



Σχολή Επιστημών Υγείας και Πρόνοιας
Τμήμα Βιοϊατρικών Επιστημών
Τομέας Ιατρικών Εργαστηρίων

ΠΡΟΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Αίτια και κληρονομικότητα μιτοχονδριακών νοσημάτων



Όνοματεπώνυμο Φοιτητών (ΑΜ)

Κώστα Ολγκέρτα (62116043) & Μπαρδάκα Ευαγγελία (62116052)

Όνοματεπώνυμο Εισηγητή κ. Επιβλέποντα

Γιαννουλάκη Ελένη, Λέκτορας Πα.Δ.Α

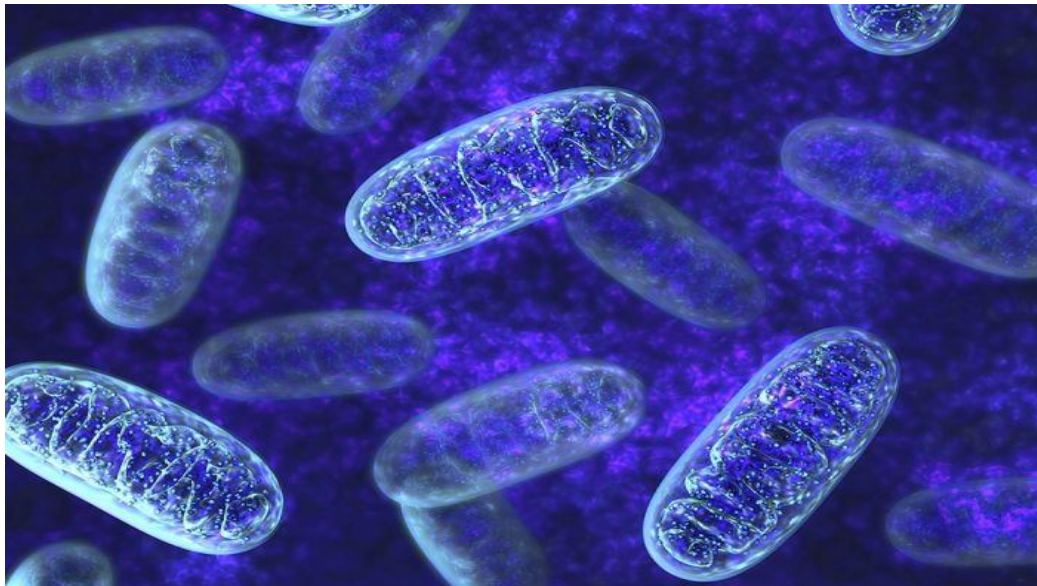
Αθήνα 2021



Faculty of Health and Care Sciences
Department of Biomedical Sciences
Division of Medical Laboratories

PRE-GRADUATE DIPLOMA

Causes and heredity of mitochondrial diseases



Names of Students (CN)

Kosta Olgerta (62116043) & Mpardaka Evangelia (62116052)

Name of Supervisor

Giannoulaki Eleni, Docent Uniwa

Athens 2021

ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Γιαννουλάκη Ελένη

Μπελούκας Απόστολος

Βογιατζάκη Χρυσάνθη

ΔΗΛΩΣΗ ΣΥΓΓΡΑΦΕΑ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Οι κάτωθι υπογεγραμμένες **Μπαρδάκα Ευαγγελία** του **Νικολάου**, με αριθμό μητρώου **62116052** και **Κώστα Ολγκέρτα** του **Χρήστου** με αριθμό μητρώου **62116043** φοιτήτριες του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής της Σχολής **Βιοϊατρικών Επιστημών** του Τμήματος **Ιατρικών Εργαστηρίων** δηλώνουμε υπεύθυνα ότι:

«Είμαστε συγγραφείς αυτής της πτυχιακής/διπλωματικής εργασίας και ότι κάθε βοήθεια την οποία είχαμε για την προετοιμασία της είναι πλήρως αναγνωρισμένη και αναφέρεται στην εργασία. Επίσης, οι όποιες πηγές από τις οποίες κάναμε χρήση δεδομένων, ιδεών ή λέξεων, είτε ακριβώς είτε παραφρασμένες, αναφέρονται στο σύνολό τους, με πλήρη αναφορά στους συγγραφείς, τον εκδοτικό οίκο ή το περιοδικό, συμπεριλαμβανομένων και των πηγών που ενδεχομένως χρησιμοποιήθηκαν από το διαδίκτυο. Επίσης, βεβαιώνουμε ότι αυτή η εργασία έχει συγγραφεί από εμάς αποκλειστικά και αποτελεί προϊόν πνευματικής ιδιοκτησίας τόσο δικής μας, όσο και του Ιδρύματος.

Παράβαση της ανωτέρω ακαδημαϊκής μας ευθύνης αποτελεί ουσιώδη λόγο για την ανάκληση του πτυχίου μας».

Οι Δηλούσες

Μπαρδάκα Ευαγγελία



Κώστα Ολγκέρτα



Ευχαριστίες

Θα θέλαμε να ευχαριστήσουμε την διδάκτορα, κ. Ελένη Γιαννουλάκη που μας πρόσφερε την ευκαιρία να συνεργαστούμε για την εκπόνηση της διπλωματικής μας εργασίας σε ένα τόσο ενδιαφέρον θέμα. Επιπλέον, την ευχαριστούμε για την καθοδήγηση και την υποστήριξη όλο αυτό το χρονικό διάστημα.

Επίσης, οφείλουμε ένα μεγάλο ευχαριστώ στις οικογένειες μας, που μας στηρίζουν σε κάθε μας βήμα.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Περίληψη.....	X
Abstract.....	XI
Κεφάλαιο 1: Εισαγωγή.....	1
1.1. Μιτοχόνδρια.....	1
1.2. Η ιστορία των μιτοχονδρίων.....	1
1.3. Δομή των μιτοχονδρίων.....	2
1.4. Λειτουργίες των μιτοχονδρίων.....	5
<i>1.4.1.Σύντηξη και διαίρεση των μιτοχονδρίων.....</i>	<i>5</i>
<i>1.4.2.Παραγωγή ενέργειας.....</i>	<i>10</i>
<i>1.4.3.Παραγωγή δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS).....</i>	<i>16</i>
<i>1.4.4.Σηματοδότηση ασβεστίου.....</i>	<i>17</i>
<i>1.4.5.Απόπτωση.....</i>	<i>18</i>
<i>1.4.6.Μιτοφαγία.....</i>	<i>18</i>
<i>1.4.7.Μιτοχονδριακή Βιογένεση.....</i>	<i>19</i>
<i>1.4.8.Επίδραση μιτοχονδρίων στην ανοσολογική απόκριση.....</i>	<i>20</i>
Κεφάλαιο 2: Μιτοχονδριακό DNA.....	21
2.1.Γενικά.....	21
<i>2.1.1.Αντιγραφή.....</i>	<i>22</i>
<i>2.1.2.Μεταγραφή.....</i>	<i>25</i>
<i>2.1.3.Μετάφραση.....</i>	<i>26</i>
2.2. Διαφορές πυρηνικού – μιτοχονδριακού DNA.....	29
2.3. Κληρονομικότητα του μιτοχονδριακού γενετικού υλικού.....	30
Κεφάλαιο 3: Μεταλλάξεις του μιτοχονδριακού DNA.....	32
3.1. Αίτια μιτοχονδριακών μεταλλάξεων.....	32
3.2. Δομή και μεταλλάξεις των μιτοχονδριακών tRNA.....	33
3.3. Κληρονόμηση μιτοχονδριακών ασθενειών.....	35

3.4. Κλινικοί φαινότυποι μεταλλάξεων.....	38
Κεφάλαιο 4: Μιτοχονδριακές Ασθένειες.....	39
4.1. Εισαγωγή στις μιτοχονδριακές ασθένειες.....	39
4.2. Μιτοχονδριακές ασθένειες που προκαλούνται από μεταλλάξεις στο mtDNA.....	40
4.2.1. MELAS.....	43
4.2.2. MERRF.....	47
4.2.3. LHON.....	52
4.2.4. CPEO.....	57
4.3. Μιτοχονδριακές ασθένειες που προκαλούνται από μεταλλάξεις στο nDNA.....	62
4.4. Άλλες ασθένειες που συνδέονται με μιτοχονδριακές δυσλειτουργίες.....	66
4.4.1. Νόσος Alzheimer.....	66
4.4.2. Νόσος Parkinson.....	67
Συμπέρασμα.....	68
Βιβλιογραφία.....	69

Περίληψη

Τα μιτοχόνδρια θεωρούνται εργοστάσια παραγωγής ενέργειας καθώς ο σημαντικότερος ρόλος τους είναι η τροφοδότηση των οργάνων με ATP για την διεκπεραίωση των ζωτικών λειτουργιών τους. Το μεγαλύτερο μέρος του ATP παράγεται κατά την κυτταρική αναπνοή που χωρίζεται στις μεταβολικές οδούς της γλυκόλυσης, του κύκλου του κιτρικού οξέος και της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης. Το γενετικό τους υλικό αντιγράφεται ανεξάρτητα από το γονιδίωμα του πυρήνα αλλά ο αναδιπλασιασμός τους γίνεται με τη βοήθεια πυρηνικών γονιδίων. Για αυτό το λόγο, τα μιτοχόνδρια χαρακτηρίζονται ως «ημιавтоνομα οργανίδια». Τα τελευταία χρόνια, έχουν βρεθεί ένα πλήθος μεταλλάξεων είτε στο μιτοχονδριακό είτε στο πυρηνικό DNA που οδηγούν σε μία ομάδα ετερογενών γενετικών ασθενειών. Οι μεταλλάξεις στο μιτοχονδριακό DNA (mtDNA) κληρονομούνται μητρικά και πολλές φορές με σποραδικό τρόπο, ενώ οι μεταλλάξεις στο πυρηνικό DNA έχουν κυρίως αυτοσωμικό υπολειπόμενο τύπο κληρονόμησης. Στην παρούσα διπλωματική, αναλύονται οι μιτοχονδριακές ασθένειες που οφείλονται κατά κύριο λόγο σε μεταλλαγές του mtDNA και επηρεάζουν όργανα με υψηλές ενεργειακές ανάγκες όπως ο εγκέφαλος και οι μύες. Αυτές μπορεί να αφορούν ένα όργανο (ασθένεια LHON και CPEO) ή να είναι πολυσυστημικές όπως οι ασθένειες MELAS και MERFF. Σε γενικές γραμμές, η διάγνωση και η θεραπεία των ασθενειών αυτών αποτελούν πρόκληση, γεγονός που στηρίζεται στην πολυπλοκότητα των παραγόντων που παίρνουν μέρος στις πολύτιμες διεργασίες των μιτοχονδρίων.

