hyperamonémie a/nebo metabolické acidózy. U pacientů s chronickou alkalizační terapií by měla být glukóza intravenózně doplňována.

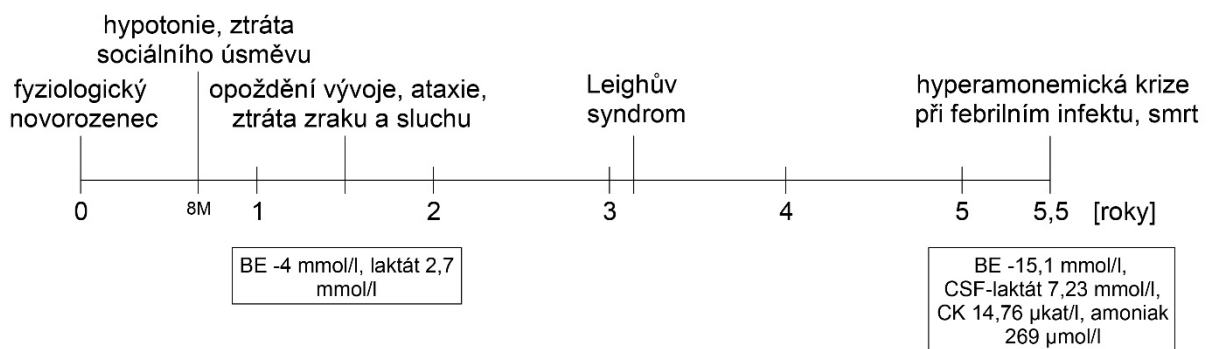
Ω dávky stanovené u pacientů s poruchami cyklu močoviny a organickými aciduriemi

¶ u starších dětí a dospělých by hemodiafiltrace měla být zvážena časněji (>200–250 μmol/l) (Häberle 2012).

4.2.2. Cíl B2) Zdůraznit význam hyperamonémie u pacienta se vzácnou poruchou funkce ATP syntázy způsobenou mutací m.8851T>C v mitochondriální DNA.

V krátkém sdělení je prezentována dívka sledovaná v našem metabolickém centru pro mitochondriální onemocnění způsobené mutací m.8851T>C v *MTATP6*. Mutace ústí deficit ATP syntázy a u dívky se onemocnění projevvalo psychomotorickým opožděním, mikrocefalií, ataxií, epilepsií a Leighovým syndromem. Ve věku 5,5 let byla přijata pro poruchu vědomí při probíhající virové infekci. Klinický průběh onemocnění viz **Obr. 20**. V biochemickém vyšetření byl přítomen nález metabolické acidózy (deficit bází 15,1 mmol/l, norma ± 2), zvýšené hladiny kreatinkinázy (14,76 μ kat/l, norma $< 2,27$), amoniaku (269 μ mol/l, norma < 60) a v likvoru také laktátu (7,23 mmol/l, norma $< 2,1$). Právě zvýšená hladina amoniaku činí tento nález zajímavým. Hyperamonémie není u mitochondriálních onemocnění až na deficit TMEM70 častým nálezem a byla dosud publikována v ojedinělých případech. Přestože u dívky byla včas zahájena terapie infusním podáním glukózy a bikarbonátu s následnou normalizací biochemických parametrů včetně hladiny amoniaku, dívka po 10 dnech základnímu onemocnění podlehl. Autopsií byl prokázán otok mozku a nálezy korespondující diagnóze Leighova syndromu.

Přestože je hyperamonémie u pacientů s mitochondriálním onemocněním ojedinělým nálezem, je nutné na vyšetření hladiny amoniaku pamatovat, a to zejména při jakémkoli akutním zhoršení stavu. Mutace m.8851T>C rozšiřuje diferenciální diagnostiku hyperamonémie o další diagnózu z řad mitochondriálních onemocnění.



Obr. 20: Sekvence příznaků u dívky s deficitem ATP syntázy při mutaci m.8851T>C. Zkratky: M měsíc; BE base excess; CSF cerebrospinal fluid; CK kreatinkináza

4.3. Cíl C) Demonstrovat význam mezinárodních registrů při posuzování přirozeného průběhu onemocnění u pacientů trpících vybranými vzácnými dědičnými poruchami metabolismu.

Související publikace:

Příloha 6: Kölker S., Garcia–Cazorla A., Valayannopoulos V., Lund AM., Burlina AB., Sykut–Cegielska J., Wijburg FA., Teles EL., Zeman J., Dionisi–Vici C., Barić I., Karall D., Augoustides–Savvopoulou P., Aksglaede L., Arnoux JB., Avram P., Baumgartner MR., Blasco–Alonso J., Chabrol B., Chakrapani A., Chapman K., I Saladelafont EC., Couce ML., de Meirleir L., Dobbelaere D., **Dvorakova V.**, Furlan F., Gleich F., Gradowska W., Grünewald S., Jalan A., Häberle J., Haege G., Lachmann R., Laemmle A., Langereis E., de Lonlay P., Martinelli D., Matsumoto S., Mühlhausen C., de Baulny HO., Ortez C., Peña–Quintana L., Ramadža DP., Rodrigues E., Scholl–Bürgi S., Sokal E., Staufner C., Summar ML., Thompson N., Vara R., Pinera IV., Walter JH., Williams M., Burgard P. The phenotypic spectrum of organic acidurias and urea cycle disorders. Part 1: the initial presentation. *J Inherit Metab Dis.* 2015 38(6):1041–57. IF 3,541; Q2, citováno 163x (k 20.08.2024)

Podíl na práci: klinické vyšetření pacientů, zadávání a aktualizace dat 38 českých pacientů registrovaných ve webovém registru.

Spektrum klinických symptomů u pacientů trpících organickými aciduriemi (OA) a poruchami cyklu močovinny (urea cycle disorder – UCD) je velmi variabilní. Pro akumulaci nemetabolizovaných toxických produktů s následným ireverzibilním postižením zejména nervového systému je u těchto pacientů nezbytná, pokud možno co nejčasnější diagnostika a léčba.

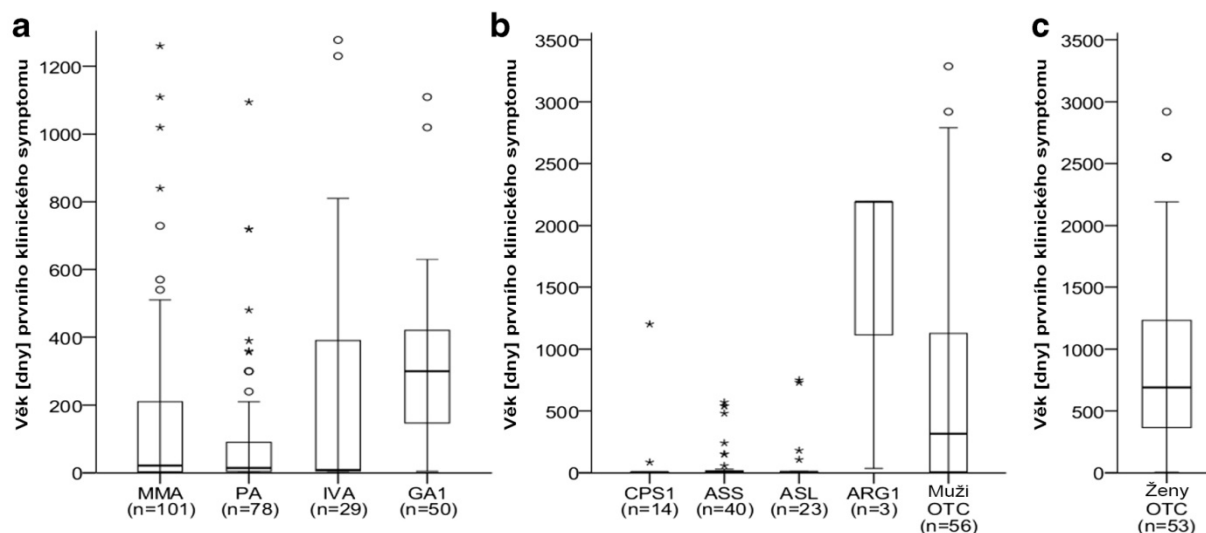
S cílem vytvoření diagnostických a léčebných postupů a poskytnutí medicíny založené na důkazech byl konsorciem E-IMD (European registry and network for Intoxication type Metabolic Diseases) v roce 2011 vytvořen patientský registr na webovém rozhraní. V době publikace byla do registru zanesena klinická a laboratorní data 452 pacientů s organickou acidurií a 343 pacientů s poruchou cyklu močovinny, z toho 38 pacientů sledovaných na našem pracovišti. Z celkového počtu 795 jedinců bylo 69 % symptomatických. Nejčastějšími klinickými jednotkami byl deficit ornitintraskarbamylázy (OTC; n = 196), glutarová acidurie 1. typu (GA1; n = 150), metylmalonová acidurie (MMA; n = 149) a propionová acidurie (PA;

n = 101). Věk nástupu prvních klinických příznaků sahal od převážně novorozeneckého období (MMA, PA, IVA) po kojenecký až dospělý věk, tzv. late-onset (GA1, OTC) viz **Graf 6**.

