

# Autoreferát disertační práce

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE  
1. LÉKAŘSKÁ FAKULTA



## **Studium přirozeného průběhu vybraných mitochondriálních onemocnění**

MUDr. Veronika Dvořáková

2024

## **Doktorské studijní programy v biomedicíně**

*Univerzita Karlova a Akademie věd České republiky*

**Obor:** Preventivní medicína a epidemiologie

**Předseda oborové rady:** doc. MUDr. Jan Polák, Ph.D., MBA

**Školící pracoviště:** Klinika pediatrie a dědičných poruch metabolismu 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Všeobecné fakultní nemocnice v Praze

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

Disertační práce bude nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněná k nahlížení veřejnosti v tištěné podobě na Oddělení pro vědeckou činnost a zahraniční styky děkanátu 1. lékařské fakulty.

## Obsah

1. Úvod.....	6
1.1. Mitochondriální onemocnění .....	6
1.2. Klinické projevy mitochondriálních onemocnění .....	9
2. Cíle práce .....	12
3. Materiál a metodika .....	13
4. Výsledky a diskuze .....	15
5. Závěry a praktické dopady studie .....	29
6. Literatura.....	30

## 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 močoviny.

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.

## **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.

**Tato teze vznikla na základě následujících publikací (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., Ortiz C., Peña–Quintana L., Ramadža DP., Rodrigues E., Scholl–Bürgi S., Sokal E., Stauffer 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)

# 1. Úvod

Vzácná onemocnění představují rozsáhlou skupinu klinických entit, jejichž výskyt v populaci je méně než 5 z 10 000 obyvatel. V Evropě je postiženo těmito onemocněními 27–36 milionů lidí (Rodwell 2014) a tato skupina celkově zahrnuje asi 8 tisíc klinických jednotek (www.orpha.net). Jsou zde zařazena četná geneticky podmíněná onemocnění, dědičné poruchy metabolismu, vzácné zhoubné nádory a imunodeficity a všechny malignity dětského věku. 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. 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.

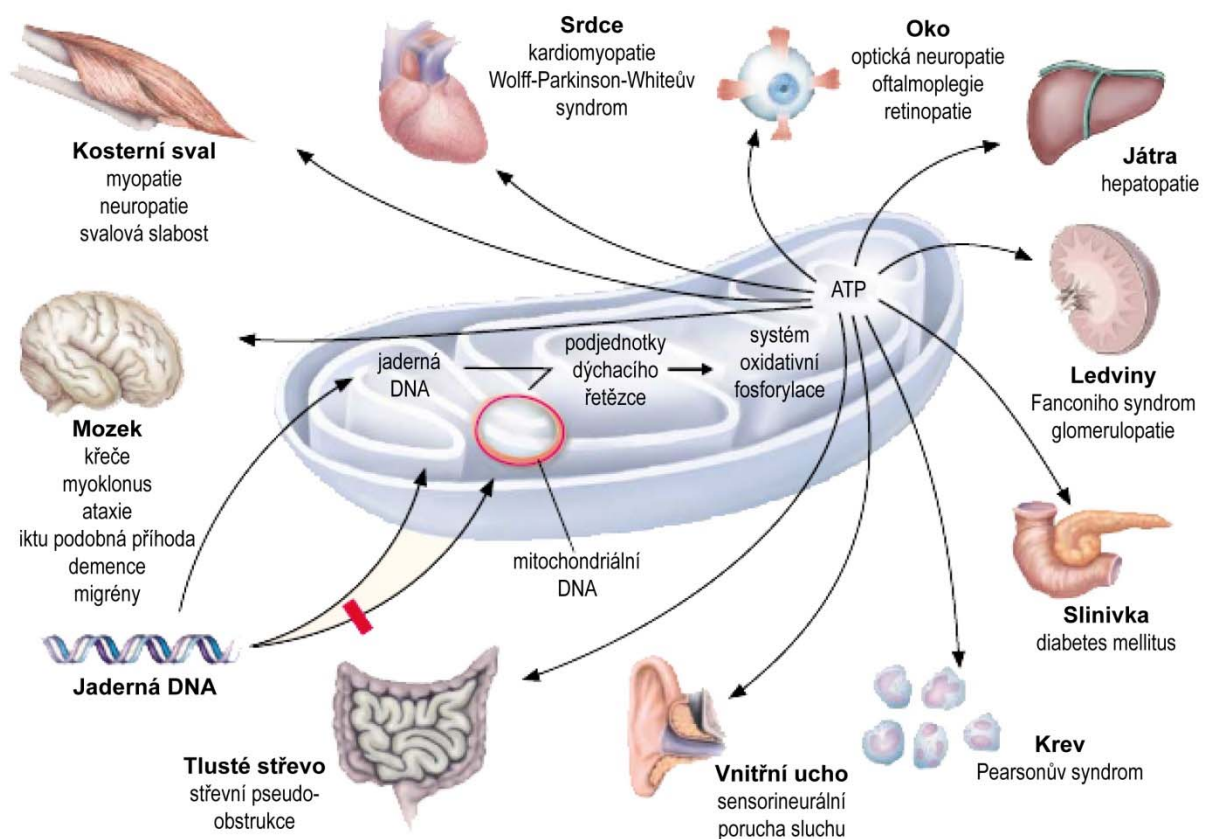
## 1.1. Mitochondriální onemocnění

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.