Abstract

Mitochondria are considered to be the factories of energy production due to their most important role, which is supplying organs with ATP in order to perform their vital functions. Most ATP is produced during cellular respiration, which is divided into the metabolic pathways of glycolysis, the citric acid cycle and oxidative phosphorylation. Their genome is replicated independently from the nuclear genome but their replication is supported by nuclear genes. For this reason, mitochondria are characterized as «semi-autonomous organelles». In recent years, a number of mutations have been found in either mitochondrial or nuclear DNA leading to a group of heterogeneous genetic diseases. Mitochondrial DNA mutations are inherited maternally and often sporadically, while nuclear DNA mutations have mainly autosomal recessive type of inheritance. In the present diploma, mitochondrial diseases that are mainly due to mutations in mtDNA and affect human organs with high energy demands such as brain and muscles are analyzed. These may involve one organ (LHON and CPEO disease) or be myltisystemic such as MELAS and MERFF diseases. In general, the diagnosis and treatment of these diseases is a challenge, which is based on the complexity of the factors involved in the valuable processes of mitochondria.

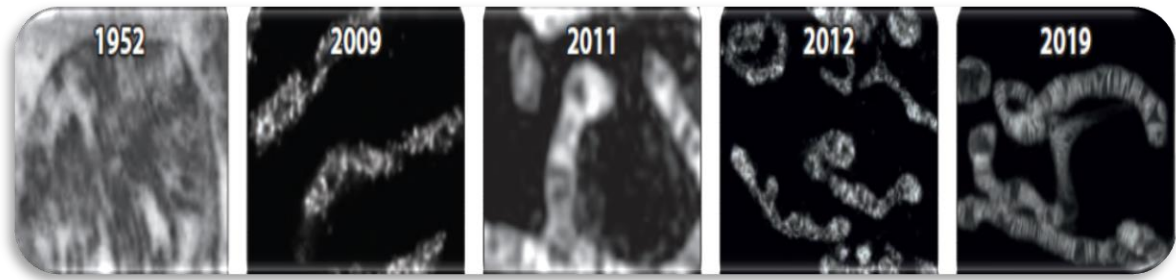
Κεφάλαιο 1: Εισαγωγή

1.1. Μιτοχόνδρια

Ο όρος μιτοχόνδριο προέρχεται από την σύνθεση δυο ελληνικών λέξεων, το [μίτος] που σημαίνει νήμα, κουβάρι και το [χονδρίον] που σημαίνει σβώλος, σφαίρα[1]. Τα μιτοχόνδρια είναι ωοειδή ή επιμήκη οργανίδια τα οποία βρίσκονται στο κυτταρόπλασμα ευκαρυωτικών κυττάρων[2]. Ο σημαντικότερος ρόλος τους είναι η παραγωγή και η εξασφάλιση ενεργείας (ATP) στον οργανισμό, για αυτό πολλές φορές υπακούουν στον όρο «εργοστάσια ενέργειας των κυττάρων»[3]. Επίσης, χαρακτηρίζονται ως «ημιαυτόνομα οργανίδια», χάρη του γενετικού υλικού (mtDNA) που διαθέτουν, για να επιτελέσουν τις βασικές τους λειτουργίες[4].

1.2. Η ιστορία των μιτοχονδρίων

Η εμφάνιση των μιτοχονδρίων έγινε για πρώτη φορά από τον Ελβετό ανατόμο και φυσιολόγο Kölliker το 1857 σε μυϊκά κύτταρα [2], ενώ το 1866 ο Γερμανός Atilmann τα παρατήρησε σε οπτικό μικροσκόπιο και τα χαρακτήρισε ως «συστατικά κύτταρων»[5]. Η λεπτομερής περιγραφή τους, όμως πραγματοποιήθηκε την δεκαετία του 1950 με την χρήση ηλεκτρονικού μικροσκοπίου από τους G.Palade, K.R. Porter, F. Sjostrand και άλλων [6]. (Εικ. 1) Η δημιουργία όμως αυτών των οργανιδίων θεωρείται ότι έχει αρχίσει από πολύ παλιά. Είναι ευρέως γνωστό ότι πριν από 1,5 δισεκατομμύρια χρόνια τα αρχαία ευκαρυωτικά κύτταρα τρεφόντουσαν από αερόβια βακτήρια, για να ανταπεξέλθουν στο πλούσιο με οξυγόνο, περιβάλλον. Υποστηρίζεται ότι τα μιτοχόνδρια είναι οι σύγχρονες μορφές των απόγονων της συμβίωσης των δύο οργανισμών[2]. Η θεωρία αυτή μπορεί να τεκμηριωθεί από την δομή, το γενετικό υλικό και τις γενετικές πληροφορίες που περιέχουν. Έχουν συσχετισθεί με gram αρνητικά βακτήρια[7], τα α-πρωτεοβακτήρια[4], βάση του γονιδιώματος, ενώ έχουν πολλές ομοιότητες με τα ενδοκυττάρια παράσιτα που ονομάζονται ρικέτσιες[8].

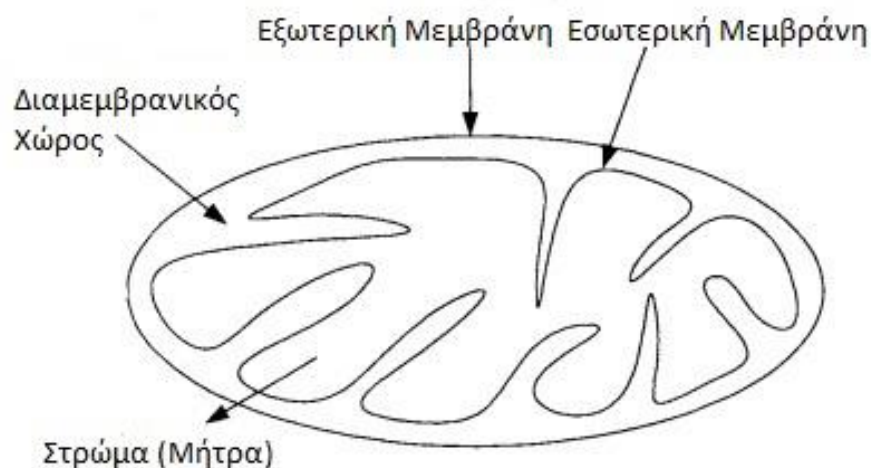


Εικ. 1: Απεικόνιση των μιτοχονδρίων με την πάροδο του χρόνου και την ανάπτυξη της τεχνολογίας. Πλέον μπορούμε να δούμε τα μιτοχόνδρια με μια νέα τεχνολογία, την νανοσκοπηση (2019). (Πηγή: Jakobs, Stefan, et al. "Light microscopy of mitochondria at the nanoscale." *Annual review of biophysics* 49 (2020): 289-308.)

1.3. Δομή των μιτοχονδρίων

Το μιτοχόνδριο είναι ένα κινητό και εύκαμπτο οργανίδιο. Το σχήμα του είναι συνήθως ωοειδές ή νηματοειδές, όμως αρκετές φορές έχει παρατηρηθεί, ότι μεταβάλλεται ανάλογα με το τύπο του κυττάρου, τις συνθήκες και τις ανάγκες του. Το μήκος του κυμαίνεται από 0,5 έως 2,0 μm και η διάμετρος του από 0,1 έως 2,0 μm [9]. Έχει δύο εξειδικευμένες μεμβράνες που το περικλείουν, την εσωτερική και την εξωτερική μεμβράνη. Μεταξύ των δυο μεμβρανών δημιουργούνται δυο θάλαμοι, ένας μικρός που ονομάζεται διαμεμβρανικός χώρος και ένας μεγαλύτερος που ονομάζεται στρώμα (matrix) [10].

(Εικ.2)



Εικ. 2: Βασική δομή μιτοχονδρίου. (Πηγή: Demirel, Yaşar. "Thermodynamic analysis." *Arabian Journal for Science and Engineering* 38.2 (2013): 221-249.)

Εξωτερική Μεμβράνη

Η εξωτερική μεμβράνη είναι λεία, διαπερατή και έχει πάχος 6 nm. Η δομή της υπακούει στο μοντέλο ρευστού μωσαϊκού και η αναλογία των πρωτεϊνών προς τα φωσφολιπίδια είναι 1:1 [9]. Στην λιπιδιακή διπλοστιβάδα υπάρχουν πολλαπλά αντίγραφα μιας πρωτεΐνης, που ονομάζεται *πορίνη*. Η *πορίνη* είναι πρωτεΐνη μεταφορέας, δηλαδή δημιουργεί διαύλους στην μεμβράνη και επιτρέπει σε μόρια με μοριακό βάρος (MB) 5.000 έως 10.000 Daltons να την διαπεράσουν [10].

Εσωτερική Μεμβράνη

Στην εσωτερική μεμβράνη υλοποιείται η οξειδωτική φωσφορυλίωση. Έχει πάχος 6nm και η δομή της είναι σύμφωνη με αυτή του ρευστού μωσαϊκού. Σε αντίθεση με την εξωτερική, η εσωτερική μεμβράνη έχει εσωπυτώσεις και η αναλογία των πρωτεϊνών προς τα φωσφολιπίδια είναι 3:1 [9]. Το μεγαλύτερο ποσοστό των φωσφολιπιδίων αποτελείται από την καρδιολιπίνη, η οποία είναι απαραίτητη για την παραγωγή ενέργειας ATP, τη μορφολογία και τη σταθερότητα της μεμβράνης [11]. Άλλη μια διαφορά της εξωτερικής με την εσωτερική μεμβράνη είναι η μειωμένη διαπερατότητα της [10]. Υπάρχει πρόσβαση μόνο από την αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων ή ETC (electron transport chain), που αποτελείται από τέσσερα σύμπλοκα (I, II, III, IV). Αυτά μεταφέρουν ηλεκτρόνια ενώ αντλούν πρωτόνια από την μήτρα προς το διαμεμβρανικό χώρο [12]. Έκτος από την ETC, στην μεμβράνη, είναι ενσωματωμένα και ένζυμα που είναι υπεύθυνα για την διαδικασία της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης, οι ATPάσες [9]. (Εικ. 3) Αν παρατηρήσουμε καλά μια εικόνα ενός μιτοχονδρίου, θα αντιληφθούμε ότι, μία πλευρά της εσωτερικής μεμβράνης συνάδει με μια επιφάνεια προς το διαμεμβρανικό χώρο (εξωτερικά) και αυτή η πλευρά ονομάζεται *C face* (cytosol), ενώ η επιφάνεια που έχει επαφή με το στρώμα, *M face* (matrix) [10].