Věkový medián při diagnóze byl 30 dní u pacientů s OA a 362 dní u pacientů s poruchou cyklu močoviny. Většina symptomatických pacientů se manifestovala akutní metabolickou krizí (75 %; pacienti s klasickou OA/UCD) nebo akutní encefalopatickou krizí (9 %; pacienti s GA1). Spektrum klinických příznaků při iniciální metabolické krizi viz **Tab. 6**. Záludností metabolické krize v novorozeneckém období je často bezpříznakový interval několika dní, po kterém následuje klinický obraz imitující sepsi. K rozvoji metabolické krize došlo u 40 % (n = 220) pacientů v novorozeneckém věku, přesto se překvapivě vysoké procento pacientů (60 %; n = 328) zejména s poruchou cyklu močoviny manifestovalo metabolickou krizí nebo jinými symptomy až po tomto období. Toto zjištění může být vysvětleno vysokou mortalitou pacientů s poruchou cyklu močoviny prezentující se sepsi-imitující obrazem v novorozeneckém období, kteří nestihli být diagnostikováni. Klinická manifestace u tzv. late-onset pacientů viz **Tab. 7**. Symptomatictí pacienti, u kterých neproběhla metabolická krize (16 %; n = 85) se nejčastěji prezentovali poruchou hybnosti, poruchou vývoje intelektu, epilepsií a pouze u pacientů s poruchou cyklu močoviny psychiatrickým onemocněním. U žen přenašeček OTC bylo často pozorováno jaterní postižení (elevace jaterních enzymů, hepatomegalie až jaterní selhání). Výše uvedené symptomy mají široké spektrum diferenciální diagnostiky, což často opoždňuje stanovení správné diagnózy, nebo vede až k poddiagnostikovanosti. Možný intrauterinní vliv onemocnění byl pozorován u pacientů s MMA (nízká porodní hmotnost) a s GA1 (makrocefalie).

V biochemickém vyšetření byly zaznamenány rozdíly v hladině amoniaku a standardního bikarbonátu. Pacienti s MMA, PA a deficitem OTC kteří se manifestovali v novorozeneckém věku měli vyšší hladiny amoniaku oproti pacientům s pozdějším začátkem onemocnění. Naproti tomu tzv. late-onset pacienti s MMA a PA měli výraznější pokles standardního bikarbonátu. Vyšší hladina amoniaku u pacientů s časným nástupem příznaků zdá se koreluje s nízkou reziduální enzymatickou aktivitou a tím i tíží onemocnění.

Klinická prezentace u pacientů s OA a poruchami cyklu močoviny je velmi rozdílná a často nespecifická, což zejména u pacientů se sepsi imitující neonatální krizí a tzv. late-onset manifestací znesnadňuje diagnostiku a může být příčinou úmrtí z opožděné až nepodané léčby.



Graf 6: Věk nástupu prvních klinických příznaků

Věk nástupu prvních klinických příznaků u pacientů s OA (a), poruchami cyklu močoviny mimo ženy s OTC (b) a žen s OTC (c). Pacienti s NAGS a HHH syndromem byli vyloučeni z této analýzy z důvodu malého počtu jedinců v těchto skupinách. Věkový medián (Q1; Q3) při nástupu prvních symptomů byl u jednotlivých diagnóz (ve dnech): MMA: 21 (3; 210), PA: 14 (4; 90), IVA: 8 (5; 465), GA1: 300 (145; 428), deficit CPS1: 4 (3; 26), deficit ASS: 3 (2; 18), deficit ASL: 3 (2; 10), deficit ARG1: 2 190 (34; —), muži s OTC deficitem: 315 (7; 1 283), ženy s OTC deficitem: 690 (363; 1 345). Kroužky, odlehlé hodnoty; hvězdičky, extrémní hodnoty; výška boxplotu: interkvartilové rozpětí (IQR); horní hranice boxplotu: Q3; dolní hranice boxplotu: Q1; tlustá čára uvnitř boxplotu: medián; linie vycházející z dolní části boxplotu: nejnižší údaj 1,5 IQR spodního kvartilu; linie vycházející z horní části boxplotu: nejvyšší údaj 1,5 IQR horního kvartilu; odlehlé hodnoty: vzdálenost ke Q1 nebo Q3 respektive $\geq 1,5$ a ≤ 3 násobek IQR; extrémní hodnoty: vzdálenost ke Q1 nebo Q3 respektive > 3 násobek IQR.

Tab. 6: Spektrum klinických příznaků při iniciační metabolické krizi

Název onemocnění	Pacienti dle věku nástupu		Porucha vědomí		Zvracení		Svalová hypotonie		Obraz imitující sepsi		Křeče		Hyperexcitabilita		Zápach		Jiné	
	n	n (Medián)	n	n (Medián)	n	n (Medián)	n	n (Medián)	n	n (Medián)	n	n (Medián)	n	n (Medián)	n	n (Medián)	n	n (Medián)
a. Pacienti s OA																		
MMA	EO	56	37	3	24	3	28	4	19	3	7	2	6	4	2	4	37	3
	LO	46	29	270	32	210	20	195	6	183	6	165	6	93	1	180	22	240
PA	EO	53	36	7	24	12	31	7	18	4	7	14	2	2	2	15	31	4
	LO	27	24	195	19	180	13	150	3	240	7	180	0	n/a	0	n/a	12	152
IVA	EO	17	9	7	4	5	10	7	3	2	1	4	6	6	10	4	11	5
	LO	12	3	810	9	570	4	387	2	1044	0	n/a	0	n/a	2	1800	5	390
b. Pacienti s UC																		
NAGS-D	EO	2	1	6	1	6	1	2	0	n/a	0	n/a	0	n/a	0	n/a	1	2
	LO	1	1	3650	0	n/a	0	n/a	1	3650	0	n/a	0	n/a	0	n/a	0	n/a
CPSI-D	EO	11	7	3	3	2	3	4	3	2	4	4	2	6	0	n/a	8	3
	LO	3	3	1200	1	1200	1	84	1	6570	0	n/a	1	6570	1	1200	0	n/a
OTC-D (ž)	EO	4	3	4	2	6	1	3	3	4	0	n/a	0	n/a	0	n/a	2	3
	LO	49	33	730	29	690	12	525	2	1230	8	1043	3	1230	0	n/a	22	600
OTC-D (m)	EO	19	13	3	6	7	8	3	12	2	10	2	2	2	0	n/a	8	3
	LO	38	31	725	27	510	11	365	2	2538	9	360	7	810	1	2555	10	378
ASS-D	EO	33	23	3	7	2	21	3	14	3	13	3	4	4	0	n/a	17	3
	LO	8	6	360	5	480	2	103	0	n/a	0	n/a	1	480	0	n/a	2	540
ASL-D	EO	18	14	3	4	5	5	3	4	3	9	3	3	2	0	n/a	9	2
	LO	5	4	740	3	750	3	180	1	730	2	2450	0	n/a	0	n/a	2	2138
ARGI-D	EO	1	1	0	0	n/a	0	n/a	0	n/a	0	n/a	0	n/a	0	n/a	0	n/a
	LO	3	1	2190	1	34	1	2190	2	1112	1	2190	1	2190	0	n/a	1	2190
HHH-D	EO	2	2	4	0	n/a	1	2	1	2	1	2	1	2	0	n/a	1	6
	LO	3	2	540	2	540	1	180	0	n/a	0	n/a	1	450	0	n/a	2	315

Pacienti s GA1 jsou z této tabulky vyjmuti, protože u nich došlo k encefalopatické krizi, ale ne spolu s klasickou metabolickou krizí.

Zkratky: EO = „early onset“, časný nástup symptomů (novorozenecký věk / ≤ 28 dní; LO = „late onset“, pozdní nástup symptomů (po novorozeneckém věku / > 28 dní; n/a = „not available“, bez záznamu; D, deficit; ž, ženy; m, muži

Tab. 7: Iniciální klinická prezentace pacientů s pozdním nástupem onemocnění

	Pacienti (n)	Problémy s příjmem potravy (n)	Jaterní onemocnění (n)	Epilepsie (n)	Porucha hybnosti (n)	Porucha vývoje intelektu (n)	Psychiatrické poruchy (n)	Renální onemocnění (n)	Abnormální krevní obraz (n)	Onemocnění srdce (n)	Jiné (n)
MMA	AK 46	14	1	2	3	2	0	0	1	0	10
	bez MK 14	3	0	0	0	1	0	2	0	1	2
PA	AK 27	11	0	1	2	5	1	0	2	0	9
	bez MK 2	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0
IVA	AK 12	2	0	0	0	1	0	0	0	0	5
	bez MK 2	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1
GAI	AK 48	9	0	7	17	6	0	1	0	0	18
	bez MK 26	2	0	5	12	4	0	0	0	0	15
NAGS-D	AK 1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	bez MK 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CPS1-D	AK 3	3	0	0	1	1	0	0	0	0	3
	bez MK 2	0	0	0	1	0	1	0	0	0	2
OTC-D (m)	AK 38	9	2	3	4	2	2	0	0	0	9
	bez MK 4	4	0	0	0	0	1	0	0	0	1
OTC-D (ž)	AK 49	9	12	3	2	1	4	1	0	0	17
	bez MK 17	8	5	2	0	1	1	0	0	0	7
ASS-D	AK 8	3	3	0	0	0	0	0	0	0	2
	bez MK 7	4	1	1	2	2	0	0	0	0	2
ASL-D	AK 5	1	1	0	1	1	0	0	0	0	3
	bez MK 9	1	2	2	0	6	0	0	0	0	2
ARG1-D	AK 3	1	0	0	1	1	0	0	0	0	1
	bez MK 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
HHH syndrom	AK 3	2	2	0	0	1	0	0	0	0	1
	bez MK 2	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1

Zkratky: AK, akutní metabolická krize po novorozeneckém věku / > 28 dní; ž, ženy; m, muži; bez MK, pozdní nástup bez metabolické krize

5. Závěry a praktické dopady studie

Mitochondriální onemocnění zahrnují velmi široké spektrum příznaků a klinických syndromů, které často neumožňují snadné a rychlé stanovení diagnózy. Právě studiem přirozeného průběhu jednotlivých onemocnění spolu s analýzou možných predisponujících faktorů lze očekávat lepší pochopení nemoci a zkvalitnění péče o postižené pacienty. Přestože primární prevence není u většiny nemoci vzhledem k mitochondriální dědičnosti možná, lze metody asistované reprodukce použít do doby, než nové experimentální genové technologie budou uvedeny do klinické praxe.