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). Vzhledem k charakteru maternální dědičnosti není obsah genetické informace

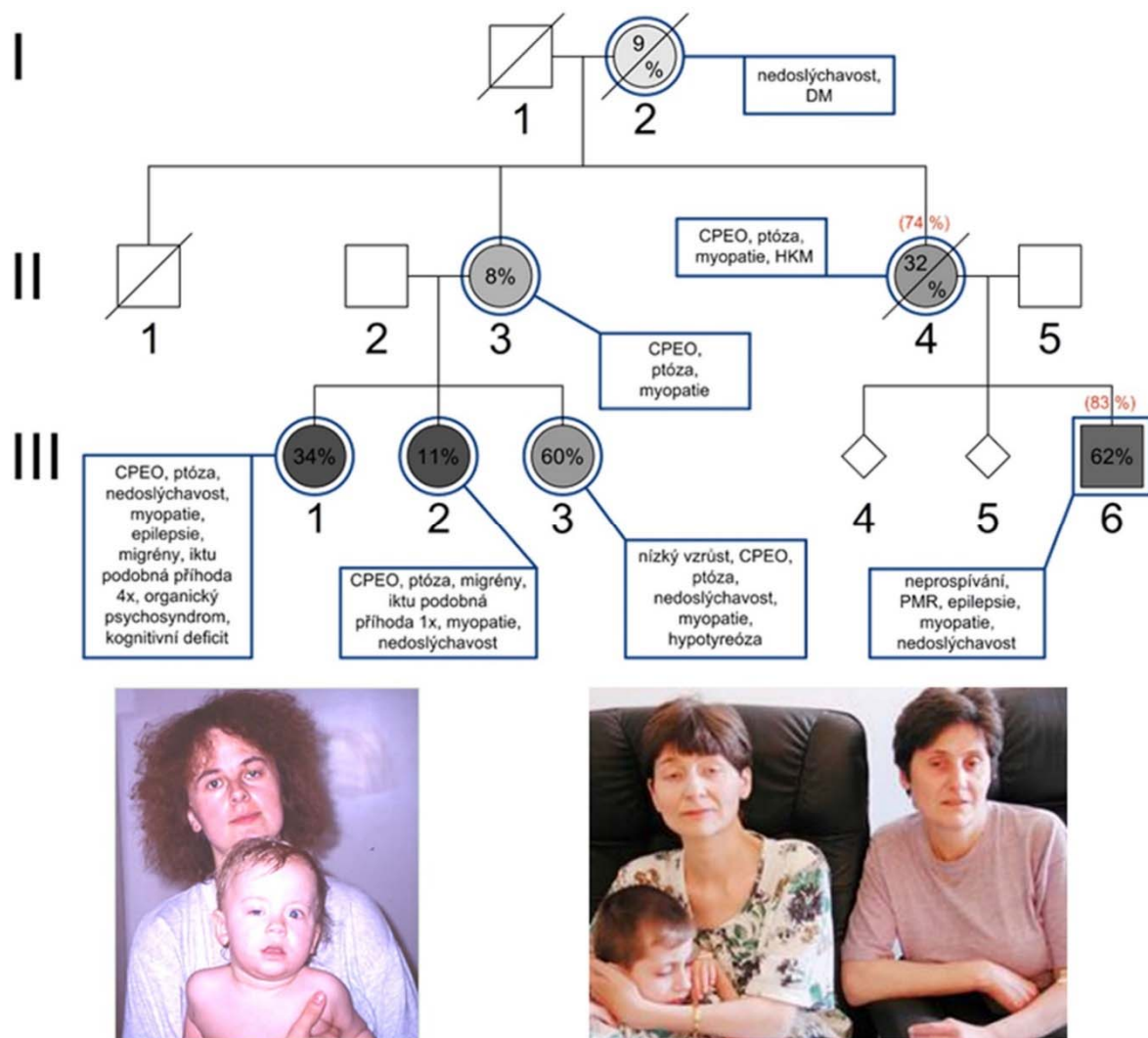
uložené v mitochondriích v každé buňce identický. V průběhu buněčného dělení jsou mitochondrie náhodně segregovány do dceřiných buněk. Mitochondriální DNA je tak mezi nové buňky distribuována zcela náhodně a dochází tak i k nerovnoměrnému rozdělení mutované DNA. Směs mutované a nemutované (wild-type) molekuly mtDNA v buňce se nazývá heteroplazmie (Holt 1990). 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. 2**.

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)





**Obr. 2:** Typický rodokmen MELAS s viditeľnou maternálnou dedičnosťou a variabilnou klinikou, ktorou dokladajú ďalšie dve (iné) rodiny, ktorých fotografie sú pod rodokmenom. Na fotografii vľavo matka, u ktorej je prítomná mierne bilaterálna ptóza, jej dieťa má už však ptózu významnú a jednostrannou. Na fotografii vpravo je patrne zhoršovanie ochorenia v generáciách. Černé je značená hladina heteroplazmie v krvi, červené vo svaloch. Odstín šedi odráža tížňu obtíží (od najsvetlejšej – mierne obtíže, po najtmavšiu – najťažšiu). Hladina heteroplazmie u tejto rodiny nekoreluje s tížňou obtíží. Rodokmen a fotografie zapůjčeny prof. MUDr. Jiřím Zemanem, DrSc. Publikováno se souhlasem pacientů.