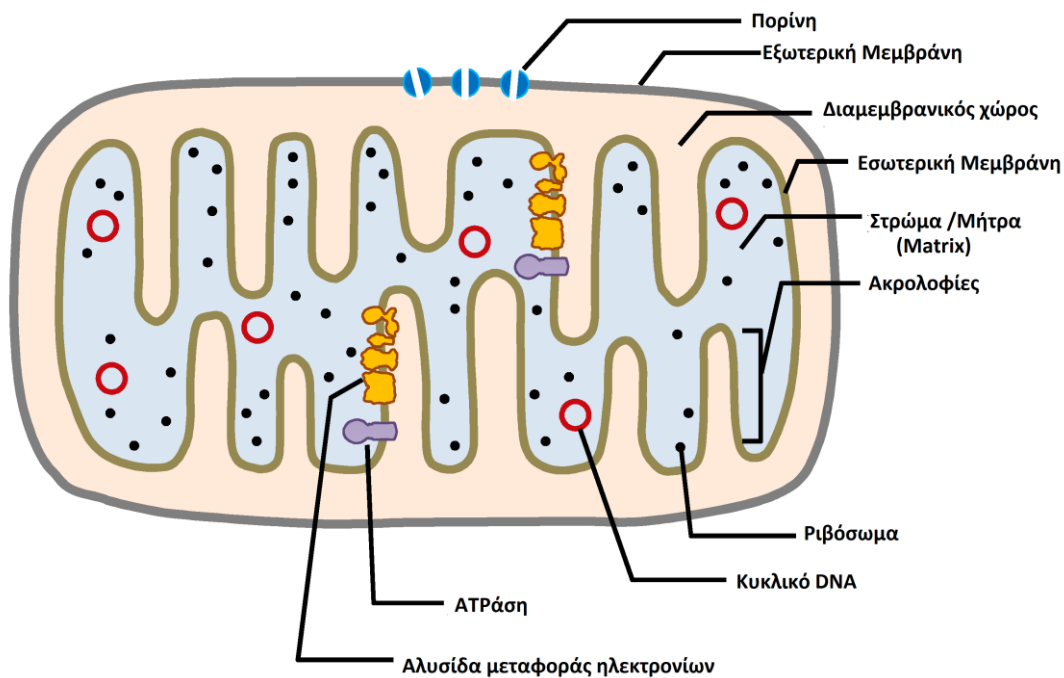
Διαμεμβρανικός χώρος

Ο διαμεμβρανικός ή περιμιτοχονδριακός χώρος είναι το διαμέρισμα μεταξύ της εσωτερικής και εξωτερικής μεμβράνης, πλάτους 6-8 nm [10].

Σε αυτό περιέχεται νερό, οργανικά και ανόργανα λίπη [9], όπως και πολλά ένζυμα που συμβάλλουν στην φωσφορυλίωση [2].

Στρώμα

Στρώμα ή μήτρα (matrix), είναι το μεγαλύτερο τμήμα που δημιουργείται μεταξύ της εξωτερικής και εσωτερικής μεμβράνης, όπου εκτελείται ο Κύκλος του Krebs [2]. Σε αυτό τον χώρο υπάρχει ένα πυκνό μείγμα όπου εμπεριέχει ένζυμα που απαντούν σε οξειδωτικές αντιδράσεις, λιπίδια, πρωτεΐνες, κυκλικό DNA (mtDNA), ριβοσώματα 55S και ορισμένα κοκκίδια (granules), που βοηθούν στην συγκέντρωση και στην μεταφορά ιόντων [10]. Τα granules έχουν διάμετρο 20-25 nm, είναι στρογγυλά και δεν περιβάλλονται από μεμβράνη [13]. Στη μήτρα σχηματίζονται κάποιες αναδιπλώσεις ή ακρολοφίες (crista), που αυξάνουν την επιφάνεια της εσωτερικής μεμβράνης ώστε να εξασφαλιστεί η γρήγορη παραγωγή ATP [8]. (Εικ. 3)



Εικ. 3 :Σχεδιαγραμματική απεικόνιση δομής μιτοχονδρίου . Τα μιτοχόνδρια διαφέρουν σε αριθμό και σε σχήμα ανάλογα με το τύπο και τις ανάγκες του κυττάρου. (Πηγή: Yusoff, Abdul Aziz Mohamed, et al. "Understanding Mitochondrial DNA in Brain Tumorigenesis." *Molecular Considerations and Evolving Surgical Management Issues in the Treatment of Patients with a Brain Tumor* (2015): 3-28.)

1.4. Λειτουργίες των μιτοχονδρίων

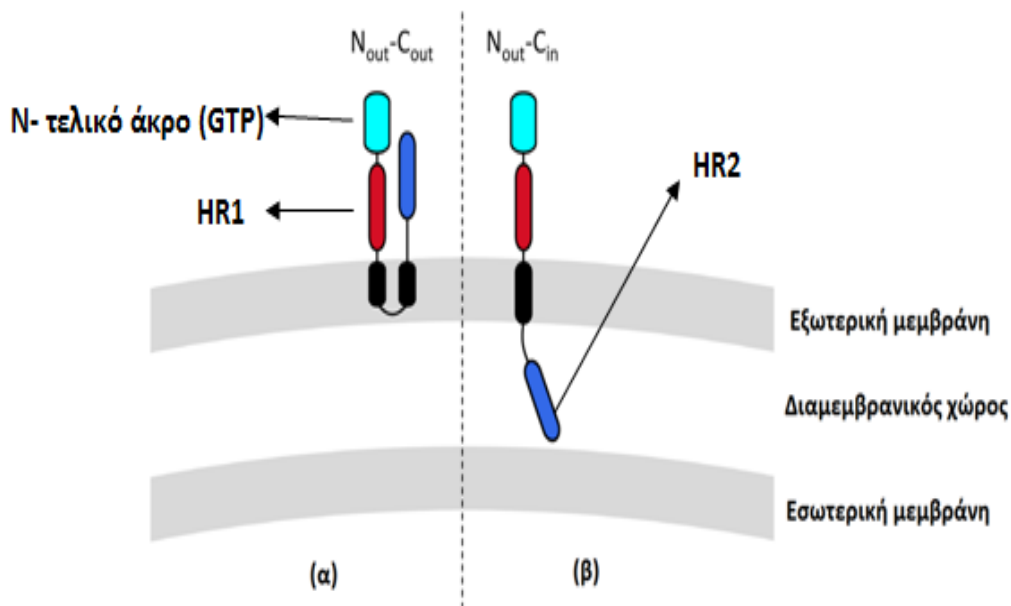
Τα μιτοχόνδρια επιτελούν πολλές ζωτικές λειτουργίες του ευκαρυωτικού κυττάρου μέσω του ορθού συντονισμού τους, όπως η παραγωγή ενέργειας (ATP), η σηματοδότηση του ασβεστίου, η ρύθμιση της ανοσολογικής απόκρισης, η ενεργοποίηση του προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου κ.α.