Konkrétními přínosy práce jsou:

- Pacienti s MELAS syndromem častěji vykazují oligosymptomatickou formu onemocnění bez projevů stroke-like episody, nicméně pokud se objeví migrenosní bolesti hlavy, lze očekávat nástup iktu podobné příhody a stav vyžaduje nasazení adekvátní terapie.
- Psychiatrické postižení je u pacientů s MELAS syndromem s vyšší frekvencí než v běžné populaci, proto je potřeba u pacientů s těmito obtížemi v rámci diferenciální diagnostiky na tuto možnost pomýšlet.
- Dle výsledků naší studie se ukazuje, že adekvátní terapie metabolických krizí je daleko kritičtějším prognostickým faktorem než etnické pozadí nebo typ mutace TMEM70. Řádně vedená terapie metabolických krizí je důležitá také stran dalšího vývoje onemocnění, protože u pacientů bez akutních dekompenzací je onemocnění víceméně stabilní. Z těchto důvodů byl navržen možný postup v rámci řešení metabolických krizí a uvádění pacientů do anestezie.
- Kazuistika dívky s deficitem ATP syntázy rozšiřuje diferenciální diagnostiku mitochondriálních onemocnění s projevy hyperamonémie.
- Díky nadnárodní spolupráci bylo možné stanovit fenotyp, průběh a prognózu onemocnění u celkem 452 pacientů s organickými aciduriemi a 343 pacientů s poruchou cyklu močoviny. Na podkladě dat z metabolických center bylo následně možné připravit doporučené postupy stran dalšího sledování a terapie těchto pacientů.

6. Seznam publikací s vazbou na vznik teze (celkový impact factor 11,584)

- Příloha 1: **Dvorakova V.**, Kolarova H., Magner M., Tesarova M., Hansikova H., Zeman J, Honzik T. The phenotypic spectrum of fifty Czech m.3243A>G carriers. *Mol Genet Metab*, 2016 Aug;118(4):288–95. IF 3,769; Q2, citováno 27x (k 20. 08. 2024)
- Příloha 2: Magner M., Honzik T., Tesarova M., **Dvorakova V.**, Hansikova H., Raboch J., Zeman J. Psychiatric disturbances in five patients with MELAS syndrome. *Psychiatr Pol*, 2014 Sep–Oct;48(5):1035–45. IF 0,733; Q4, citováno 7x (k 20.08. 2024)
- Příloha 3: **Dvořáková V.**, Tesařová M., Honzík T. MELAS syndrom. *In Ehler E a kol. Vzácná onemocnění 2*. Solen, 2015: 44–56, ISBN:978–80–7471–089–6
- Příloha 4: Magner M., **Dvorakova V.**, Tesarova M., Mazurova S., Hansikova H., Zahorec M., Brennerova K., Bzduch V., Spiegel R., Horovitz Y., Mandel H., Eminoğlu FT., Mayr JA., Koch J., Martinelli D., Bertini E., Konstantopoulou V., Smet J., Rahman S., Broomfield A., Stojanović V., Dionisi–Vici C., van Coster R., Morava–Kozicz E., Sperl W., Zeman J., Honzik T. TMEM70 deficiency: long–term outcome of 48 patients. *J Inherit Metab Dis*, 2015 38(3):417–426. IF 3,541; Q2, citováno 38x (k 20.08.2024)
- Příloha 5: **Dvorakova V.**, Magner M., Honzik T. Hyperammonemic crisis in a child with ATP synthase deficiency caused by mtDNA mutation m.8851T>C. *Mol Gen Metab Rep*, 2014 Dec 18;2:46. citováno 1x (k 20.08.2024)
- Příloha 6: Kölker S., Garcia–Cazorla A., Valayannopoulos V., Lund AM., Burlina AB., Sykut–Cegielska J., Wijburg FA., Teles EL., Zeman J., Dionisi–Vici C., Barić I., Karall D., Augoustides–Savvopoulou P., Aksglaede L., Arnoux JB., Avram P., Baumgartner MR., Blasco–Alonso J., Chabrol B., Chakrapani A., Chapman K., I Saladelafont EC., Couce ML., de Meirleir L., Dobbelaere D., **Dvorakova V.**, Furlan F., Gleich F., Gradowska W., Grünewald S., Jalan A., Häberle J., Haege G., Lachmann R., Laemmle A., Langereis E., de Lonlay P., Martinelli D., Matsumoto S., Mühlhausen C., de Baulny HO., Ortez C., Peña–Quintana L., Ramadža DP., Rodrigues E., Scholl–Bürgi S., Sokal E., Staufner C., Summar ML., Thompson N., Vara R., Pinera IV., Walter JH., Williams M., Burgard P. The phenotypic spectrum of organic acidurias and urea cycle disorders. Part 1: the initial presentation. *J Inherit Metab Dis*. 2015 38(6):1041–57. IF 3,541; Q2, citováno 163x (k 20.08.2024)

7. Další publikace autorky

M. Jirkovská, T. Kučera, J. Kaláb, M. Jadrníček, **V. Niedobová**, J. Janáček, L. Kubínová, M. Moravcová, Z. Žižka, V. Krejčí. The branching pattern of villous capillaries and structural changes of placental terminal villi in type 1 diabetes mellitus, *Placenta*. May 2012 (Vol. 33, Issue 5, Pages 343-351). IF 3.117

Vyhnánková H., Vyhnánek R., **Dvořáková V.**, Kolářová H., Vitnerová L., Magner M., Houšťková H., Zeman J., Honzík T. Klinická a laboratorní charakteristika 22 dětí s Kawasakiho nemocí, *Česko-slovenská pediatrie*. 2014, 69, č. 4

Jirkovska M., Kucera T., **Dvorakova V.**, Jadrnicek M., Moravcova M., Zizka Z., Krejci V. Impact of maternal diabetes type 1 on proliferative potential, differentiation and apoptotic activity in villous capillaries of term placenta, *Placenta*. 2016 Apr;40:1-7. IF 2.972

8. Ocenění

16. studentská konference 1. LF UK (6. 5. 2015), Praha, Česká republika:

Dvořáková V., Magner M., Tesařová M., Honzík T.: *Klinická a laboratorní charakteristika pacientů s MELAS syndromem*, oceněno 1. místem v sekci postgraduální, klinická

Nadační fond Scientia: Cena za nejlepší vědeckou práci studentů 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy publikované v roce 2016:

Dvorakova V., Kolarova H., Magner M., Tesarova M., Hansikova H., Zeman J, Honzik T. The phenotypic spectrum of fifty Czech m.3243A>G carriers. *Mol Genet Metab*, 2016 Aug;118(4):288–95, oceněno 2. místem v kategorii postgraduální student

9. Literatura

- Adashi, E. Y., Rubenstein, D. S., Mossman, J. A., Schon, E. A., Cohen, I. G. (2021). Mitochondrial disease: Replace or edit? *Science* 373, 1200-1201.
- Alberts, A. B., A., Johnson, J., Lewis, M., Raff, K., Roberts, P., Walter (2002). *Molecular biology of the cell* (4th edn.), Garland Science: New York.
- Allen, J. W., Gyngell, C., Koplín, J. J., Vears, D. F. (2024). The Parliamentary Inquiry into Mitochondrial Donation Law Reform (Maeve's Law) Bill 2021 in Australia: A Qualitative Analysis. *J Bioeth Inq* 21, 67-80.
- Altassan, R., Peanne, R., Jaeken, J., Barone, R., Bidet, M., Borgel, D., Brasil, S., Cassiman, D., Cechova, A., Coman, D., et al. (2019). International clinical guidelines for the management of phosphomannomutase 2-congenital disorders of glycosylation: Diagnosis, treatment and follow up. *J Inherit Metab Dis* 42, 5-28.
- Altassan, R., Radenkovic, S., Edmondson, A. C., Barone, R., Brasil, S., Cechova, A., Coman, D., Donoghue, S., Falkenstein, K., Ferreira, V., et al. (2021). International consensus guidelines for phosphoglucomutase 1 deficiency (PGM1-CDG): Diagnosis, follow-up, and management. *J Inherit Metab Dis* 44, 148-163.
- Altmann, Richard (1890). *Die elementarorganismen und ihre beziehungen zu den zellen*, Veit & comp., Leipzig,.
- Anglin, R. E., Garside, S. L., Tarnopolsky, M. A., Mazurek, M. F., Rosebush, P. I. (2012). The psychiatric manifestations of mitochondrial disorders: a case and review of the literature. *J Clin Psychiatry* 73, 506-512.
- Anteneova, N., Kelifova, S., Kolarova, H., Vondrackova, A., Tothova, I., Liskova, P., Magner, M., Zamecnik, J., Hansikova, H., Zeman, J., et al. (2020). The Phenotypic Spectrum of 47 Czech Patients with Single, Large-Scale Mitochondrial DNA Deletions. *Brain Sci* 10.
- Antonicka, H., Leary, S. C., Guercin, G. H., Agar, J. N., Horvath, R., Kennaway, N. G., Harding, C. O., Jaksch, M., Shoubridge, E. A. (2003). Mutations in COX10 result in a defect in mitochondrial heme A biosynthesis and account for multiple, early-onset clinical phenotypes associated with isolated COX deficiency. *Hum Mol Genet* 12, 2693-2702.
- Atay, Z., Bereket, A., Turan, S., Haliloglu, B., Memisoglu, A., Khayat, M., Shalev, S. A., Spiegel, R. (2013). A novel homozygous TMEM70 mutation results in congenital cataract and neonatal mitochondrial encephalo-cardiomyopathy. *Gene* 515, 197-199.
- Aushev, M., Herbert, M. (2020). Mitochondrial genome editing gets precise. *Nature* 583, 521-522.
- Bakare, A. B., Lesnefsky, E. J., Iyer, S. (2021). Leigh Syndrome: A Tale of Two Genomes. *Front Physiol* 12, 693734.