## 1.2. Klinické projevy mitochondriálních onemocnění

Klinická manifestace mitochondriálních onemocnění je velmi heterogenní a 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. Přehled nejčastějších mitochondriálních syndromů udává **Tab. 1**. Typické spektrum fenotypových projevů u pacientů s deficitem TMEM70 ukazuje **Obr. 3**.

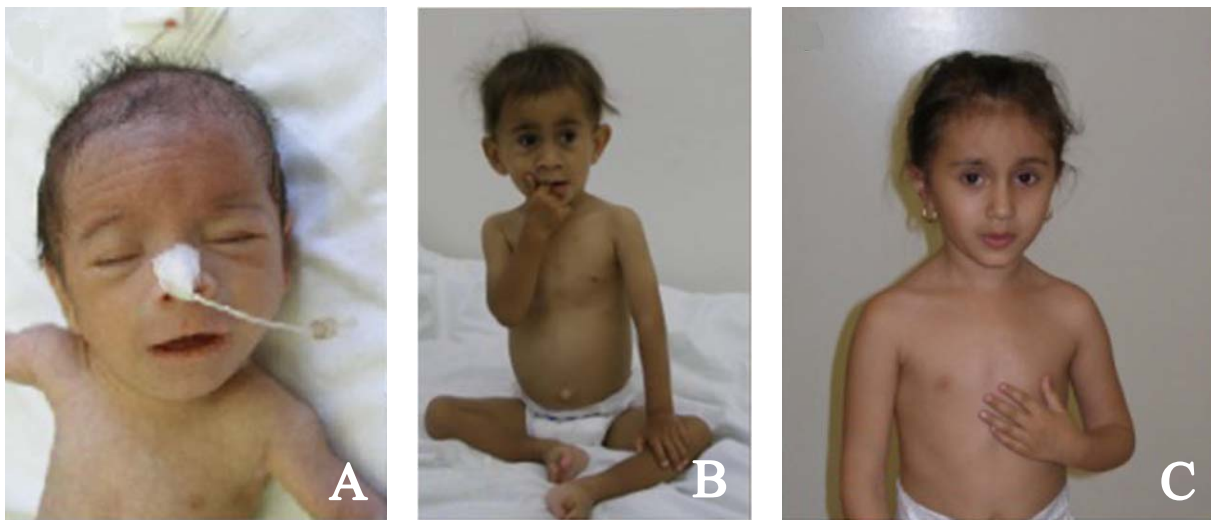
Výskyt neuropsychiatrických projevů je v dospělé populaci pacientů s mitochondriálním onemocněním udáván v 60-70 % (Fattal 2007, Mancuso 2013), na rozdíl od jinak zdravé populace, kde je zachycen v cca 20-30 % (Inczedy-Farkas 2012, Mancuso 2013). Patrný značný rozdíl potvrzuje významný dopad dysfunkce 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).

Nález hyperamonémie je typickým projevem dědičných poruch metabolismus z okruhu poruch cyklu močoviny, organických acidurií a beta oxidace mastných kyselin s dlouhým řetězcem, nicméně je velmi neobvyklý u pacientů s mitochondriálním onemocněním (Ribas 2022). Byl již opakovaně popsán u pacientů s deficitem TMEM70 a dále pouze v ojedinělých kazuistikách pacientů s mitochondriálním onemocněním. Dle našeho názoru je jeho podkladem kritický nedostatek ATP pro enzym karbamoylfosfát syntetázu při deficitu ATP syntázy komplexu oxidativní fosforylace v období katabolismu. Bez ATP nemůže CPS detoxifikovat amoniak, dochází k jeho hromadění a projevům jeho neurotoxicity. Terapeuticky lze tento proces částečně ovlivnit infuzní terapií se zvýšeným příjmem glukózy a lipidů a podáním látek snižujících hladinu amonémie. Zásadním úkolem je prevence rozvoje katabolismu pomocí frekventní stravy, podávání alkalizačních roztoků a suplementace L-karnitinem, koenzymem Q či riboflavinem,

**Tab. 1:** Nejčastější mitochondriální syndromy dle (Finsterer 2006, 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 dřev, exokrinní pankreas, játra, ledviny, mozek
Chronická progresivní externí oftalmoplegie (CPEO)	SLSMD	Ptóza, mírná proximální svalová slabost	Kosterní svalstvo
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



**Obr. 3:** Spektrum fenotypových projevů u pacientů s deficitem TMEM70: A) Novorozenec s deficitem TMEM70 s typickými dysmorfickými rysy v obličejí (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 obličejí. (Z archivu prof. MUDr. Tomáš Honzíka, Ph.D. Fotografie byly pořízeny se souhlasem rodičů)

## **2. 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.

A2) Charakterizovat psychiatrickou manifestaci pacientů s MELAS syndromem.