1.4.1. *Σύντηξη και διαίρεση των μιτοχονδρίων*

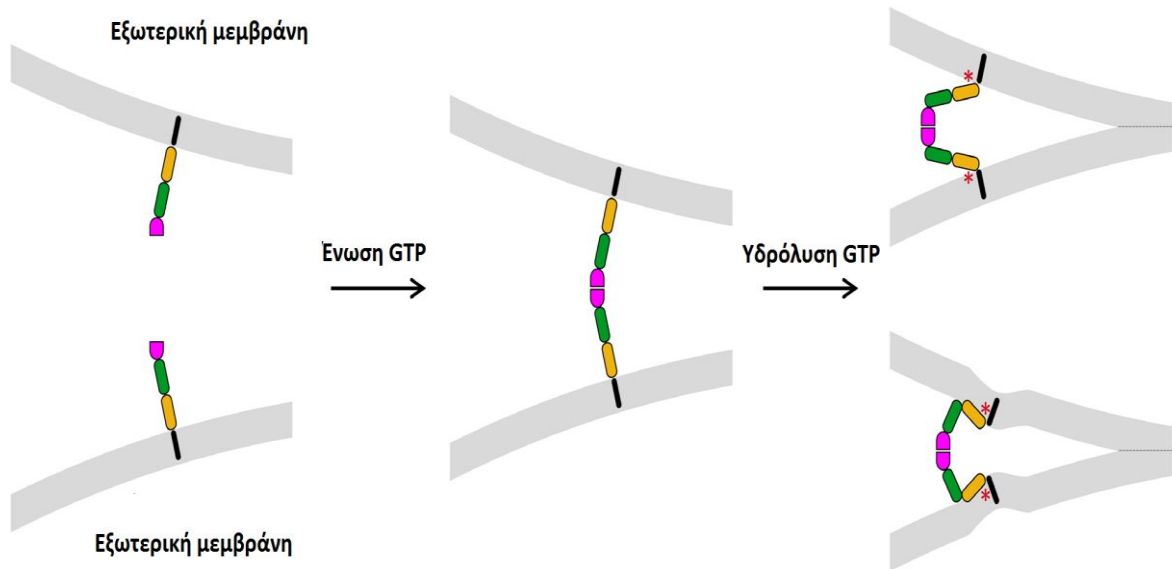
Όπως έχει προαναφερθεί τα μιτοχόνδρια έχουν συνεχώς μεταβαλλόμενο σχήμα . Αυτό συμβαίνει διότι είναι δυναμικά οργανίδια που διαιρούνται και συγχωνεύονται. Η σύντηξη είναι η συγχώνευση της εξωτερικής και στην συνέχεια εσωτερικής μεμβράνης δύο μιτοχονδρίων ή ενός μιτοχονδρίου με άλλο οργανίδιο, ενώ η διαίρεση είναι η διάσπαση ενός μεγάλου μιτοχονδρίου σε δύο μικρότερα [14]. Η διαδικασία της σχάσης είναι εξαιρετικά σημαντική, διότι κατά την κυτταρική διαίρεση (μείωση ή μίτωση) τα μιτοχόνδρια, διαμορφώνονται και αναδιατάσσονται, ώστε να πολλαπλασιαστούν και μεταφερθούν στα θυγατρικά κύτταρα. Αντίστοιχα η διαδικασία της σύντηξης είναι ωφέλιμη, επειδή μπορεί το ένα γονιδίωμα να λειτουργήσει συμπληρωματικά του άλλου, στην περίπτωση που υπάρχει κάποια μετάλλαξη, ενώ παράλληλα βοηθά στην ένωση των μιτοχονδρίων με άλλα οργανίδια (πχ ενδοπλασματικό δίκτυο). Μεταξύ αυτών των δυο δραστηριοτήτων, επικρατεί μια ισορροπία που είναι ρυθμιζόμενη από πυρηνικά και μιτοχονδριακά γονίδια. Η σωστή λειτουργία αυτών είναι ζωτικής σημασίας για το κύτταρο, καθώς συμβάλει σε πολλές λειτουργίες του όπως η απόπτωση, το οξειδωτικό στρες , η μείωση και η μίτωση των κυττάρων [15]. Οι πρωτεΐνες που ρυθμίζουν και εκτελούν την σύντηξη και την σχάση των μιτοχονδρίων ανήκουν στην οικογένεια των GTPασών. Οι GTPs , είναι υδρολυτικές πρωτεΐνες που ανήκουν στην υπεροικογένεια των GCPRs (G-protein-coupled receptors)[16]. Η νουκλεοτιδική τριφωσφορική γουανοσίνη (GTP) υδρολύεται με την αποβολή μιας γουανίνης, δημιουργώντας την διφωσφορική γουανοσίνη (GDP). Η διαδικασία, αυτή της υδρόλυσης παράγει ενέργεια [17]. Στα θηλαστικά οι υπεύθυνες πρωτεΐνες για την σύντηξη των μιτοχονδρίων είναι η μιτοφουσίνη 1 (Mfn1), η μιτοφουσίνη 2 (Mfn 2) , όπου εμφανίζονται στην εξωτερική μεμβράνη και η οπτική ατροφία 1 πρωτεΐνη (OPA 1), η οποία βρίσκεται στην εσωτερική μεμβράνη. Για την διαίρεση των μιτοχονδρίων είναι απαραίτητη η σχετιζόμενη με δυναμίνη πρωτεΐνη 1 (Dgp1) [18].

Μιτοφουσίνες 1 και 2

Οι Mfns είναι μεγάλες, διαμεμβρανικές πρωτεΐνες αποτελούμενες από ένα αμινοτελικό (GTPάση) ή N-τελικό και δύο καρβοξυτελικά άκρα ή C-τελικό (HR1,HR2). Εντοπίζονται στην εξωτερική μεμβράνη των μιτοχονδρίων με δύο τρόπους, είτε με την μορφή V, που και τα δύο άκρα να βρίσκονται έξω, στο κυτταρόπλασμα ($N_{out}-C_{out}$) (Εικ. 4α), είτε στο κυτταρόπλασμα να προεξέχουν τα N-τελικά και το HR1, ενώ το HR2 να βρίσκεται στον διαμεμβρανικό χώρο ($N_{out}-C_{in}$). (Εικ. 4β) Το πρώτο στάδιο της σύντηξης πραγματοποιείται με την βοήθεια του διμερισμού των Mfns στην εξωτερική μιτοχονδριακή μεμβράνη. Μπορούν να συνδεθούν δυο παρακείμενα μιτοχόνδρια από την απόσταση μόλις των 20 nm μέσω των N-τελικών άκρων. Το GTP υδρολύεται σε GDP, το σχήμα των Mfns μεταβάλλεται, ώστε να συγχωνευθούν οι δυο εξωτερικές μεμβράνες των μιτοχονδρίων και ξεκινάει το πρώτο στάδιο της σύντηξης [19]. (Εικ. 5)



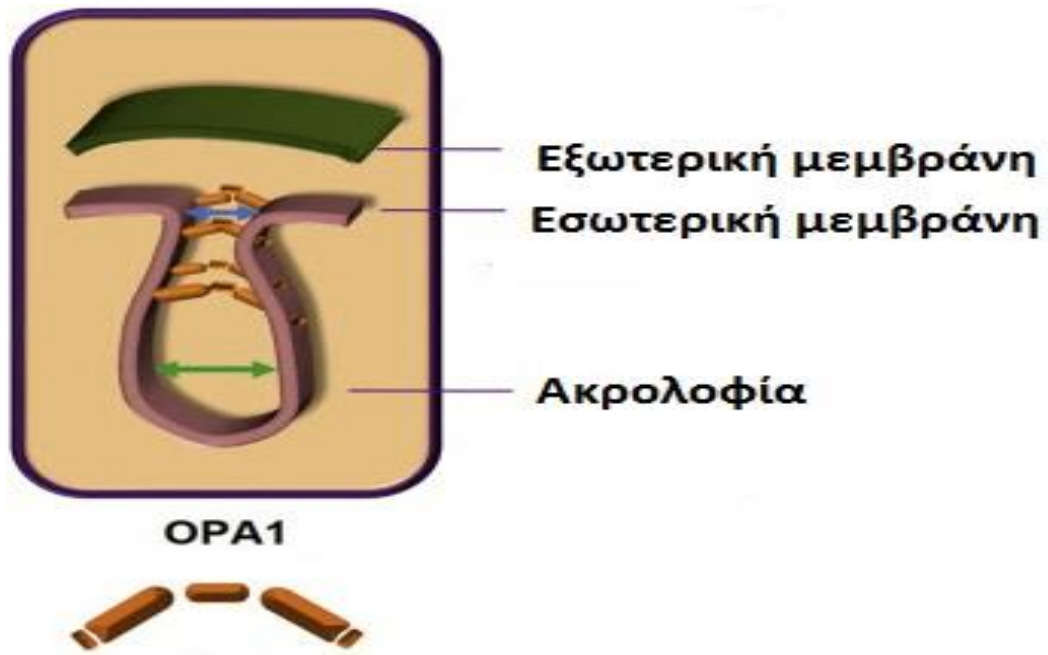
Εικ.4 : Τρόποι αγκυροβόλησης των Mfns στην εξωτερική μεμβράνη των μιτοχονδρίων. (Πηγή: Cohen, Mickael M., and David Tareste. "Recent insights into the structure and function of Mitofusins in mitochondrial fusion." *F1000Research* 7 (2018).)



Εικ. 5 :Σταδιακή απεικόνιση της σύντηξης των εξωτερικών μεμβρανών των μιτοχονδρίων με την βοήθεια των μιτοφουσινών. (Πηγή: Cohen, Mickael M., and David Tareste. "Recent insights into the structure and function of Mitofusins in mitochondrial fusion." *F1000Research* 7 (2018).)

Οπτική Ατροφία 1 (OPA 1)

Η OPA 1 είναι μια πρωτεΐνη συγγενική με την δυναμίνη και εντοπίζεται στην εσωτερική μεμβράνη των μιτοχονδρίων. Επικρατούν δυο ισομορφές της, η μακρά μορφή ή OPA 1-L και η μικρή μορφή ή OPA1-S. Η OPA 1-L μαζί με την βοήθεια της καρδιολιπίνης, πραγματοποιούν την σύντηξη της εσωτερικής μεμβράνης. Η OPA 1-S προέρχεται από την πρωτεολυτική διάσπαση της OPA 1-L και είναι υπεύθυνη για την διατήρηση της φυσιολογικής δομής των ακρολοφιών [20]. (Εικ. 6) Η OPA 1 γενικότερα, είναι μια πρωτεΐνη που βοηθά στην διατήρηση και την οργάνωση της δομής της εσωτερικής μεμβράνης των μιτοχονδρίων [21].

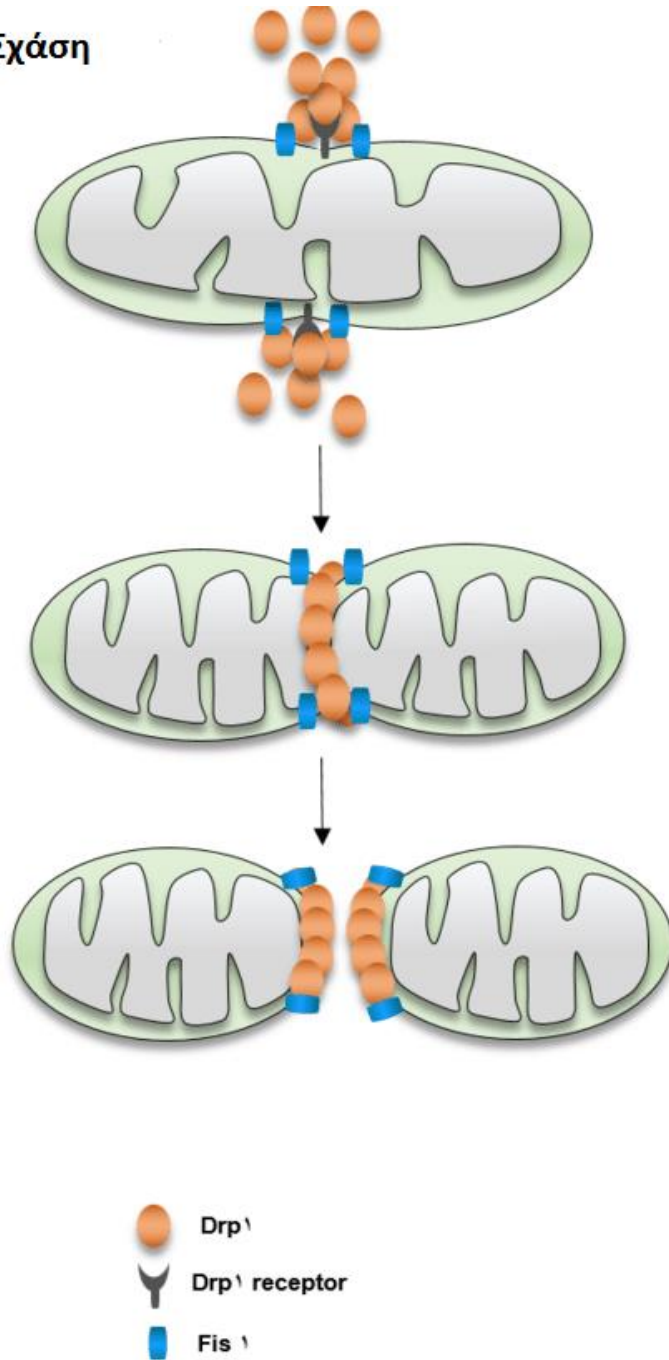


Εικ. 6: Η δράση της πρωτεΐνης OPA 1 κατά την σύντηξη. Οι ακρολοφιών δεν μεταβάλλονται κατά την διάρκεια της σύντηξης των μιτοχονδρίων, χάρη της βοήθειας την OPA 1-S. (Πηγή: Glytsou, Christina, et al. "Optic atrophy 1 is epistatic to the core MICOS component MIC60 in mitochondrial cristae shape control." *Cell reports* 17.11 (2016): 3024-3034.)