- Baráková D., Bayer M., Červenka S., et al. (2022). Dětská oftalmologie Klinické a mezioborové souvislosti (1.), Grada Publishing, a.s., Prague.
- Berardo, A., DiMauro, S., Hirano, M. (2010). A diagnostic algorithm for metabolic myopathies. *Curr Neurol Neurosci Rep* 10, 118-126.
- Bereiter-Hahn, J., Voth, M. (1994). Dynamics of mitochondria in living cells: shape changes, dislocations, fusion, and fission of mitochondria. *Microsc Res Tech* 27, 198-219.
- Blum, S., Robertson, T., Klingberg, S., Henderson, R. D., McCombe, P. (2011). Atypical clinical presentations of the A3243G mutation, usually associated with MELAS. *Intern Med J* 41, 199-202.
- Boczonadi, V., Bansagi, B., Horvath, R. (2015). Reversible infantile mitochondrial diseases. *J Inherit Metab Dis* 38, 427-435.
- Bohm, M., Pronicka, E., Karczarewicz, E., Pronicki, M., Piekutowska-Abramczuk, D., Sykut-Cegielska, J., Mierzewska, H., Hansikova, H., Vesela, K., Tesarova, M., et al. (2006). Retrospective, multicentric study of 180 children with cytochrome C oxidase deficiency. *Pediatr Res* 59, 21-26.
- Brambilla, A., Favilli, S., Olivotto, I., Calabri, G. B., Porcedda, G., De Simone, L., Procopio, E., Pasquini, E., Donati, M. A. (2019). Clinical profile and outcome of cardiac involvement in MELAS syndrome. *Int J Cardiol* 276, 14-19.
- Brown, G. K., Scholem, R. D., Hunt, S. M., Harrison, J. R., Pollard, A. C. (1987). Hyperammonaemia and lactic acidosis in a patient with pyruvate dehydrogenase deficiency. *J Inherit Metab Dis* 10, 359-366.
- Brunel-Guitton, C., Levtova, A., Sasarman, F. (2015). Mitochondrial Diseases and Cardiomyopathies. *Can J Cardiol* 31, 1360-1376.
- Burger, G., Gray, M. W., Lang, B. F. (2003). Mitochondrial genomes: anything goes. *Trends Genet* 19, 709-716.
- Calvo, S. E., Mootha, V. K. (2010). The mitochondrial proteome and human disease. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 11, 25-44.
- Carelli, Valerio, La Morgia, Chiara, Yu-Wai-Man, Patrick (2023). Chapter 3 - Mitochondrial optic neuropathies, in: Horvath, et al. (Eds.), Handbook of Clinical Neurology, Elsevier, 2023, pp. 23-42.
- Cechova, A., Altassan, R., Borgel, D., Bruneel, A., Correia, J., Girard, M., Harroche, A., Kiec-Wilk, B., Mohnike, K., Pascreau, T., et al. (2020). Consensus guideline for the diagnosis and management of mannose phosphate isomerase-congenital disorder of glycosylation. *J Inherit Metab Dis* 43, 671-693.
- Cizkova, A., Stranecky, V., Mayr, J. A., Tesarova, M., Havlickova, V., Paul, J., Ivanek, R., Kuss, A. W., Hansikova, H., Kaplanova, V., et al. (2008). TMEM70 mutations cause isolated

- ATP synthase deficiency and neonatal mitochondrial encephalocardiomyopathy. *Nat Genet* 40, 1288-1290.
- Dahl, H. H., Thorburn, D. R., White, S. L. (2000). Towards reliable prenatal diagnosis of mtDNA point mutations: studies of nt8993 mutations in oocytes, fetal tissues, children and adults. *Hum Reprod* 15 Suppl 2, 246-255.
- Danhelovska, T., Kolarova, H., Zeman, J., Hansikova, H., Vaneckova, M., Lambert, L., Kucerova-Vidrova, V., Berankova, K., Honzik, T., Tesarova, M. (2020). Multisystem mitochondrial diseases due to mutations in mtDNA-encoded subunits of complex I. *BMC Pediatr* 20, 41.
- de Laat, P., Koene, S., van den Heuvel, L. P., Rodenburg, R. J., Janssen, M. C., Smeitink, J. A. (2012). Clinical features and heteroplasmy in blood, urine and saliva in 34 Dutch families carrying the m.3243A > G mutation. *J Inherit Metab Dis* 35, 1059-1069.
- de Laat, P., van Engelen, N., Wetzels, J. F., Smeitink, J. A. M., Janssen, M. C. H. (2019). Five non-mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis and stroke-like episodes phenotype adult patients with m.3243A>G mutation after kidney transplantation: follow-up and review of the literature. *Clin Kidney J* 12, 840-846.
- DiMauro, S. (2013). Luft's Disease, in: Lennarz, Lane (Eds.), *Encyclopedia of Biological Chemistry (Second Edition)*, Academic Press, Waltham, 2013, pp. 760-761.
- DiMauro, S. (2019). A Brief History of Mitochondrial Pathologies. *Int J Mol Sci* 20.
- DiMauro, S., Bonilla, E., Lee, C. P., Schotland, D. L., Scarpa, A., Conn, H., Jr., Chance, B. (1976). Luft's disease. Further biochemical and ultrastructural studies of skeletal muscle in the second case. *J Neurol Sci* 27, 217-232.
- Dudakova, L., Skalicka, P., Davidson, A. E., Sadan, A. N., Chylova, M., Jahnova, H., Anteneova, N., Tesarova, M., Honzik, T., Liskova, P. (2021). Should Patients with Kearns-Sayre Syndrome and Corneal Endothelial Failure Be Genotyped for a TCF4 Trinucleotide Repeat, Commonly Associated with Fuchs Endothelial Corneal Dystrophy? *Genes (Basel)* 12.
- Dvorakova, L., Vlaskova, H., Sarajlija, A., Ramadza, D. P., Poupetova, H., Hrubá, E., Hlavata, A., Bzduch, V., Peskova, K., Storkanova, G., et al. (2017). Genotype-phenotype correlation in 44 Czech, Slovak, Croatian and Serbian patients with mucopolysaccharidosis type II. *Clin Genet* 91, 787-796.
- El-Hattab, A. W., Emrick, L. T., Hsu, J. W., Chanprasert, S., Almannai, M., Craigen, W. J., Jahoor, F., Scaglia, F. (2016). Impaired nitric oxide production in children with MELAS syndrome and the effect of arginine and citrulline supplementation. *Mol Genet Metab* 117, 407-412.

- Eloise, Watson, Ryan, Davis, Carolyn, M. Sue (2020). New diagnostic pathways for mitochondrial disease. *Journal of Translational Genetics and Genomics* 4, 188-202.
- Embryology Authority (2014). Human fertilisation and third scientific review of the safety and efficacy of methods to avoid mitochondrial disease through assisted conception: 2014 update. Report provided to the Human Fertilisation and Embryology Authority (HFEA). http://www.hfea.gov.uk/media/2614/third_mitochondrial_replacement_scientific_review.pdf. 2014.
- Emma, F., Bertini, E., Salviati, L., Montini, G. (2012). Renal involvement in mitochondrial cytopathies. *Pediatr Nephrol* 27, 539-550.
- Fan, X. Y., Yin, S., Luo, S. M. (2023). SQSTM1 and its MAP1LC3B-binding domain induce forced mitophagy to degrade mitochondrial carryover during mitochondrial replacement therapy. *Autophagy* 19, 363-364.
- Farolfi, M., Cechova, A., Ondruskova, N., Zidkova, J., Kousal, B., Hansikova, H., Honzik, T., Liskova, P. (2021). ALG3-CDG: a patient with novel variants and review of the genetic and ophthalmic findings. *BMC Ophthalmol* 21, 249.
- Fattal, O., Link, J., Quinn, K., Cohen, B. H., Franco, K. (2007). Psychiatric comorbidity in 36 adults with mitochondrial cytopathies. *CNS Spectr* 12, 429-438.
- Feddersen, B., Bender, A., Arnold, S., Klopstock, T., Noachtar, S. (2003). Aggressive confusional state as a clinical manifestation of status epilepticus in MELAS. *Neurology* 61, 1149-1150.
- Fernandez Forcelledo, J. L., Lopez Fernandez, E., Misiego Peral, M. M. (2021). Chronic intestinal pseudo-obstruction in MELAS. *Rev Esp Enferm Dig* 113, 152-153.
- Filograna, R., Mennuni, M., Alsina, D., Larsson, N. G. (2021). Mitochondrial DNA copy number in human disease: the more the better? *FEBS Lett* 595, 976-1002.
- Fine, A. L., Liebo, G., Gavrilova, R. H., Britton, J. W. (2021). Seizure Semiology, EEG, and Imaging Findings in Epilepsy Secondary to Mitochondrial Disease. *Front Neurol* 12, 779052.
- Finsterer, J. (2006a). Central nervous system manifestations of mitochondrial disorders. *Acta Neurol Scand* 114, 217-238.
- Finsterer, J. (2006b). Overview on visceral manifestations of mitochondrial disorders. *Neth J Med* 64, 61-71.
- Finsterer, J., Frank, M. (2015). Haematological abnormalities in mitochondrial disorders. *Singapore Med J* 56, 412-419.
- Finsterer, J., Frank, M. (2017). Gastrointestinal manifestations of mitochondrial disorders: a systematic review. *Therap Adv Gastroenterol* 10, 142-154.