### **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.

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

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

### **3. Materiál a metodika**

Detailní popis použitých materiálů a metod je uveden v disertační práci a v jednotlivých originálních článcích.

#### **3.1. Materiál**

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

Do retrospektivní studie týkající se klinického průběhu a sekvence následně se vyskytujících příznaků bylo zahrnuto 50 českých pacientů, u nichž byla diagnostikována prevalentní mutace m.3243A>G v genu *MT-TL1*. Tato kohorta zahrnovala 17 jedinců mužského pohlaví a 33 jedinců ženského pohlaví z 22 vzájemně nepříbuzných rodin. Za účelem zpracování dat byla sestavena databáze pacientů zahrnující klinická a laboratorní data včetně výsledků molekulárně genetických vyšetření. K základnímu biochemickému i metabolickému vyšetření byly využity vzorky krve, moči a likvoru, při zadávání dat bylo rozlišováno, zda odběr proběhl při pravidelné kontrole pacienta, nebo v období metabolické krize. Hladina heteroplazmie byla stanovována v krvi, buňkách vlasových folikulů, buňkách kosterního svalu a uroteliálních buňkách.

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

Do retrospektivní studie bylo zahrnuto pět pacientů ze čtyř rodin ve věku 17 až 53 let (3 ženy a 2 muži). 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**

Data pacientů s deficitem proteinu TMEM70 z 11 center ve světě byla získána formou obsáhlého dotazníku, týkajícího se klinických a laboratorních dat pacientů. Celkem bylo do studie zařazeno 48 pacientů (26 chlapců a 22 dívek). 27 dětí bylo romského etnika s prevalentní mutací c.317-2A>G v homozygotním stavu. U 3 pacientů byla diagnostikována dosud nepopsaná mutace. Konsangvinita byla zaznamenána u 20 rodin.

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

Jedná se o kazuistiku dívky s neobvyklým projevem hyperamonémie v rámci mitochondriálního onemocnění. Retrospektivně byla analyzována klinická a laboratorní data v průběhu febrilního virového infektu s letálním průběhem.

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

Celkem 795 pacientů z 48 metabolických center 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, metylmalonová acidurie, propionová acidurie, isovalerová acidurie, nebo některé ze skupiny poruch cyklů močoviny a syndromu hyperornitinemie–hyperamonémie–homocitrulinurie. Ke shromáždění dat byl použit registr na webovém rozhraní týkající se klinických a biochemických.

## **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. 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 ve všech dostupných vzorcích. 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.

## 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)

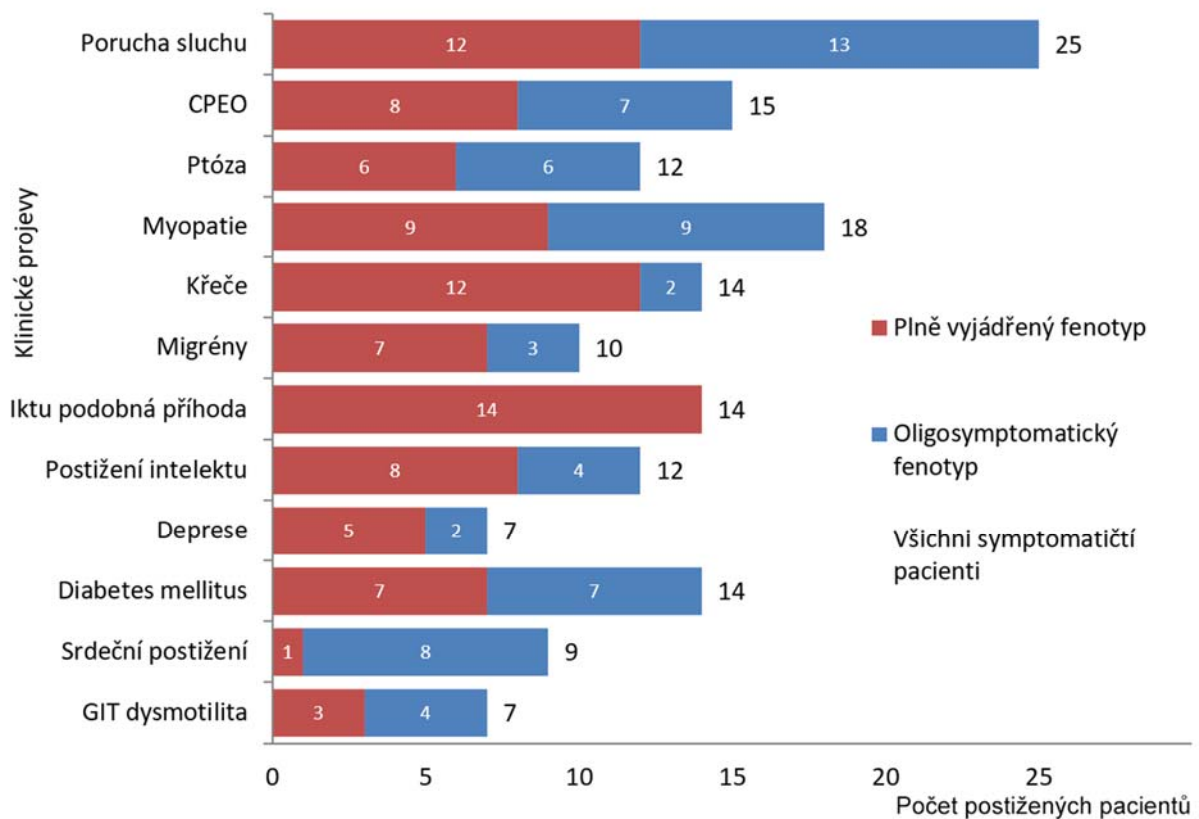
#### 4.1.1. Cíl A1) Popsat fenotypové spektrum 50 nositelů mutace m.3243A>G pomocí vytvořené databáze MELAS pacientů. Zvláštní pozornost byla věnována sekvenci rozvoje klinických příznaků.