Σχετιζόμενη με δυναμίνη πρωτεΐνη 1(Drp1)

Η Drp1 είναι υπεύθυνη για την διαίρεση των μιτοχονδρίων και εντοπίζεται στην εξωτερική μεμβράνη τους. Περικλείει το μιτοχόνδριο σχηματίζοντας ένα μεγάλο σπειραμένο σύμπλοκο, με την ενέργεια της υδρόλυσης του GTP επιδιώκεται η συστολή του Drp1, με αποτέλεσμα την σχάση του μιτοχονδρίου σε δυο νέα οργανίδια. Για να επιτευχθεί η συστολή του χρειάζεται την μιτοχονδριακή πρωτεΐνη, Fis 1 που βρίσκεται στην εξωτερική μεμβράνη, και τους πρωτεϊνικούς υποδοχείς Miff, MiD49 και MiD51.(Εικ. 7) Η αναστολή λειτουργίας της Drp1 μπορεί να αποβεί βλαβερή για το οργανίδιο και κατά συνέπεια για τον οργανισμό που το φιλοξενεί [22].

Σχάση

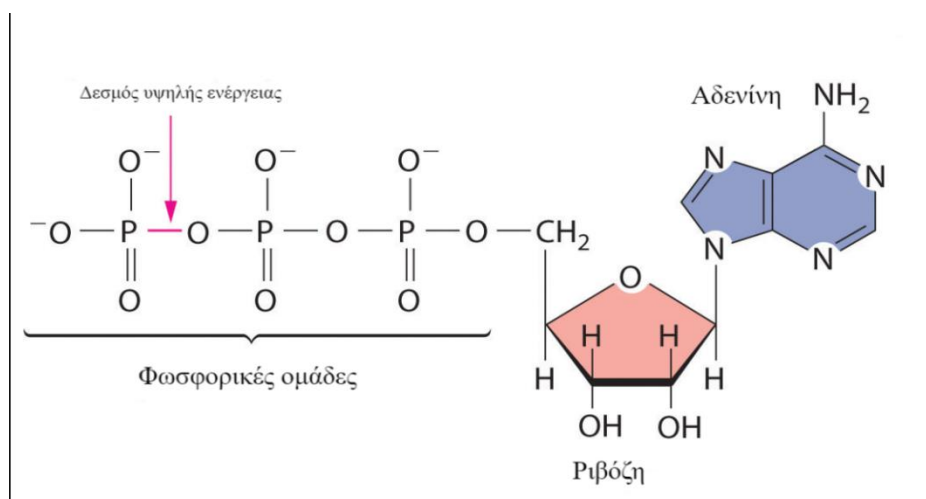


Εικ. 7: Οι υποδοχείς της Drp1 προσελκύνουν την πρωτεΐνη στην εξωτερική μεμβράνη και με την βοήθεια της Fis1 δημιουργούν το σύμπλοκο για την διαίρεση του μιτοχονδρίου. (Πηγή: He, Zhi, et al. "Mitochondria as a therapeutic target for ischemic stroke." *Free Radical Biology and Medicine* 146 (2020): 45-58.)

1.4.2. Παραγωγή ενέργειας

Τα ευκαρυωτικά κύτταρα προκειμένου να επιβιώσουν, να πολλαπλασιαστούν και να παράγουν τα απαραίτητα βιομόρια χρειάζονται ενέργεια. Η συνεχόμενη ροή ενέργειας στηρίζεται στην αποδόμηση των καυσίμων (τροφών) και την παραγωγή μορίων μέσα από μία σειρά από αντιδράσεις που ονομάζονται καταβολικές μεταβολικές πορείες. Σε αυτές ανήκουν ο καταβολισμός των τριγλυκεριδίων, των αμινοξέων, των λιπαρών οξέων μέσω της β-οξείδωσης και η κυτταρική αναπνοή. Πιο συγκεκριμένα, το μεγαλύτερο μέρος του καταβολισμού αποτελείται από αντιδράσεις που έχουν την ικανότητα να εξάγουν ενέργεια από καύσιμα όπως υδατάνθρακες και τα λίπη και να τη μετατρέπουν σε τριφωσφορική αδενοσίνη (ATP) [23].(Εικ. 8)

Το ATP είναι το κύριο μόριο μεταφοράς ενέργειας και είναι απαραίτητο για την επιβίωση των κυττάρων. Αποτελείται από μία ομάδα αδενοσίνης, αποτελούμενη από αδενίνη και ριβόζη, και τρεις φωσφορικές ομάδες. Είναι δηλαδή, ένα νουκλεοτίδιο αδενίνης (μονοφωσφορική αδενοσίνη ή AMP) ενωμένο με δύο φωσφορικές ομάδες [24].



Εικ.8: Η δομή του ATP. Το ATP αποτελείται από μία αδενίνη και το σάκχαρο ριβόζη τα οποία δημιουργούν μία αδενοσίνη, ενωμένη με 3 φωσφορικές ομάδες.

(Πηγή:https://chem.libretexts.org/Courses/Howard_University/General_Chemistry%3A_An_Atoms_First_Approach/Unit_7%3A_Thermodynamics_and_Electrochemistry/Chapter_18%3A_Chemical_Thermodynamics/Chapter_18.8%3A_Thermodynamics_and_Life)

Επίσης, είναι υψηλής ενέργειας μόριο καθώς όταν υδρολύεται η τρίτη φωσφορική ομάδα για να προκύψει διφωσφορική αδενοσίνη (ADP), απελευθερώνει ένα μεγάλο ποσό ενέργειας [24].



Το μεγαλύτερο μέρος ATP που χρειάζεται ένας άνθρωπος παράγεται κατά την κυτταρική αναπνοή. Η κυτταρική αναπνοή μπορεί να χωριστεί σε 3 κύριες μεταβολικές οδούς : την γλυκόλυση, τον κύκλο κιτρικού οξέος και την οξειδωτική φωσφορυλίωση[25].

Γλυκόλυση

Όπως προαναφέρθηκε, η παραγωγή ενέργειας ξεκινάει με τον καταβολισμό και πιο συγκεκριμένα με το πρώτο στάδιο αυτού που είναι η πέψη. Μετά την πέψη, δηλαδή την μετατροπή των πρωτεϊνών σε αμινοξέα, των πολυσακχαριτών σε σάκχαρα και των λιπών σε λιπαρά οξέα και γλυκερόλη, ακολουθεί η σταδιακή οξείδωση τους. Η οξείδωση ξεκινάει στο κυτταρόπλασμα με το δεύτερο στάδιο του καταβολισμού και καταλήγει στα μιτοχόνδρια με το τρίτο στάδιο να πραγματοποιείται αποκλειστικά εκεί. Κατά το δεύτερο στάδιο, πραγματοποιείται η γλυκόλυση που είναι μία αναερόβια διεργασία διάσπασης της γλυκόζης. Κάθε μόριο γλυκόζης μετατρέπεται σε 2 μόρια πυροσταφυλικού οξέος και ταυτόχρονα παράγεται ATP και NADH. Τα μόρια NADH είναι ουσιαστικά φορείς ηλεκτρονίων τα οποία τα προσφέρουν στην αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων όπως θα δούμε στη συνέχεια. Παρότι στη γλυκόλυση δεν υπάρχει η εμπλοκή του οξυγόνου, η οξείδωση συμβαίνει με την αφαίρεση ηλεκτρονίων από άτομα άνθρακα του μορίου της γλυκόζης [2]. Ουσιαστικά, στις 10 αντιδράσεις της γλυκόλυσης καταναλώνονται αλλά και παράγονται μόρια ATP. Όμως το καθαρό κέρδος σε ενέργεια κατά τον σχηματισμό δύο μορίων πυροσταφυλικού από ένα μόριο γλυκόζης είναι 2 μόρια ATP [23].

Στη συνέχεια το πυροσταφυλικό που έχει παραχθεί, μεταφέρεται ενεργά στο μιτοχονδριακό στρώμα και αποκαρβοξυλιώνεται από ένα σύμπλοκο τριών ενζύμων που ονομάζεται σύμπλοκο της αφυδρογονάσης του πυροσταφυλικού οξέος (pyruvate dehydrogenase complex). Το αποτέλεσμα της αποκαρβοξυλίωσης είναι η παραγωγή ενός μορίου CO₂ το οποίο αποβάλλεται, ενός μορίου NADH και ενός μορίου ακετυλο-CoA [2].

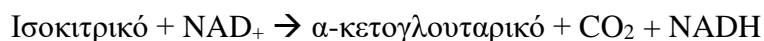
Η μετατροπή του πυροσταφυλικού σε ακετυλο-CoA αποτελεί τον σύνδεσμο μεταξύ της γλυκόλυσης και του κύκλου του κιτρικού οξέος [23].