- Finsterer, J., Scorza, F. A., Fiorini, A. C., Scorza, C. A. (2020). MEGDEL Syndrome. *Pediatr Neurol* 110, 25-29.
- Gabow, P. A., Kaehny, W. D., Kelleher, S. P. (1982). The spectrum of rhabdomyolysis. *Medicine (Baltimore)* 61, 141-152.
- Galera-Monge, T., Zurita-Diaz, F., Garesse, R., Gallardo, M. E. (2019). The mutation m.13513G>A impairs cardiac function, favoring a neuroectoderm commitment, in a mutant-load dependent way. *J Cell Physiol* 234, 19511-19522.
- Gorman, G. S., Chinnery, P. F., DiMauro, S., Hirano, M., Koga, Y., McFarland, R., Suomalainen, A., Thorburn, D. R., Zeviani, M., Turnbull, D. M. (2016). Mitochondrial diseases. *Nat Rev Dis Primers* 2, 16080.
- Goto, Y., Nonaka, I., Horai, S. (1990). A mutation in the tRNA(Leu)(UUR) gene associated with the MELAS subgroup of mitochondrial encephalomyopathies. *Nature* 348, 651-653.
- Goto, Y., Nonaka, I., Horai, S. (1991). A new mtDNA mutation associated with mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis and stroke-like episodes (MELAS). *Biochim Biophys Acta* 1097, 238-240.
- Govers, L. P., Toka, H. R., Hariri, A., Walsh, S. B., Bockenbauer, D. (2021). Mitochondrial DNA mutations in renal disease: an overview. *Pediatr Nephrol* 36, 9-17.
- Grady, J. P., Pickett, S. J., Ng, Y. S., Alston, C. L., Blakely, E. L., Hardy, S. A., Feeney, C. L., Bright, A. A., Schaefer, A. M., Gorman, G. S., et al. (2018). mtDNA heteroplasmy level and copy number indicate disease burden in m.3243A>G mitochondrial disease. *EMBO Mol Med* 10.
- Guillausseau, P. J., Massin, P., Dubois-LaForgue, D., Timsit, J., Virally, M., Gin, H., Bertin, E., Blickle, J. F., Bouhanick, B., Cahen, J., et al. (2001). Maternally inherited diabetes and deafness: a multicenter study. *Ann Intern Med* 134, 721-728.
- Häberle, J., Boddaert, N., Burlina, A., Chakrapani, A., Dixon, M., Huemer, M., Karall, D., Martinelli, D., Crespo, P. S., Santer, R., et al. (2012). Suggested guidelines for the diagnosis and management of urea cycle disorders. *Orphanet J Rare Dis* 7, 32.
- Hara, H., Wakayama, Y., Kouno, Y., Yamada, H., Tanaka, M., Ozawa, T. (1994). Acute peripheral neuropathy, rhabdomyolysis, and severe lactic acidosis associated with 3243 A to G mitochondrial DNA mutation. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 57, 1545-1546.
- Heard, JM., Vrinten, C., Schlender, M., Bellettato, CM., van Lingen, C., Scarpa, M. (2020). Availability, accessibility and delivery to patients of the 28 orphan medicines approved by the European Medicine Agency for hereditary metabolic diseases in the MetabERN network. *Orphanet Journal of Rare Diseases* 15.

- Heinzer, R., Vat, S., Marques-Vidal, P., Marti-Soler, H., Andries, D., Tobback, N., Mooser, V., Preisig, M., Malhotra, A., Waeber, G., et al. (2015). Prevalence of sleep-disordered breathing in the general population: the HypnoLaus study. *Lancet Respir Med* 3, 310-318.
- Hikmat, O., Naess, K., Engvall, M., Klingenberg, C., Rasmussen, M., Tallaksen, C. M., Brodtkorb, E., Ostergaard, E., de Coo, I. F. M., Pias-Peleiteiro, L., et al. (2020). Simplifying the clinical classification of polymerase gamma (POLG) disease based on age of onset; studies using a cohort of 155 cases. *J Inherit Metab Dis* 43, 726-736.
- Hirano, M., Ricci, E., Koenigsberger, M. R., Defendini, R., Pavlakis, S. G., DeVivo, D. C., DiMauro, S., Rowland, L. P. (1992). Melas: an original case and clinical criteria for diagnosis. *Neuromuscul Disord* 2, 125-135.
- Hirano, Michio, Pitceathly, Robert D. S. (2023). Chapter 2 - Progressive external ophthalmoplegia, in: Horvath, et al. (Eds.), *Handbook of Clinical Neurology*, Elsevier, 2023, pp. 9-21.
- Hirose, Y., Miida, T., Yoshida, K., Kimura, H., Oda, H., Toeda, T., Higuma, N. (1993). High-output heart failure in mitochondrial myopathy: a fulminant form with severe lactic acidosis and rhabdomyolysis. *Intern Med* 32, 798-801.
- Hirschfeld, R. M. (2012). Depression epidemiology and its treatment evolution. *J Clin Psychiatry* 73, e29.
- Holt, I. J., Harding, A. E., Petty, R. K., Morgan-Hughes, J. A. (1990). A new mitochondrial disease associated with mitochondrial DNA heteroplasmy. *Am J Hum Genet* 46, 428-433.
- Honzik, T., Zeman, J. et al. (2016). *Dědičné poruchy metabolismu v kazuistikách*, Mladá fronta a.s., Praha.
- Honzik, T., Tesarova, M., Hansikova, H. et al. (2006). Mitochondriální neurogastrointestinální encefalomyopatie (syndrom MNGIE). *Časopis lékařů českých* 145, 665-670.
- Honzik, T., Tesarova, M., Magner, M., Mayr, J., Jesina, P., Vesela, K., Wenchich, L., Szentivanyi, K., Hansikova, H., Sperl, W., et al. (2012). Neonatal onset of mitochondrial disorders in 129 patients: clinical and laboratory characteristics and a new approach to diagnosis. *J Inherit Metab Dis* 35, 749-759.
- Honzik, T., Tesarova, M., Mayr, J. A., Hansikova, H., Jesina, P., Bodamer, O., Koch, J., Magner, M., Freisinger, P., Huemer, M., et al. (2010). Mitochondrial encephalocardiomyopathy with early neonatal onset due to TMEM70 mutation. *Arch Dis Child* 95, 296-301.
- Honzik, T., Tesarova, M., Vinsova, K., Hansikova, H., Magner, M., Kratochvilova, H., Zamecnik, J., Zeman, J., Jesina, P. (2013). Different laboratory and muscle biopsy findings in a family with an m.8851T>C mutation in the mitochondrial MTATP6 gene. *Mol Genet Metab* 108, 102-105.

- Honzík, T., Zeman J. (2022). Dědičné poruchy metabolismu aminokyselin, organických kyselin a cyklu močoviny. *Ces-slov Pediat* 77, 370-382.
- Horvath, R., Kemp, J. P., Tuppen, H. A., Hudson, G., Oldfors, A., Marie, S. K., Moslemi, A. R., Servidei, S., Holme, E., Shanske, S., et al. (2009). Molecular basis of infantile reversible cytochrome c oxidase deficiency myopathy. *Brain* 132, 3165-3174.
- Houstek, J., Klement, P., Floryk, D., Antonicka, H., Hermanska, J., Kalous, M., Hansikova, H., Hout'kova, H., Chowdhury, S. K., Rosipal, T., et al. (1999). A novel deficiency of mitochondrial ATPase of nuclear origin. *Hum Mol Genet* 8, 1967-1974.
- Hsu, Y. R., Yogasundaram, H., Parajuli, N., Valtuille, L., Sergi, C., Oudit, G. Y. (2016). MELAS syndrome and cardiomyopathy: linking mitochondrial function to heart failure pathogenesis. *Heart Fail Rev* 21, 103-116.
- Chae, J. H., Hwang, H., Lim, B. C., Cheong, H. I., Hwang, Y. S., Kim, K. J. (2004). Clinical features of A3243G mitochondrial tRNA mutation. *Brain Dev* 26, 459-462.
- Chin, J., Marotta, R., Chiotis, M., Allan, E. H., Collins, S. J. (2014). Detection rates and phenotypic spectrum of m.3243A>G in the MT-TL1 gene: A molecular diagnostic laboratory perspective. *Mitochondrion* 17C, 34-41.
- Chocron, E. S., Munkacsy, E., Pickering, A. M. (2019). Cause or casualty: The role of mitochondrial DNA in aging and age-associated disease. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis* 1865, 285-297.
- Chow, J., Rahman, J., Achermann, J. C., Dattani, M. T., Rahman, S. (2017). Mitochondrial disease and endocrine dysfunction. *Nat Rev Endocrinol* 13, 92-104.
- IEMbase (2024). Inborn Errors of Metabolism Knowledgebase. <http://www.iembase.org/index.asp>. 2024.
- Incedy-Farkas, G., Remenyi, V., Gal, A., Varga, Z., Balla, P., Udvardy-Meszaros, A., Bereznai, B., Molnar, M. J. (2012). Psychiatric symptoms of patients with primary mitochondrial DNA disorders. *Behav Brain Funct* 8, 9.
- Inoue, S., Nagayama, M., Aoki, H., Tamura, K., Suzuki, Y., Morita, S., Nakagawa, Y., Yamamoto, I., Inokuchi, S. (2007). Continuous venovenous hemodiafiltration for life-threatening mitochondrial myopathy with lactic acidosis and rhabdomyolysis. *J Intensive Care Med* 22, 240-244.
- Kabunga, P., Lau, A. K., Phan, K., Puranik, R., Liang, C., Davis, R. L., Sue, C. M., Sy, R. W. (2015). Systematic review of cardiac electrical disease in Kearns-Sayre syndrome and mitochondrial cytopathy. *Int J Cardiol* 181, 303-310.
- Kanako, K. I., Sakakibara, N., Murayama, K., Nagatani, K., Murata, S., Otake, A., Koga, Y., Suzuki, H., Uehara, T., Kosaki, K., et al. (2022). BCS1L mutations produce Fanconi syndrome with developmental disability. *J Hum Genet* 67, 143-148.