Přestože je syndrom MELAS popisován jako multiorgánové onemocnění s přítomností iktu podobných příhod (SLE), v naší retrospektivní studii pouze 66 % jedinců 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). 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**. Přestože se SLE nikdy nevyskytla jako první symptom, poměrně často byla předcházena migrénami. U 70 % pacientů s migrénami později proběhla SLE. Ačkoli je základní onemocnění nevyléčitelné, 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 z MELAS asociovaných příčin. Byl pozorován rozdíl v míře přežití mezi juvenilní a adultní formou ( $p = 0,005$ ; Kaplan Meier **Graf 2**). 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 %). Přestože byl přítomný velký přesah v hladinách heteroplazmie mezi asymptomatickými a symptomatickými pacienty, byla

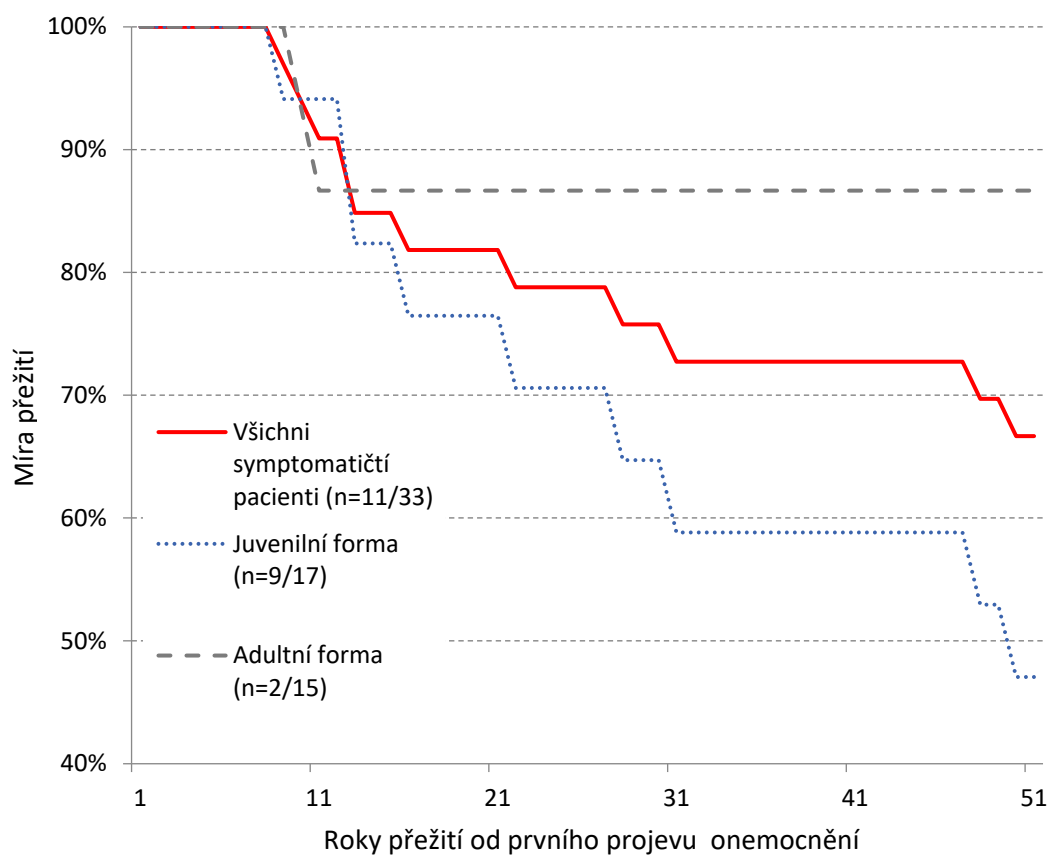


pozorována pozitivní korelace mezi hladinou mutované mtDNA v určitých tkáních (uroepiteliální buňky – UEC, vlasy, krev) a tíží onemocnění, viz **Graf 3**.