Κύκλος του κιτρικού οξέος ή κύκλος του Krebs

Το τρίτο στάδιο του καταβολισμού ξεκινάει με τον κύκλο του κιτρικού οξέος (CAC) ή κύκλο τρικαρβοξυλικών οξέων (TCA) ή αλλιώς κύκλο του Krebs από το όνομα του Sir Hans Krebs ο οποίος ήταν ο πρώτος που τον πρότεινε [23]. Το ακετυλο-CoA που παράγεται από την οξείδωση του πυροσταφυλικού εισέρχεται στον κύκλο του κιτρικού οξέος και με τη βοήθεια του οξαλοξικού οξέος παράγεται κιτρικό οξύ. Η αντίδραση αυτή καταλύεται από το ένζυμο κιτρική συνθάση [26]. Ωστόσο, τα μιτοχόνδρια εκτός από το πυροσταφυλικό χρησιμοποιούν και άλλα καύσιμα για την παραγωγή ATP. Αυτά είναι τα λιπαρά οξέα και τα αμινοξέα που μετατρέπονται σε Ακετυλο-CoA , πυροσταφυλικό οξύ ή ενδιάμεσα προϊόντα του κύκλου του Krebs [27]. Μετά την παραγωγή του κιτρικού αρχίζει μία σειρά από αντιδράσεις οξείδωσης-αναγωγής, δηλαδή 7 ενζυμικά μονοπάτια τα οποία καταναλώνουν και στη συνέχεια παράγουν κιτρικό οξύ [28].

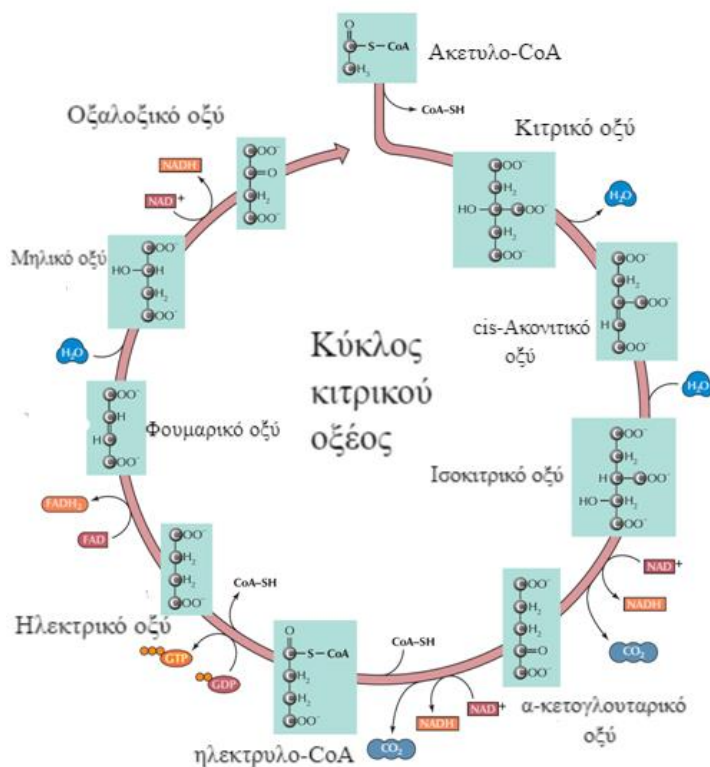
Πιο συγκεκριμένα τα επιμέρους στάδια του κύκλου του Krebs (Εικ.9) είναι:

- 1) *Η ισομερείωση του κιτρικού σε ισοκιτρικό:* Η συγκεκριμένη αντίδραση περιλαμβάνει ένα βήμα αφυδάτωσης και ένα βήμα ενυδάτωσης που έπεται. Ως αποτέλεσμα, το κιτρικό αποκτά καλύτερη δομή και είναι ικανό να εξυπηρετήσει στις αντιδράσεις οξείδωσης που ακολουθούν. Καταλύεται από το ένζυμο ακονιτάση και σχηματίζεται το ενδιάμεσο προϊόν *cis*-ακονιτικό .
- 2) *Η οξειδωτική αποκαρβοξυλίωση του ισοκιτρικού:* Καταλύεται από το ένζυμο ισοκιτρική αφυδρογονάση. Το ενδιάμεσο προϊόν είναι το οξαλοηλεκτρικό το οποίο είναι ασταθές και μετατρέπεται σε α -κετογλουταρικό αφού χάσει CO₂. Από την οξείδωση παράγεται και ο πρώτος μεταφορέας ηλεκτρονίων που έχει υψηλό δυναμικό μεταφοράς, το NADH.



- 3) *Η οξειδωτική αποκαρβοξυλίωση του α -κετογλουταρικού:* Από την αντίδραση αυτή σχηματίζεται ηλεκτρυλοCoA με την βοήθεια του συμπλέγματος της α -κετογλουταρικής αφυδρογονάσης.

- 4) Η μετατροπή του ηλεκτρυλοCoA σε ηλεκτρικό: Γίνεται διάσπαση ενός θειοεστερικού δεσμού στο ηλεκτρυλο-CoA και φωσφορυλίωση ενός φωσφορικού νουκλεοζίτη πουρίνης. Η αντίδραση αυτή καταλύεται από τη συνθετάση του ηλεκτρυλοCoA.
- 5) Η οξείδωση του ηλεκτρικού σε φουμαρικό: Καταλύεται από το ένζυμο ηλεκτρική αφυδρογονάση [30]. Σε αυτή την αντίδραση το FAD μετατρέπεται σε FADH₂ που είναι μεταφορέας ηλεκτρονίων στην αναπνευστική αλυσίδα. Το FADH₂ παραμένει προσδεμένο στο ένζυμο το οποίο βρίσκεται στην εσωτερική μιτοχονδριακή μεμβράνη [23].
- 6) Η ενδάτωση του ηλεκτρικού για σχηματισμό του L- μηλικού: Αντίδραση που καταλύεται από το ένζυμο φουμαράση.
- 7) Η οξείδωση του μηλικού που αποσκοπεί στον σχηματισμό του οξαλοξικού: Η αντίδραση αυτή καταλύεται από την μηλική αφυδρογονάση. Επίσης το NAD⁺ γίνεται πάλι αποδέκτης υδρογόνου και μετατρέπεται σε NADH. Το οξαλοξικό που παράγεται αντιδρά ξανά με το ακετυλο-CoA για να σχηματιστεί κιτρικό και να ξεκινήσει ο κύκλος του Krebs από την αρχή [29].



Εικ.9: Κύκλος του κιτρικού οξέος. Ένζυμα του κύκλου είναι: 1.η κιτρική συνθάση, 2.η ακονιτάση, 3.η ισοκιτρική αφυδρογονάση, 4.η α-κετογλουταρική αφυδρογονάση, 5.η συνθετάση του ηλεκτρυλο-CoA, 6. η ηλεκτρική αφυδρογονάση, 7.η φουμαράση, 8.η

μηλική αφυδρογονάση (Πηγή: Geoffrey M.Cooper, Robert E. Hausman. "Το κύτταρο, μία μοριακή προσέγγιση" (2018))

Επίσης, ο κύκλος είναι σημαντικός για τον αναβολισμό, καθώς αποτελεί πηγή ενώσεων που αποτελούν τους δομικούς λίθους πολλών μορίων όπως είναι τα αμινοξέα, η πορφυρίνη (βασική ένωση της αίμης) και οι βάσεις των νουκλεοτιδίων [23] [27].

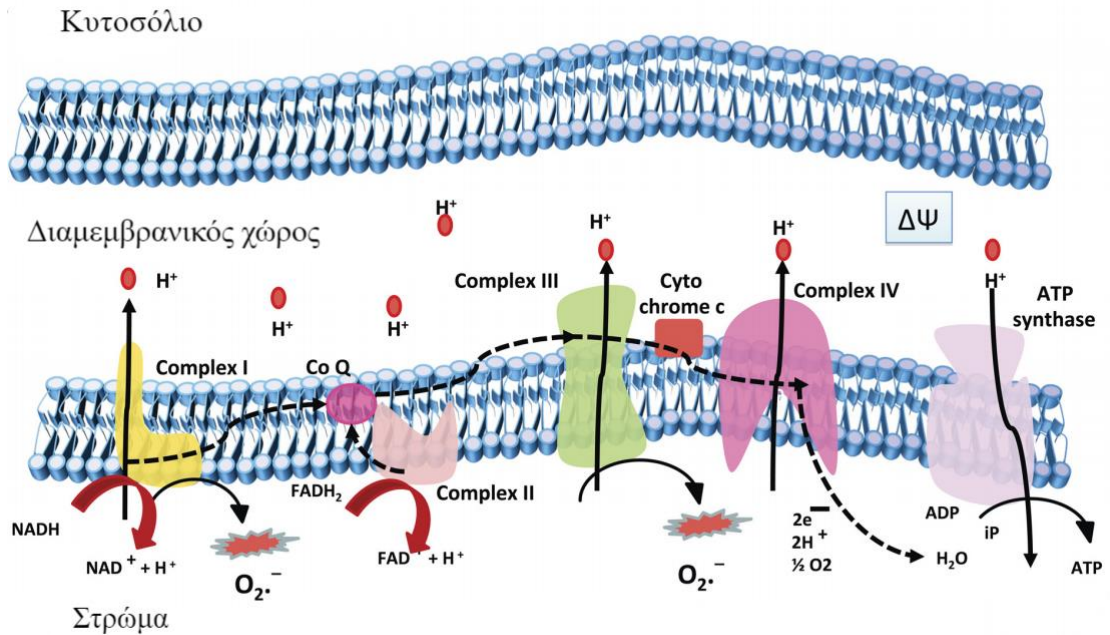
Οξειδωτική φωσφορυλίωση

Το 80% του ATP που χρειάζεται ένα κύτταρο καλύπτεται από το τρίτο και τελευταίο στάδιο της κυτταρικής αναπνοής, την οξειδωτική φωσφορυλίωση [30]. Η οξειδωτική φωσφορυλίωση βασίζεται στη μεταφορά ηλεκτρονίων και τη βαθμίδωση πρωτονίων κατά μήκος της εσωτερικής μιτοχονδριακής μεμβράνης [2]. Η μεταφορά επιτυγχάνεται μέσω τεσσάρων πρωτεϊνικών υπομονάδων που αποκαλούνται αναπνευστική αλυσίδα [31]. Εκτός από τις τέσσερις βασικές υπομονάδες, η αναπνευστική αλυσίδα διαθέτει και δύο μεταφορείς ηλεκτρονίων, το συνένζυμο Q και το κυτόχρωμα c [32]. Επιπλέον, στην εσωτερική μιτοχονδριακή μεμβράνη υπάρχει ένα πέμπτο σύμπλοκο το οποίο χρησιμοποιεί τη βαθμίδωση των πρωτονίων για τη σύνθεση του ATP [33]. Καθεμία από τις πρωτεϊνικές υπομονάδες κωδικοποιείται είτε από μιτοχονδριακό είτε από πυρηνικό DNA [32].