- Kaufman, K. R., Zuber, N., Rueda-Lara, M. A., Tobia, A. (2010). MELAS with recurrent complex partial seizures, nonconvulsive status epilepticus, psychosis, and behavioral disturbances: case analysis with literature review. *Epilepsy Behav* 18, 494-497.
- Kaufmann, P., Engelstad, K., Wei, Y., Kulikova, R., Oskoui, M., Sproule, D. M., Battista, V., Koenigsberger, D. Y., Pascual, J. M., Shanske, S., et al. (2011). Natural history of MELAS associated with mitochondrial DNA m.3243A>G genotype. *Neurology* 77, 1965-1971.
- Kaufmann, P., Shungu, D. C., Sano, M. C., Jhung, S., Engelstad, K., Mitsis, E., Mao, X., Shanske, S., Hirano, M., DiMauro, S., et al. (2004). Cerebral lactic acidosis correlates with neurological impairment in MELAS. *Neurology* 62, 1297-1302.
- Kennedy, E. P., Lehninger, A. L. (1949). Oxidation of fatty acids and tricarboxylic acid cycle intermediates by isolated rat liver mitochondria. *J Biol Chem* 179, 957-972.
- Khambatta, S., Nguyen, D. L., Beckman, T. J., Wittich, C. M. (2014). Kearns-Sayre syndrome: a case series of 35 adults and children. *Int J Gen Med* 7, 325-332.
- Kmiec, B., Glaser, E., Duncan, O. et al. (2012). Chapter Eleven - Evolution of Protein Import Pathways, in: Maréchal-Drouard (Ed.), *Advances in Botanical Research*, Academic Press, 2012, pp. 315-346.
- Koga, Y., Akita, Y., Nishioka, J., Yatsuga, S., Povalko, N., Tanabe, Y., Fujimoto, S., Matsuishi, T. (2005). L-arginine improves the symptoms of strokelike episodes in MELAS. *Neurology* 64, 710-712.
- Kolarova, H., Liskova, P., Tesarova, M., Kucerova Vidrova, V., Forgac, M., Zamecnik, J., Hansikova, H., Honzik, T. (2016). Unique presentation of LHON/MELAS overlap syndrome caused by m.13046T>C in MTND5. *Ophthalmic Genet* 37, 419-423.
- Koller, H., Kornischka, J., Neuen-Jacob, E., Saleh, A., von Giesen, H. J., Schmiedel, J., Reichmann, H., Hartung, H. P. (2003). Persistent organic personality change as rare psychiatric manifestation of MELAS syndrome. *J Neurol* 250, 1501-1502.
- Kousal, B., Honzik, T., Hansikova, H., Ondruskova, N., Cechova, A., Tesarova, M., Stranecky, V., Meliska, M., Michaelides, M., Liskova, P. (2019a). Review of SRD5A3 Disease-Causing Sequence Variants and Ocular Findings in Steroid 5alpha-Reductase Type 3 Congenital Disorder of Glycosylation, and a Detailed New Case. *Folia Biol (Praha)* 65, 134-141.
- Kousal, B., Kolarova, H., Meliska, M., Bydzovsky, J., Diblik, P., Kulhanek, J., Votruba, M., Honzik, T., Liskova, P. (2019b). Peripapillary microcirculation in Leber hereditary optic neuropathy. *Acta Ophthalmol* 97, e71-e76.
- Krebs, H. A., Johnson, W. A. (1937). Metabolism of ketonic acids in animal tissues. *Biochem J* 31, 645-660.
- Kubáčková a kol., K. (2014). *Vzácná onemocnění v kostce*, Mladá fronta a. s., Praha, 2014, pp. 173-176.

- Kuseyri Hubschmann, O., Horvath, G., Cortes-SaladelaFont, E., Yildiz, Y., Mastrangelo, M., Pons, R., Friedman, J., Mercimek-Andrews, S., Wong, S. N., Pearson, T. S., et al. (2021). Insights into the expanding phenotypic spectrum of inherited disorders of biogenic amines. *Nat Commun* 12, 5529.
- Kuseyri Hubschmann, O., Julia-Palacios, N. A., Olivella, M., Guder, P., Zafeiriou, D. I., Horvath, G., Kulhanek, J., Pearson, T. S., Kuster, A., Cortes-SaladelaFont, E., et al. (2022). Integrative Approach to Predict Severity in Nonketotic Hyperglycinemia. *Ann Neurol* 92, 292-303.
- Kwon, J. H., Kim, J. S. (2003). Rhabdomyolysis in a patient with MELAS syndrome. *Eur Neurol* 50, 123-124.
- La Morgia, C., Ross-Cisneros, F. N., Sadun, A. A., Hannibal, J., Munarini, A., Mantovani, V., Barboni, P., Cantalupo, G., Tozer, K. R., Sancisi, E., et al. (2010). Melanopsin retinal ganglion cells are resistant to neurodegeneration in mitochondrial optic neuropathies. *Brain* 133, 2426-2438.
- Lax, N. Z., Gorman, G. S., Turnbull, D. M. (2017). Review: Central nervous system involvement in mitochondrial disease. *Neuropathol Appl Neurobiol* 43, 102-118.
- Lehmann, D., Kornhuber, M. E., Clajus, C., Alston, C. L., Wienke, A., Deschauer, M., Taylor, R. W., Zierz, S. (2016). Peripheral neuropathy in patients with CPEO associated with single and multiple mtDNA deletions. *Neurol Genet* 2, e113.
- Leshinsky-Silver, E., Levine, A., Nissenkorn, A., Barash, V., Perach, M., Buzhaker, E., Shadmurov, M., Polak-Charcon, S., Lev, D., Lerman-Sagie, T. (2003). Neonatal liver failure and Leigh syndrome possibly due to CoQ-responsive OXPHOS deficiency. *Mol Genet Metab* 79, 288-293.
- Li, J., Zhang, W., Cui, Z., Li, Z., Jiang, T., Meng, H. (2021). Epilepsy Associated With Mitochondrial Encephalomyopathy, Lactic Acidosis, and Stroke-Like Episodes. *Front Neurol* 12, 675816.
- Liskova, P., Tesarova, M., Dudakova, L., Svecova, S., Kolarova, H., Honzik, T., Seto, S., Votruba, M. (2017). OPA1 analysis in an international series of probands with bilateral optic atrophy. *Acta Ophthalmol* 95, 363-369.
- Lofberg, M., Jankala, H., Paetau, A., Harkonen, M., Somer, H. (1998). Metabolic causes of recurrent rhabdomyolysis. *Acta Neurol Scand* 98, 268-275.
- Luft, R., Ikkos, D., Palmieri, G., Ernster, L., Afzelius, B. (1962). A case of severe hypermetabolism of nonthyroid origin with a defect in the maintenance of mitochondrial respiratory control: a correlated clinical, biochemical, and morphological study. *J Clin Invest* 41, 1776-1804.

- Ma, H., Van Dyken, C., Darby, H., Mikhalchenko, A., Marti-Gutierrez, N., Koski, A., Liang, D., Li, Y., Tippner-Hedges, R., Kang, E., et al. (2021). Germline transmission of donor, maternal and paternal mtDNA in primates. *Hum Reprod* 36, 493-505.
- Ma, Y., Fang, F., Cao, Y., Yang, Y., Zou, L., Zhang, Y., Wang, S., Zhu, S., Xu, Y., Pei, P., et al. (2010). Clinical features of mitochondrial DNA m.3243A>G mutation in 47 Chinese families. *J Neurol Sci* 291, 17-21.
- Magner, M., Szentivanyi, K., Svandova, I., Jesina, P., Tesarova, M., Honzik, T., Zeman, J. (2011). Elevated CSF-lactate is a reliable marker of mitochondrial disorders in children even after brief seizures. *Eur J Paediatr Neurol* 15, 101-108.
- Magner, M., Vesela, K., Honzik, T., Jesina, P., Vobruha, V., Petrak, B., Zeman, K., and Klement, P. (2010). Mitochondriální encefalomyopatie na podkladě deficitu proteinu Sco2 s obrazem SMA-like neurogení svalové atrofie – kazuistiky. *Cesk Slov Neurol N* 73, 73-75.
- Mancuso, M., Orsucci, D., Angelini, C., Bertini, E., Carelli, V., Comi, G. P., Donati, A., Minetti, C., Moggio, M., Mongini, T., et al. (2014). The m.3243A>G mitochondrial DNA mutation and related phenotypes. A matter of gender? *J Neurol* 261, 504-510.
- Mancuso, M., Orsucci, D., Ienco, E. C., Pini, E., Choub, A., Siciliano, G. (2013). Psychiatric involvement in adult patients with mitochondrial disease. *Neurol Sci* 34, 71-74.
- Manwaring, N., Jones, M. M., Wang, J. J., Roctchina, E., Howard, C., Mitchell, P., Sue, C. M. (2007). Population prevalence of the MELAS A3243G mutation. *Mitochondrion* 7, 230-233.
- Martin-Hernandez, E., Garcia-Silva, M. T., Vara, J., Campos, Y., Cabello, A., Muley, R., Del Hoyo, P., Martin, M. A., Arenas, J. (2005). Renal pathology in children with mitochondrial diseases. *Pediatr Nephrol* 20, 1299-1305.
- Masters, B. R. (2009). History of the Electron Microscope in Cell Biology, in: Encyclopedia of Life Sciences (ELS), John Wiley & Sons, Ltd: Chichester.
- Max, S. R., Garbus, J., Wehman, H. J. (1972). Simple procedure for rapid isolation of functionally intact mitochondria from human and rat skeletal muscle. *Anal Biochem* 46, 576-584.
- Mazurova, S., Magner, M., Kucerova-Vidrova, V., Vondrackova, A., Stranecky, V., Pristoupilova, A., Zamecnik, J., Hansikova, H., Zeman, J., Tesarova, M., et al. (2017). Thymidine kinase 2 and alanyl-tRNA synthetase 2 deficiencies cause lethal mitochondrial cardiomyopathy: case reports and review of the literature. *Cardiol Young* 27, 936-944.
- Mazurova, S., Tesarova, M., Magner, M., Houstkova, H., Hansikova, H., Augustinova, J., Tomek, V., Vondrackova, A., Zeman, J., Honzik, T. (2013). Novel mutations in the TAZ gene in patients with Barth syndrome. *Prague Med Rep* 114, 139-153.