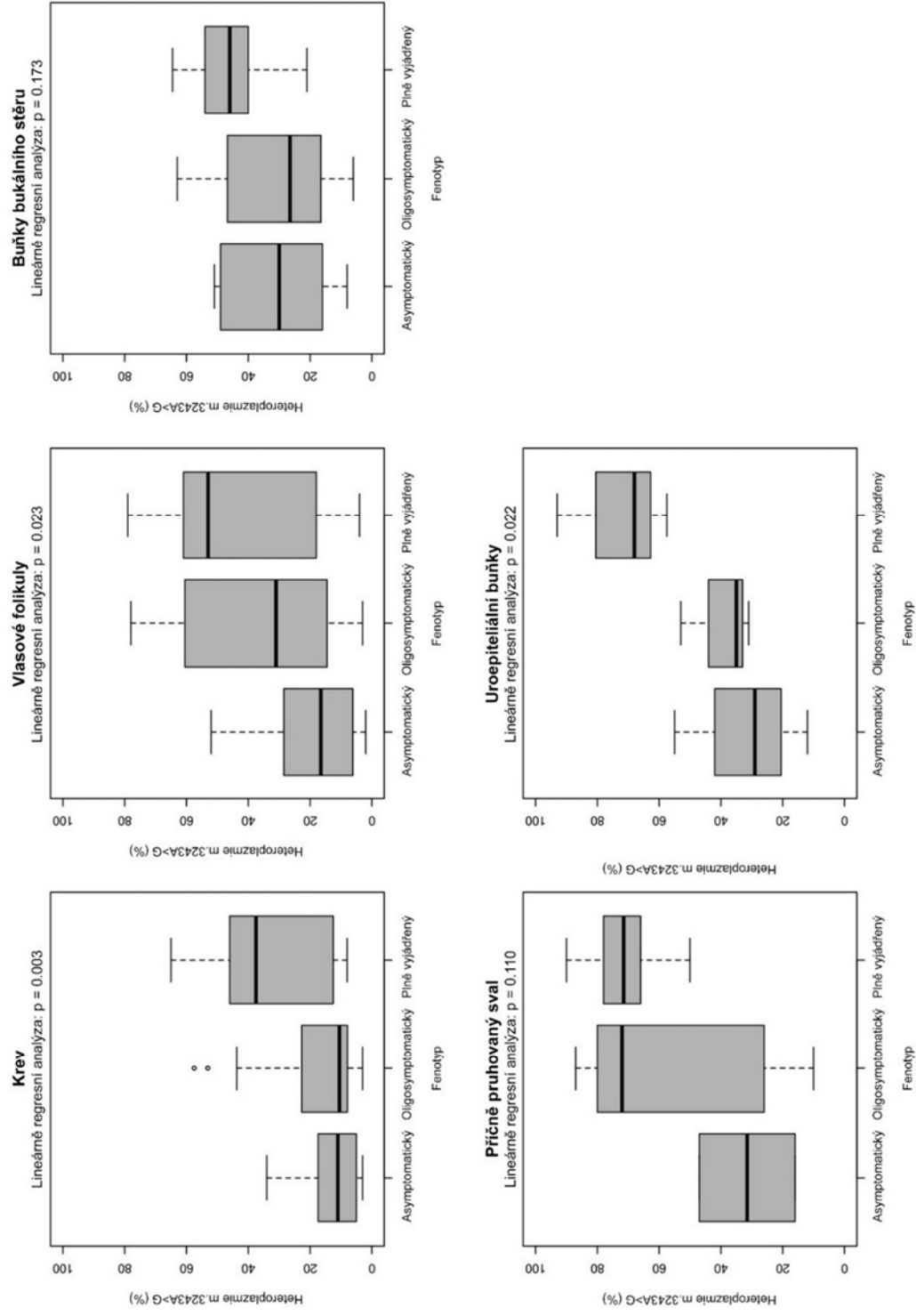
Na základě našich zjištění lze říci, že MELAS syndrom je onemocnění s velmi variabilním průběhem, kdy kterýkoli asociovaný symptom může být prezentující a může zůstat izolován i po velmi dlouhou dobu. Ve studiu klinického průběhu onemocnění byl pozorován častější výskyt migrén před následným rozvojem iktu podobných příhod, z čehož plyne možnost zahájení včasné terapeutické intervence se zabráněním progresu nemoci. Pochopení přirozeného průběhu onemocnění nám umožňuje lépe předvídat jeho další průběh a monitorovat pacienty, případně včas nastavit adekvátní léčbu.



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



**Graf 2:** Kaplan-Meierova křivka přežití u pacientů s MELAS syndromem



**Graf 3:** Hlady heteroplazmie mutace m.3243A>G v jednotlivých tkáních znázorňující rozdíly mezi pacienty s různě vyjádřenou tíží onemocnění.

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

V 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. 2**, psychiatrická manifestace viz **Tab. 3**. 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.