Η οξειδωτική φωσφορυλίωση ξεκινά με την μεταφορά ηλεκτρονίων από τα NADH και FADH₂ τα οποία λαμβάνονται από τον κύκλο του Krebs [33]. (Εικ. 10) Η πλειονότητα των ηλεκτρονίων μεταφέρεται στο Σύμπλοκο I της αναπνευστικής αλυσίδας από τον μεταφορέα NADH [34]. Το Σύμπλοκο I (σύμπλοκο της αφυδρογονάσης του NADH) είναι το μεγαλύτερο καθώς αποτελείται από 45 υπομονάδες, από τις οποίες οι επτά κωδικοποιούνται από το μιτοχονδριακό DNA και οι υπόλοιπες από το DNA του πυρήνα [30]. Δομικά χωρίζεται σε δύο περιοχές: μία υδρόφοβη στην εσωτερική μιτοχονδριακή μεμβράνη και μία υδρόφιλη που προβάλλει στο μιτοχονδριακό στρώμα. Έτσι, με την οξείδωση του NADH μεταφέρονται 2 ηλεκτρόνια στο συνένζυμο Q (Co Q ή ουβικινόνη) και μετακινούνται τέσσερα πρωτόνια (H⁺) από το στρώμα στην εσωτερική μεμβράνη. Το Σύμπλοκο II (σύμπλοκο της αναγωγής του ζεύγους ηλεκτρικού-Q) αποτελείται από την αφυδρογονάση του ηλεκτρικού, ένζυμο ενσωματωμένο στην εσωτερική μεμβράνη. Το χαρακτηριστικό του γνώρισμα είναι ότι κωδικοποιείται αποκλειστικά από πυρηνικά

γονίδια [35]. Επίσης, υποβοηθά την μεταφορά 2 ηλεκτρονίων στο συνένζυμο Q ύστερα από την οξείδωση του FADH_2 [26].

Στη συνέχεια, το Σύμπλοκο III (αναγωγή του κυτοχρώματος c) καταλύει τη μεταφορά των ηλεκτρονίων από το συνένζυμο Q προς το κυτόχρωμα c. Ταυτόχρονα αντλούνται 2 H^+ στον διαμεμβρανικό χώρο [23].



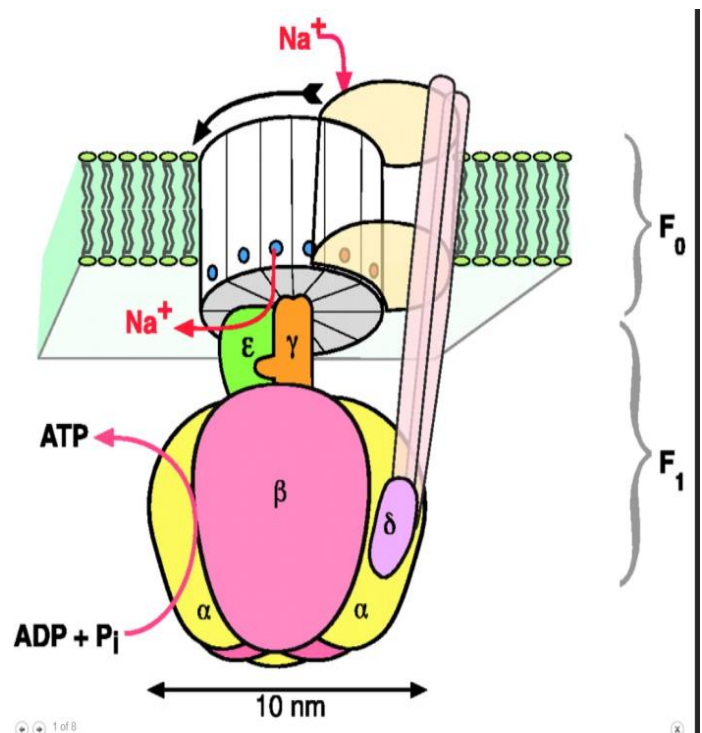
Εικ. 10: Σχηματική απεικόνιση της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης. Ηλεκτρόνια υψηλής ενέργειας μετακινούνται στην αναπνευστική αλυσίδα που βρίσκεται στην εσωτερική μιτοχονδριακή μεμβράνη και φτάνουν στο O_2 . Προάγεται με αυτόν τον τρόπο μία βαθμίδωση πρωτονίων η οποία οδηγεί τον σχηματισμό του ATP από τη συνθήση του ATP. (Πηγή: Agrawal, Anurag, and Ulaganathan Mabalirajan. "Rejuvenating cellular respiration for optimizing respiratory function: targeting mitochondria." *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology* 310.2 (2016): L103-L113.)

Ο τελικός αποδέκτης των ηλεκτρονίων είναι το Σύμπλοκο IV (σύμπλοκο κυτοχρωμικής οξειδάσης) . Σε αυτό το σημείο τα ηλεκτρόνια ρέουν από το κυτόχρωμα c προς το μοριακό οξυγόνο το οποίο ανάγεται σε H_2O [36].

Όπως προαναφέρθηκε, η προώθηση των ηλεκτρονίων στην αναπνευστική αλυσίδα δημιουργεί μία ηλεκτροχημική βαθμίδωση των πρωτονίων ($\Delta\Psi$). Η προκύπτουσα βαθμίδωση μέσω της εσωτερικής μεμβράνης βοηθάει την προώθηση των H^+ πίσω στο στρώμα. Η διεργασία επιτυγχάνεται μέσω της συνθετάσης του ATP, που χρησιμοποιεί την ενέργεια από την ροή των H^+ για να συνθέσει ATP στο στρώμα από ADP και P_i [2].

Η ATPάση ονομάζεται επίσης F_0F_1 ATPάση καθώς αποτελείται από την περιοχή F_0 που βρίσκεται στην εσωτερική μιτοχονδριακή μεμβράνη και τη περιοχή F_1 που είναι στο στρώμα. (Εικ. 11) Το F_1 είναι υδρόφιλο, αποτελείται από 5 υπομονάδες (α , β , γ , δ , ϵ), και είναι η καταλυτική περιοχή της ATPάσης. Αντιθέτως, το F_0 είναι υδρόφοβο και αποτελείται από 8 υπομονάδες [35].

Εικ. 11: Ένζυμο ATPάση (Πηγή: Dimroth, Peter, et al. "Energy transduction in the sodium F-ATPase of *Propionigenium modestum*." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 96.9 (1999): 4924-4929.)



1.4.3. Παραγωγή δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS)

Όπως αναλύσαμε παραπάνω, ο μηχανισμός της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης είναι υπεύθυνος για την παραγωγή ενέργειας στα κύτταρα. Ωστόσο, έχει συσχετισθεί με την παθογένεια διαφόρων ασθενειών [37]. Πιο συγκεκριμένα, τα μιτοχόνδρια παράγουν ελεύθερες ρίζες, οι οποίες στην πλειονότητα τους είναι δραστικές μορφές οξυγόνου- ROS (Reactive Oxygen Species) [38]. Σε φυσιολογικά επίπεδα, οι δραστικές μορφές οξυγόνου μπορεί να χρησιμοποιηθούν για τη σηματοδότηση βιοχημικών αντιδράσεων, μία διαδικασία σημαντική για την διατήρηση της ομοιόστασης των κυττάρων.

Το αποτέλεσμα, όμως, της υπέρμετρης αύξησης τους είναι το οξειδωτικό στρες που μπορεί να προκαλέσει σοβαρές βλάβες και να επισπεύσει το αποπτωτικό μονοπάτι [39].

Η κύρια μορφή ROS που παράγουν τα μιτοχόνδρια είναι το ανιόν σουπεροξειδίου (O_2^-) [38]. Αναλυτικότερα, καθώς κινούνται κατά μήκος της αναπνευστικής αλυσίδας, ορισμένα ηλεκτρόνια διαρρέουν, αντιδρούν με το μοριακό οξυγόνο και παράγουν O_2^- . Η αντίδραση αυτή πραγματοποιείται κυρίως στα συμπλέγματα I και III της αναπνευστικής αλυσίδας. Στη συνέχεια, το ανιόν σουπεροξειδίου μετατρέπεται σε υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2) με τη βοήθεια του ενζύμου δισμουτάση του υπεροξειδίου του υδρογόνου (SOD) [40]. Επίσης, άλλοι παράγοντες που μπορεί να οδηγήσουν στην παραγωγή ROS είναι διάφορες πρωτεΐνες και συμπλέγματα. Σε αυτά συμπεριλαμβάνονται ένζυμα που συμμετέχουν στον κύκλο του κιτρικού οξέος όπως η ακονιτάση, η αφυδρογονάση του πυροσταφυλικού και η α-κετογλουταρική αφυδρογονάση [38]. Βέβαια, είναι σημαντικό να αναφέρουμε ότι τα μιτοχόνδρια διαθέτουν αντιοξειδωτικούς μηχανισμούς που βοηθούν στην μείωση των δραστικών μορφών οξυγόνου και την διατήρηση έτσι της ακεραιότητας των κυττάρων [41].