- Misgeld, T., Schwarz, T. L. (2017). Mitostasis in Neurons: Maintaining Mitochondria in an Extended Cellular Architecture. *Neuron* 96, 651-666.
- Mitchell, P. (1961). Coupling of phosphorylation to electron and hydrogen transfer by a chemiosmotic type of mechanism. *Nature* 191, 144-148.
- Mitomap (2024). Mitomap's Confirmed Pathogenic Mutations. <https://www.mitomap.org/foswiki/bin/view/MITOMAP/ConfirmedMutations>. 2024.
- Miyake, N., Yano, S., Sakai, C., Hatakeyama, H., Matsushima, Y., Shiina, M., Watanabe, Y., Bartley, J., Abdenur, J. E., Wang, R. Y., et al. (2013). Mitochondrial complex III deficiency caused by a homozygous UQCRC2 mutation presenting with neonatal-onset recurrent metabolic decompensation. *Hum Mutat* 34, 446-452.
- Mok, B. Y., de Moraes, M. H., Zeng, J., Bosch, D. E., Kotrys, A. V., Raguram, A., Hsu, F., Radey, M. C., Peterson, S. B., Mootha, V. K., et al. (2020). A bacterial cytidine deaminase toxin enables CRISPR-free mitochondrial base editing. *Nature* 583, 631-637.
- Neill, M. A., Aschner, J., Barr, F., Summar, M. L. (2009). Quantitative RT-PCR comparison of the urea and nitric oxide cycle gene transcripts in adult human tissues. *Mol Genet Metab* 97, 121-127.
- Neupert, W., Herrmann, J. M. (2007). Translocation of proteins into mitochondria. *Annu Rev Biochem* 76, 723-749.
- Ng, Y. S., Bindoff, L. A., Gorman, G. S., Horvath, R., Klopstock, T., Mancuso, M., Martikainen, M. H., McFarland, R., Nesbitt, V., Pitceathly, R. D. S., et al. (2019). Consensus-based statements for the management of mitochondrial stroke-like episodes. *Wellcome Open Res* 4, 201.
- Ng, Y. S., Feeney, C., Schaefer, A. M., Holmes, C. E., Hynd, P., Alston, C. L., Grady, J. P., Roberts, M., Maguire, M., Bright, A., et al. (2016). Pseudo-obstruction, stroke, and mitochondrial dysfunction: A lethal combination. *Ann Neurol* 80, 686-692.
- Ng, Y. S., Lax, N. Z., Blain, A. P., Erskine, D., Baker, M. R., Polvikoski, T., Thomas, R. H., Morris, C. M., Lai, M., Whittaker, R. G., et al. (2022a). Forecasting stroke-like episodes and outcomes in mitochondrial disease. *Brain* 145, 542-554.
- Ng, Y. S., Lim, A. Z., Panagiotou, G., Turnbull, D. M., Walker, M. (2022b). Endocrine Manifestations and New Developments in Mitochondrial Disease. *Endocr Rev* 43, 583-609.
- Ng, Yi Shiau, Gorman, Gráinne S. (2023). Chapter 5 - Stroke-like episodes in adult mitochondrial disease, in: Horvath, et al. (Eds.), *Handbook of Clinical Neurology*, Elsevier, 2023, pp. 65-78.
- Olimpio, C., Tiet, M. Y., Horvath, R. (2021). Primary mitochondrial myopathies in childhood. *Neuromuscul Disord* 31, 978-987.

- Opladen, T., Cortes-Saladelafont, E., Mastrangelo, M., Horvath, G., Pons, R., Lopez-Laso, E., Fernandez-Ramos, J. A., Honzik, T., Pearson, T., Friedman, J., et al. (2016). The International Working Group on Neurotransmitter related Disorders (iNTD): A worldwide research project focused on primary and secondary neurotransmitter disorders. *Mol Genet Metab Rep* 9, 61-66.
- Opladen, T., Lopez-Laso, E., Cortes-Saladelafont, E., Pearson, T. S., Sivri, H. S., Yildiz, Y., Assmann, B., Kurian, M. A., Leuzzi, V., Heales, S., et al. (2020). Consensus guideline for the diagnosis and treatment of tetrahydrobiopterin (BH(4)) deficiencies. *Orphanet J Rare Dis* 15, 126.
- Orphanet (2022). About Rare Diseases. <http://www.orpha.net/national/IE-EN/index/about-rare-diseases/>. 2022.
- Orsucci, D., Caldarazzo Ienco, E., Montano, V., Siciliano, G., Mancuso, M. (2022). Mitochondrial stroke-like episodes: The search for new therapies. *Pharmacol Res* 180, 106228.
- Patchett, D. C., Grover, M. L. (2011). Mitochondrial myopathy presenting as rhabdomyolysis. *J Am Osteopath Assoc* 111, 404-405.
- Pavlakakis, S. G., Phillips, P. C., DiMauro, S., De Vivo, D. C., Rowland, L. P. (1984). Mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis, and strokelike episodes: a distinctive clinical syndrome. *Ann Neurol* 16, 481-488.
- Pearson, H. A., Lobel, J. S., Kocoshis, S. A., Naiman, J. L., Windmiller, J., Lammi, A. T., Hoffman, R., Marsh, J. C. (1979). A new syndrome of refractory sideroblastic anemia with vacuolization of marrow precursors and exocrine pancreatic dysfunction. *J Pediatr* 95, 976-984.
- Pereira, C. V., Moraes, C. T. (2017). Current strategies towards therapeutic manipulation of mtDNA heteroplasmy. *Front Biosci (Landmark Ed)* 22, 991-1010.
- Piekutowska-Abramczuk, D., Magner, M., Popowska, E., Pronicki, M., Karczmarewicz, E., Sykut-Cegielska, J., Kmiec, T., Jurkiewicz, E., Szymanska-Debinska, T., Bielecka, L., et al. (2009). SURF1 missense mutations promote a mild Leigh phenotype. *Clin Genet* 76, 195-204.
- Pineda, M., Mengel, E., Jahnova, H., Heron, B., Imrie, J., Lourenco, C. M., van der Linden, V., Karimzadeh, P., Valayannopoulos, V., Jesina, P., et al. (2016). A Suspicion Index to aid screening of early-onset Niemann-Pick disease Type C (NP-C). *BMC Pediatr* 16, 107.
- Prihodova, I., Nepozitek, J., Kelifova, S., Dostalova, S., Kemlink, D., Sonka, K., Tesarova, M., Honzik, T., Kolarova, H. (2021). Subjective and polysomnographic evaluation of sleep in mitochondrial optic neuropathies. *J Sleep Res* 30, e13051.
- Rahman, S. (2020). Mitochondrial disease in children. *J Intern Med* 287, 609-633.

- Rai, P. K., Russell, O. M., Lightowers, R. N., Turnbull, D. M. (2015). Potential compounds for the treatment of mitochondrial disease. *Br Med Bull* 116, 5-18.
- Ramezani, R. J., Stacpoole, P. W. (2014). Sleep disorders associated with primary mitochondrial diseases. *J Clin Sleep Med* 10, 1233-1239.
- Rath, S., Sharma, R., Gupta, R., Ast, T., Chan, C., Durham, T. J., Goodman, R. P., Grabarek, Z., Haas, M. E., Hung, W. H. W., et al. (2021). MitoCarta3.0: an updated mitochondrial proteome now with sub-organelle localization and pathway annotations. *Nucleic Acids Res* 49, D1541-D1547.
- Rawle, M. J., Lerner, A. J. (2013). NARP Syndrome: A 20-Year Follow-Up. *Case Rep Neurol* 5, 204-207.
- Reddy, P., Ocampo, A., Suzuki, K., Luo, J., Bacman, S. R., Williams, S. L., Sugawara, A., Okamura, D., Tsunekawa, Y., Wu, J., et al. (2015). Selective elimination of mitochondrial mutations in the germline by genome editing. *Cell* 161, 459-469.
- Ribas, G. S., Lopes, F. F., Deon, M., Vargas, C. R. (2022). Hyperammonemia in Inherited Metabolic Diseases. *Cell Mol Neurobiol* 42, 2593-2610.
- Riquin, E., Le Nerze, T., Pasquini, N., Barth, M., Prouteau, C., Colin, E., Amati Bonneau, P., Procaccio, V., Van Bogaert, P., Duverger, P., et al. (2021). Psychiatric Symptoms of Children and Adolescents With Mitochondrial Disorders: A Descriptive Case Series. *Front Psychiatry* 12, 685532.
- Robin, E. D., Wong, R. (1988). Mitochondrial DNA molecules and virtual number of mitochondria per cell in mammalian cells. *J Cell Physiol* 136, 507-513.
- Rodwell, C., Aymé, S. (2014). 2014 Report on the state of the art of rare disease activities in Europe. https://health.ec.europa.eu/publications/report-state-art-rare-disease-activities-europe-2014-edition-part-1-overview-rare-disease-activities_en. 2014.
- Rowland, L. P., Hirano, M., DiMauro, S., Schon, E. A. (1997). Oculopharyngeal muscular dystrophy, other ocular myopathies, and progressive external ophthalmoplegia. *Neuromuscul Disord* 7 Suppl 1, S15-21.
- Sadler, M., Wiles, C. M., Stoodley, N., Linnane, S. J., Smith, A. P. (2002). Ondine's curse in a woman with Leber's hereditary optic neuropathy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 73, 347-348.
- Saudubray, J. M., Marsac, C., Cathelineau, C. L., Besson Leaud, M., Leroux, J. P. (1976). Neonatal congenital lactic acidosis with pyruvate carboxylase deficiency in two siblings. *Acta Paediatr Scand* 65, 717-724.
- Scaglia, F., Towbin, J. A., Craigen, W. J., Belmont, J. W., Smith, E. O., Neish, S. R., Ware, S. M., Hunter, J. V., Fernbach, S. D., Vladutiu, G. D., et al. (2004). Clinical spectrum,