**Tab. 2:** 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. 3:** Psychiatrické symptomy pěti pacientů s MELAS syndromem

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

## **4.2. Cíl B) Zhodnotit klinický průběh dalších mitochondriálních onemocnění**

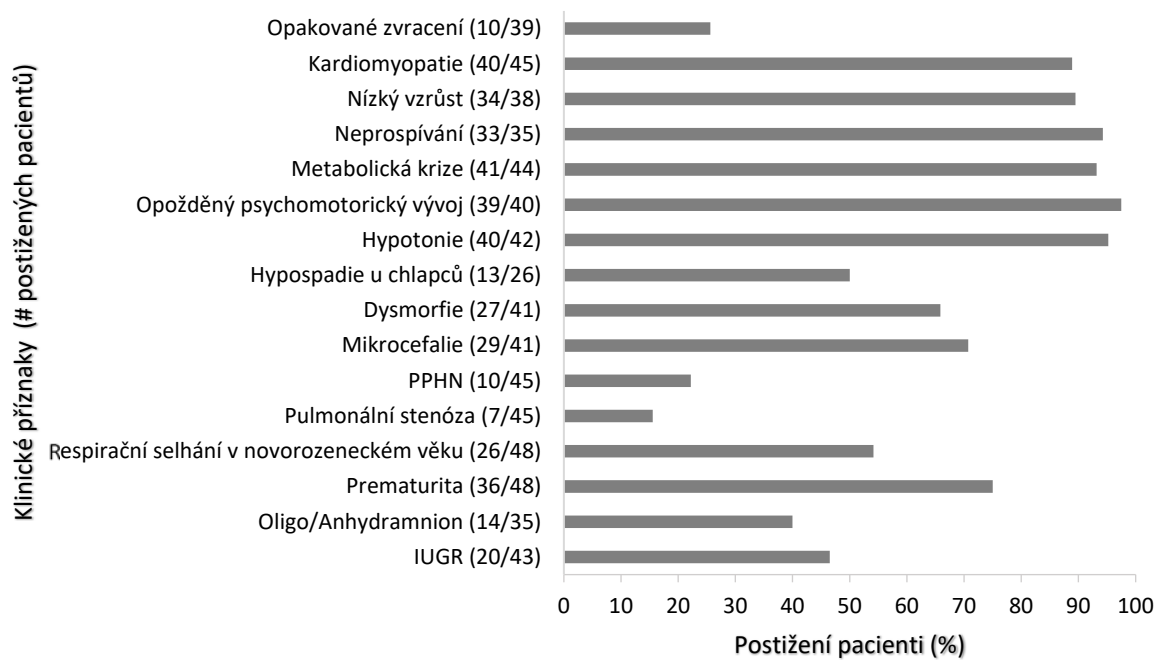
### **4.2.1. Cíl B1) Detailně analyzovat variabilitu klinických projevů u 48 pacientů s deficitem TMEM70 v rámci multicentrické mezinárodní spolupráce**

Onemocnění pacientů s deficitem TMEM70 se nejčastěji manifestovalo v novorozeneckém období (41 pacientů), ve většině těchto případů během prvního dne života (33 dětí) nebo během prvního týdne života (5 dětí). 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, hypotonie, opoždění růstu, nízký vzrůst, neprogresivní kardiomyopatie, mikrocefalie, faciální dysmorfie, hypospadiie, persistentní plicní hypertenze novorozence a Wolffův–Parkinsonův–Whiteův syndrom, viz **Graf 4**. 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. 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. 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. 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. 4**

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.

## Výskyt klinických příznaků u pacientů s deficitem TMEM70



**Graf 4:** Výskyt nejčastějších symptomů u pacientů s diagnózou deficitu TMEM70  
 Zkratky: PPHN perzistující plicní hypertenze novorozence; IUGR intrauterinní růstová restrikce (intrauterine growth restriction)



**Tab. 4:** 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 <sup>§</sup>	Ano	Ano	Iniciálně podat pouze 2/3 k věku stanovené dávky <sup>£</sup>
Časně zahájit podání emulze lipidů v dávce až 3,5 g/kg/den	Ne <sup>Δ</sup>	Ano	Ano	Snížit vysokou dávkou lipidů po 48 (-72) hodinách, denně monitorovat hladinu triglyceridů <sup>Ψ</sup>
Zvážit terapii scavengerem amoniaku, L-argininem nebo dokonce N-karbamylglutamátem, v závislosti na hladině amoniaku	Ano <sup>Ω</sup>	Ne	Ano	Doporučeno standardní dávkování <sup>Ω</sup> . Mímotělní detoxifikace by měla být zahájena, pokud hladina amoniaku v krvi přesáhne 400–500 μmol/l <sup>¶</sup> nebo pokud není přítomna adekvátní odpověď na léčbu po 3–6 hodinách
Upravit acidózu podáním bikarbonátu i.v.	Ano <sup>Ω</sup>	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 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. V biochemickém vyšetření byl přítomen nálezný metabolické acidózy, zvýšené hladiny kreatinkinázy, amoniaku (269  $\mu\text{mol/l}$ , norma < 60) a v likvoru také laktátu. Právě zvýšená hladina amoniaku činí tento nálezný 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 nálezný korespondující diagnóze Leighova syndromu.

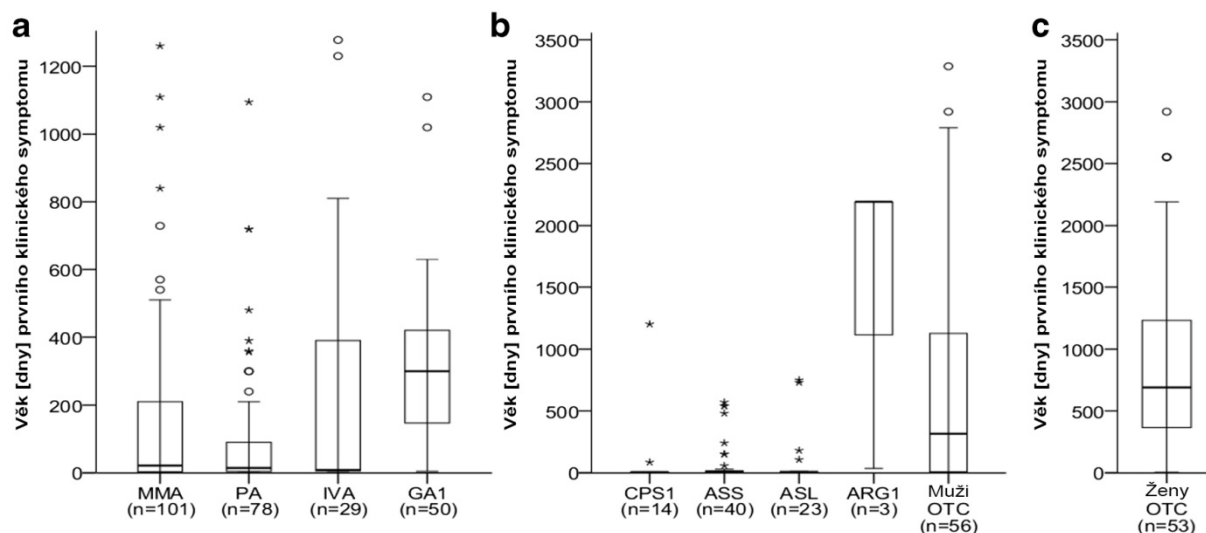
Přestože je hyperamonémie u pacientů s mitochondriálním onemocněním ojedinělým nálezem, je nutné na vyšetření hladiny amoniaku pamatovat, a to zejména při jakémkoli akutním zhoršení stavu. Mutace m.8851T>C rozšiřuje diferenciální diagnostiku hyperamonémie o další diagnózu z řad mitochondriálních onemocnění.

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

S cílem vytvoření diagnostických a léčebných postupů byl konsorciem E-IMD 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 močoviny, z toho 38 pacientů sledovaných na našem pracovišti. Z celkového počtu 795 jedinců bylo 69 % symptomatických. Nejčastějšími klinickými jednotkami byl deficit ornitintraskarbamylázy (n = 196), glutarová acidurie 1. typu (n = 150), metylmalonová acidurie (n = 149) a propionová acidurie (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 5**.

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. 5**. K rozvoji metabolické krize došlo u 40 % pacientů v novorozeneckém věku, přesto se překvapivě vysoké procento pacientů (60 %) 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. Symptomatictí pacienti, u kterých neproběhla metabolická krize (16 %) se nejčastěji prezentovali poruchou hybnosti, poruchou vývoje intelektu, epilepsií a pouze u pacientů s poruchou cyklu močoviny psychiatrickým onemocněním. Výše uvedené symptomy mají široké spektrum diferenciální diagnostiky, což často opožděje stanovení správné diagnózy, nebo vede až k poddiagnostikovanosti.

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 5:** 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, odlehle 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; odlehle hodnoty: vzdálenost ke Q1 nebo Q3 respektive  $\geq 1,5$  a  $\leq 3$  násobek IQR; extrémní hodnoty: vzdálenost ke Q1 nebo Q3 respektive  $> 3$  násobek IQR.

**Tab. 5: 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 /  $\leq$  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

## 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. Literatura

- 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.
- Eloise, Watson, Ryan, Davis, Carolyn, M. Sue (2020). New diagnostic pathways for mitochondrial disease. *Journal of Translational Genetics and Genomics* 4, 188-202.
- 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.
- Finsterer, J. (2006). Overview on visceral manifestations of mitochondrial disorders. *Neth J Med* 64, 61-71.
- 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.
- 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.
- 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., 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.
- Inczedy-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.
- 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.

- 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.
- Rahman, S. (2020). Mitochondrial disease in children. *J Intern Med* 287, 609-633.
- Rai, P. K., Russell, O. M., Lightowlers, R. N., Turnbull, D. M. (2015). Potential compounds for the treatment of mitochondrial disease. *Br Med Bull* 116, 5-18.
- Ribas, G. S., Lopes, F. F., Deon, M., Vargas, C. R. (2022). Hyperammonemia in Inherited Metabolic Diseases. *Cell Mol Neurobiol* 42, 2593-2610.
- 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](https://health.ec.europa.eu/publications/report-state-art-rare-disease-activities-europe-2014-edition-part-1-overview-rare-disease-activities_en). 2014.
- 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.
- Thorburn, D. R. (2004). Mitochondrial disorders: prevalence, myths and advances. *J Inherit Metab Dis* 27, 349-362.
- Wallace, D. C., Brown, M. D., Lott, M. T. (1999). Mitochondrial DNA variation in human evolution and disease. *Gene* 238, 211-230.
- Yu-Wai-Man, P., Chinnery, P. F. (1993). Leber Hereditary Optic Neuropathy, in: Adam, et al. (Eds.), *GeneReviews*((R)), Seattle (WA), 1993.