- morbidity, and mortality in 113 pediatric patients with mitochondrial disease. *Pediatrics* 114, 925-931.
- Sekino, Y., Inamori, M., Yamada, E., Ohkubo, H., Sakai, E., Higurashi, T., Iida, H., Hosono, K., Endo, H., Nonaka, T., et al. (2012). Characteristics of intestinal pseudo-obstruction in patients with mitochondrial diseases. *World J Gastroenterol* 18, 4557-4562.
- Shchelochkov, O. A., Li, F. Y., Wang, J., Zhan, H., Towbin, J. A., Jefferies, J. L., Wong, L. J., Scaglia, F. (2010). Milder clinical course of Type IV 3-methylglutaconic aciduria due to a novel mutation in TMEM70. *Mol Genet Metab* 101, 282-285.
- Scheers, I., Berardis, S. (2022). Congenital etiologies of exocrine pancreatic insufficiency. *Front Pediatr* 10, 909925.
- Smith, A. C., Robinson, A. J. (2016). MitoMiner v3.1, an update on the mitochondrial proteomics database. *Nucleic Acids Res* 44, D1258-1261.
- Smits, B. W., Westeneng, H. J., van Hal, M. A., van Engelen, B. G., Overeem, S. (2012). Sleep disturbances in chronic progressive external ophthalmoplegia. *Eur J Neurol* 19, 176-178.
- Sofou, K., De Coo, I. F., Isohanni, P., Ostergaard, E., Naess, K., De Meirleir, L., Tzoulis, C., Uusimaa, J., De Angst, I. B., Lonnqvist, T., et al. (2014). A multicenter study on Leigh syndrome: disease course and predictors of survival. *Orphanet J Rare Dis* 9, 52.
- Sokoloff, L., Mangold, R., Wechsler, R. L., Kenney, C., Kety, S. S. (1955). The effect of mental arithmetic on cerebral circulation and metabolism. *J Clin Invest* 34, 1101-1108.
- Song, S. K., Lee, S. H. (2019). Cardiomyopathy associated with mitochondrial encephalopathy, lactic acidosis and stroke-like episodes (MELAS) syndrome. *QJM* 112, 213-214.
- Spencer, C. T., Bryant, R. M., Day, J., Gonzalez, I. L., Colan, S. D., Thompson, W. R., Berthy, J., Redfearn, S. P., Byrne, B. J. (2006). Cardiac and clinical phenotype in Barth syndrome. *Pediatrics* 118, e337-346.
- Stefanetti, R. J., Ng, Y. S., Errington, L., Blain, A. P., McFarland, R., Gorman, G. S. (2022). 1-Arginine in Mitochondrial Encephalopathy, Lactic Acidosis, and Stroke-like Episodes: A Systematic Review. *Neurology* 98, e2318-e2328.
- Stenton, Sarah, Shimura, Masaru, Piekutowska-Abramczuk, Dorota, Freisinger, Peter, Distelmaier, Felix, Mayr, Johannes, Makowski, Christine, Büchner, Boriana, Alhaddad, Bader, Alston, Charlotte, et al. (2021). Diagnosing pediatric mitochondrial disease: lessons from 2,000 exomes, medRxiv.
- Suzuki, S., Oka, Y., Kadowaki, T., Kanatsuka, A., Kuzuya, T., Kobayashi, M., Sanke, T., Seino, Y., Nanjo, K., Research Committee or Specific Types of Diabetes Mellitus with Gene Mutations of the Japan Diabetes, Society (2003). Clinical features of diabetes mellitus with the mitochondrial DNA 3243 (A-G) mutation in Japanese: maternal inheritance and mitochondria-related complications. *Diabetes Res Clin Pract* 59, 207-217.

- Tesarova, M., Vondrackova, A., Stufkova, H., Veprekova, L., Stranecky, V., Berankova, K., Hansikova, H., Magner, M., Galoova, N., Honzik, T., et al. (2019). Sideroblastic anemia associated with multisystem mitochondrial disorders. *Pediatr Blood Cancer* 66, e27591.
- The Parliament of the Commonwealth of Australia. House of representatives (2022). Mitochondrial Donation Law Reform (Maeve's Law) Bill 2022. A Bill for an Act to amend the law relating to human cloning and research involving human embryos, and for related purposes.
https://parlinfo.aph.gov.au/parlInfo/download/legislation/bills/r6697_aspassed/toc_pdf/21043b01.pdf;fileType=application%2Fpdf. 2022.
- Thorburn, D. R. (2004). Mitochondrial disorders: prevalence, myths and advances. *J Inherit Metab Dis* 27, 349-362.
- Thorburn, D. R., Rahman, J., Rahman, S. (1993). Mitochondrial DNA-Associated Leigh Syndrome and NARP, in: Adam, et al. (Eds.), *GeneReviews*(R), Seattle (WA), 1993.
- van Raam, B. J., Kuijpers, T. W. (2009). Mitochondrial defects lie at the basis of neutropenia in Barth syndrome. *Curr Opin Hematol* 16, 14-19.
- Vanniarajan, A., Nayak, D., Reddy, A. G., Singh, L., Thangaraj, K. (2006). Clinical and genetic uniqueness in an individual with MELAS. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 141B, 440-444.
- Vetrugno, R., Valentino, M. L., La Morgia, C., Liguori, R., Stecchi, S., Mascalchi, M., Fabbri, M., Montagna, P., Carelli, V. (2010). Sleep-related periodic respiration with central sleep apnea in Leber Hereditary Optic Neuropathy (LHON). *Sleep Med* 11, 426-427.
- Vondrackova, A., Vesela, K., Kratochvilova, H., Kucerova Vidrova, V., Vinsova, K., Stranecky, V., Honzik, T., Hansikova, H., Zeman, J., Tesarova, M. (2014). Large copy number variations in combination with point mutations in the TYMP and SCO2 genes found in two patients with mitochondrial disorders. *Eur J Hum Genet* 22, 431-434.
- Votava, F., Adam, T., Honzik, T., Macek, M. et al. (2022). Novorozenecký screening. <https://www.novorozeneckyscreening.cz/nemoci>. 2022.
- Wahbi, K., Bougouin, W., Behin, A., Stojkovic, T., Becane, H. M., Jardel, C., Berber, N., Mochel, F., Lombes, A., Eymard, B., et al. (2015). Long-term cardiac prognosis and risk stratification in 260 adults presenting with mitochondrial diseases. *Eur Heart J* 36, 2886-2893.
- Wachsmuth, M., Hubner, A., Li, M., Madea, B., Stoneking, M. (2016). Age-Related and Heteroplasmy-Related Variation in Human mtDNA Copy Number. *PLoS Genet* 12, e1005939.
- Wallace, D. C., Brown, M. D., Lott, M. T. (1999). Mitochondrial DNA variation in human evolution and disease. *Gene* 238, 211-230.

- Wang, T., Sha, H., Ji, D., Zhang, H. L., Chen, D., Cao, Y., Zhu, J. (2014). Polar body genome transfer for preventing the transmission of inherited mitochondrial diseases. *Cell* 157, 1591-1604.
- Wei, Y., Huang, Y., Yang, Y., Qian, M. (2021). MELAS/LS Overlap Syndrome Associated With Mitochondrial DNA Mutations: Clinical, Genetic, and Radiological Studies. *Front Neurol* 12, 648740.
- Whittaker, R. G., Schaefer, A. M., McFarland, R., Taylor, R. W., Walker, M., Turnbull, D. M. (2007). Prevalence and progression of diabetes in mitochondrial disease. *Diabetologia* 50, 2085-2089.
- Yamada, M., Akashi, K., Ooka, R., Miyado, K., Akutsu, H. (2020). Mitochondrial Genetic Drift after Nuclear Transfer in Oocytes. *Int J Mol Sci* 21.
- Yatsuga, S., Povalko, N., Nishioka, J., Katayama, K., Kakimoto, N., Matsuishi, T., Kakuma, T., Koga, Y., Taro Matsuoka for, Melas Study Group in Japan (2012). MELAS: a nationwide prospective cohort study of 96 patients in Japan. *Biochim Biophys Acta* 1820, 619-624.
- Yen, T. Y., Hwu, W. L., Chien, Y. H., Wu, M. H., Lin, M. T., Tsao, L. Y., Hsieh, W. S., Lee, N. C. (2008). Acute metabolic decompensation and sudden death in Barth syndrome: report of a family and a literature review. *Eur J Pediatr* 167, 941-944.
- Yu-Wai-Man, P., Griffiths, P. G., Chinnery, P. F. (2011). Mitochondrial optic neuropathies - disease mechanisms and therapeutic strategies. *Prog Retin Eye Res* 30, 81-114.
- Yu-Wai-Man, P., Chinnery, P. F. (1993). Leber Hereditary Optic Neuropathy, in: Adam, et al. (Eds.), *GeneReviews*((R)), Seattle (WA), 1993.
- Zech, M., Kopajtich, R., Steinbrucker, K., Bris, C., Gueguen, N., Feichtinger, R. G., Achleitner, M. T., Duzkale, N., Perivier, M., Koch, J., et al. (2022). Variants in Mitochondrial ATP Synthase Cause Variable Neurologic Phenotypes. *Ann Neurol* 91, 225-237.
- Zeviani, M. (2004). Mitochondrial disorders. *Suppl Clin Neurophysiol* 57, 304-312.
- Zhang, J., Liu, H., Luo, S., Lu, Z., Chavez-Badiola, A., Liu, Z., Yang, M., Merhi, Z., Silber, S. J., Munne, S., et al. (2017). Live birth derived from oocyte spindle transfer to prevent mitochondrial disease. *Reprod Biomed Online* 34, 361-368.
- Zheng, H., Zhang, X., Tian, L., Liu, B., He, X., Wang, L., Ding, S., Guo, Y., Cai, J. (2022). Mitochondrial encephalomyopathy with lactic acidosis and stroke-like episodes with an MT-TL1 m.3243A>G point mutation: Neuroradiological features and their implications for underlying pathogenesis. *Front Neurosci* 16, 1028762.
- Zuccarelli, M., Vella-Szjij, J., Serracino-Inglott, A., Borg, J. J. (2020). Treatment of Leber's hereditary optic neuropathy: An overview of recent developments. *Eur J Ophthalmol* 30, 1220-1227.

10. Přílohy