1.4.4. Σηματοδότηση ασβεστίου

Το ενδοπλασματικό δίκτυο και τα μιτοχόνδρια βρίσκονται σε συνεχή επικοινωνία μέσω μεμβρανών που ονομάζονται MAMS (Mitochondria-Associated Membranes). [42] [43] Στη σηματοδότηση, για να επιτευχθεί η επικοινωνία, συμμετέχουν τα ιόντα ασβεστίου [42]. Το ασβέστιο, διαπερνά την εσωτερική μιτοχονδριακή μεμβράνη και φτάνει στο στρώμα όπου ρυθμίζει πρωτεΐνες και ένζυμα σημαντικά για τη σύνθεση του ATP [44]. Ωστόσο, γνωρίζουμε ότι η εσωτερική μεμβράνη είναι αδιαπέραστη σε ιόντα ασβεστίου και για να επιτευχθεί η είσοδος είναι σημαντική η βοήθεια της ηλεκτροχημικής βαθμίδωσης πρωτονίων [43]. Η πρόσληψη του ασβεστίου στη μιτοχονδριακή μήτρα πραγματοποιείται μέσω ειδικού καναλιού ασβεστίου (MCU: Mitochondrial Ca^{2+} Uniporter). Η αύξηση της συγκέντρωσής του, ενεργοποιεί ένζυμα που συμμετέχουν στον κύκλο του κιτρικού οξέος: αφυδρογονάση του πυροσταφυλικού οξέος, αφυδρογονάση του ισοκιτρικού οξέος και η αφυδρογονάση του α-κετογλουταρικού οξέος [42]. Βέβαια, η υπέρμετρη αύξηση των ιόντων ασβεστίου στο εσωτερικό των μιτοχονδρίων έχει ως αποτέλεσμα την απελευθέρωση κυτοχρώματος c που συνδέεται άμεσα με την διαδικασία της απόπτωσης [44].

1.4.5. Απόπτωση

Γενικά, η απόπτωση μπορεί να πυροδοτηθεί από εξωτερικά σήματα τα οποία δρουν με την παρουσία υποδοχέων θανάτου, όπως είναι ο παράγοντας νέκρωσης όγκου (TNF). Επίσης, μπορεί να σχετίζεται με διαταραχές στην λειτουργία των μιτοχονδρίων [45]. Σε αυτή τη περίπτωση, απελευθερώνεται το κυτόχρωμα c από τα μιτοχόνδρια. Πρόκειται για πρωτεϊνικό συστατικό που βρίσκεται στην εσωτερική μιτοχονδριακή μεμβράνη. Μετά την απελευθέρωσή του συνδέεται με τον προαποπτωτικό παράγοντα ενεργοποίησης πρωτεάσης-Araf (proapoptotic protease-activation factor). Σχηματίζεται έτσι ένα σύμπλοκο που προσδένεται στην κασπάση 9 και δημιουργείται το αποπτωσωμάτιο που ενεργοποιεί άλλες κασπάσες [46]. Οι κασπάσες είναι πρωτεάσες και ο ρόλος τους είναι η αποσύνθεση των αποπτωτικών κυττάρων. Ελέγχονται από προαποπτωτικές πρωτεΐνες BCL-2 που σχηματίζουν πόρους στην εσωτερική μεμβράνη των μιτοχονδρίων και προάγουν την διαδικασία της απόπτωσης. Ωστόσο, υπάρχουν και αντιαποπτωτικά μέλη της οικογένειας BCL-2 (BCL-2, BCL-XL, MCL-1) [47]. Οι αντιαποπτωτικές πρωτεΐνες παρεμποδίζουν τον κυτταρικό θάνατο με δύο τρόπους. Ο ένας τρόπος είναι ότι εισέρχονται στην μιτοχονδριακή μεμβράνη και ανταγωνίζονται τους προαποπτωτικούς παράγοντες, ενώ ο άλλος τρόπος είναι η σύνδεση τους με τον παράγοντα Araf για να μην σχηματιστεί το αποπτωσωμάτιο [48]. Η αναλογία προαποπτωτικών και αντιαποπτωτικών πρωτεϊνών BCL-2 αποτελεί σημαντικό παράγοντα επιτάχυνσης ή επιβράδυνσης του κυτταρικού θανάτου [47].

1.4.6. Μιτοφαγία

Μια ακόμη λειτουργία των μιτοχονδρίων είναι η ικανότητα τους να εγκολώνονται επιλεκτικά απο μεμβρανικά, αυτοφαγικά κυστίδια, τα αυτοφαγοσώματα και να αποικοδομούνται στα λυσοσώματα [49], μέσω μιας πρωτεΐνης, την LC3 (Light Chain 3) που εντοπίζεται στην μεμβράνη των κυστιδίων [50]. Η διαδικασία αυτή είναι αρκετά πολύπλοκη και ονομάζεται μιτοφαγία [49].

Υπάρχουν δύο τύποι μιτοφαγίας: (α) Τύπου 1, που ενεργοποιείται σε κατάσταση λιμοκτονίας δηλαδή σε έλλειψη θρεπτικών υλικών του οργανιδίου. Αυτός ο τύπος είναι εξαρτημένος από την πρωτεΐνη σχηματισμού του αυτοφαγοσώματος, την PI3K (φωσφοϊνοσιτίδη 3- κινάση) και (β) Τύπου 2, που ενεργοποιείται σε κατάσταση βλάβης

του μιτοχονδρίου και εξαρτάται μόνο από τις μιτοφαγικές πρωτεΐνες PINK1 (κινάση της εξωτερικής μιτοχονδριακής μεμβράνης) και Parkin (E3 λιγάση ουβικουιτίνης) [51]. Η διαδικασία της μιτοφαγίας είναι πολύ σημαντική, διότι αποτελεί τον ποιοτικό έλεγχο των μιτοχονδρίων, δηλαδή τον διαχωρισμό των υγιή με των κατεστραμμένων οργανιδίων, ρυθμίζει τον αριθμό τους και λαμβάνει μέρος στην ωρίμανση των δικτυοερυθροκυττάρων (ΔΕΚ) σε ερυθρά αιμοσφαίρια [49]. Επιπλέον η μιτοφαγία έχει σημαντικό ρόλο σε ασθένειες, όπως την νόσο του Parkinson, όπου σχετίζεται άμεσα με την πρωτεΐνη Parkin [52].

1.4.7. Μιτοχονδριακή βιογένεση

Η μιτοχονδριακή βιογένεση ή μιτογένεση, είναι μια εξαιρετικά πολύπλοκη και εκλεπτυσμένη διαδικασία ανάπτυξης και διαίρεσης των μιτοχονδρίων, που σηματοδοτείται από την κυτταρική διαίρεση. Υπάρχουν και άλλα μονοπάτια ενεργοποίησης της, όπως τα οξειδωτικά ερεθίσματα, η αύξηση των ενεργειακών αναγκών, οι ορμόνες, μιτοχονδριακές ασθένειες και πολλά ακόμη [53]. Η ρύθμιση της επιτυγχάνεται με την ενεργοποίηση μεταγραφικών παραγόντων του mtDNA, αφού πραγματοποιηθεί η πυροδότηση από τα μονοπάτια που παρουσιάστηκαν παραπάνω. Οι κύριοι παράγοντες είναι:

1. NRF1/NRF2 (Nuclear respiratory factors), ρυθμιστές της έκφρασης των γονιδίων που σχετίζονται με της μιτοχονδριακές πρωτεΐνες και τους μεταγραφικούς παράγοντες A (TFAM) και B (TFBs) που ρυθμίζουν την μεταγραφή και την αντιγραφή του μιτοχονδριακού DNA.
2. Nrf2 ή NFE2L2 (Nuclear factor erythroid 2- related factor 2), που ενεργοποιείται σε καταστάσεις οξειδωτικού στρες και ρυθμίζει την επαγωγή γονιδίων για την επιβίωση των κύτταρων.
3. ERR- $\alpha/\beta/\gamma$ (Estrogen related receptors), είναι υποδοχείς πυρηνικών ορμονών που επάγουν την μιτογένεση μέσω ορμονικών σημάτων.
4. PGC- 1 α (peroxisome proliferator -activated receptor gamma co-activator 1-alpha), είναι ο κύριος ρυθμιστής της μιτοχονδριακής βιογένεσης και λειτουργίας [54].

1.4.8. Επίδραση μιτοχονδρίων στην ανοσολογική απόκριση

Μια από τις σημαντικότερες λειτουργίες των μιτοχονδρίων είναι, ο σπουδαίος ρόλος τους στην ανοσολογική απόκριση του κυττάρου. Κυρίως συνεισφέρουν στην έμφυτη ανοσία, δηλαδή σε κυτταρικές βλάβες, κατάσταση stress ή κάποια μόλυνση από παθογόνους μικροοργανισμούς, ιδίως από ιούς. Η συμμετοχή τους πραγματοποιείται μέσω υποδοχέων αναγνώρισης PRRs (Pattern Recognition Receptors). Αυτοί, συνδέονται με εξωκυττάρια ή ενδοκυττάρια μόρια που εμφανίζονται από παθογόνους μικροοργανισμούς, ή αλλιώς PAMPS (Pathogen-Associated Molecular Patterns) και από μόρια που προκλήθηκαν από τραυματισμό του ιστού, χωρίς ο ίδιος να έχει υποστεί κάποια λοίμωξη, τα λεγόμενα DAMPS (Damaged-Associated Molecular Patterns). Μόλις αναγνωριστούν από τους υποδοχείς ενεργοποιείται ο καταρράκτης σηματοδότησης που οδηγεί στην ανοσοαπόκριση. Οι PRRs είναι μια μεγάλη ομάδα υποδοχέων που συμπεριλαμβάνει τους RLRs (RIG-I-Like Receptors), CLR (C-type Lectin Receptors), TLRs (Toll-Like Receptors), NLRs (NOD-Like Receptors) [55].

Πιο συγκεκριμένα, οι υποδοχείς RLRs αλληλεπιδρούν με την μιτοχονδριακή πρωτεΐνη αντικής σηματοδότησης MAVS (Mitochondrial Antiviral Signaling protein)[55], που οδηγεί στην ενεργοποίηση των NF-κB, για την παραγωγή κυτταροκινών, τον ρυθμιστικό παράγοντα των ιντερφερονών, IRF 3 και στην μεταγραφή της πρωτεΐνης NLRP3 (NOD-Like Receptor-Protein 3) [56]. Η εξωτερική μιτοχονδριακή μεμβράνη ενώνεται με την NLRP3, η οποία εισέρχεται στην εσωτερική με την βοήθεια της καρδιολιπίνης και προάγει την παραγωγή των ιντερλευκινών IL-1β και IL-18, που είναι σημαντικοί για την ανοσολογική απόκριση. Επίσης το ίδιο το μιτοχόνδριο μέσω του γενετικού υλικού επάγει την μετάφραση προφλεγμονωδών γονιδίων όπως τον TNF-α (Tumor Necrosis Factor-α) και IL-6 [57].

Κεφάλαιο 2: Μιτοχονδριακό DNA (mtDNA)

2.1. Γενικά

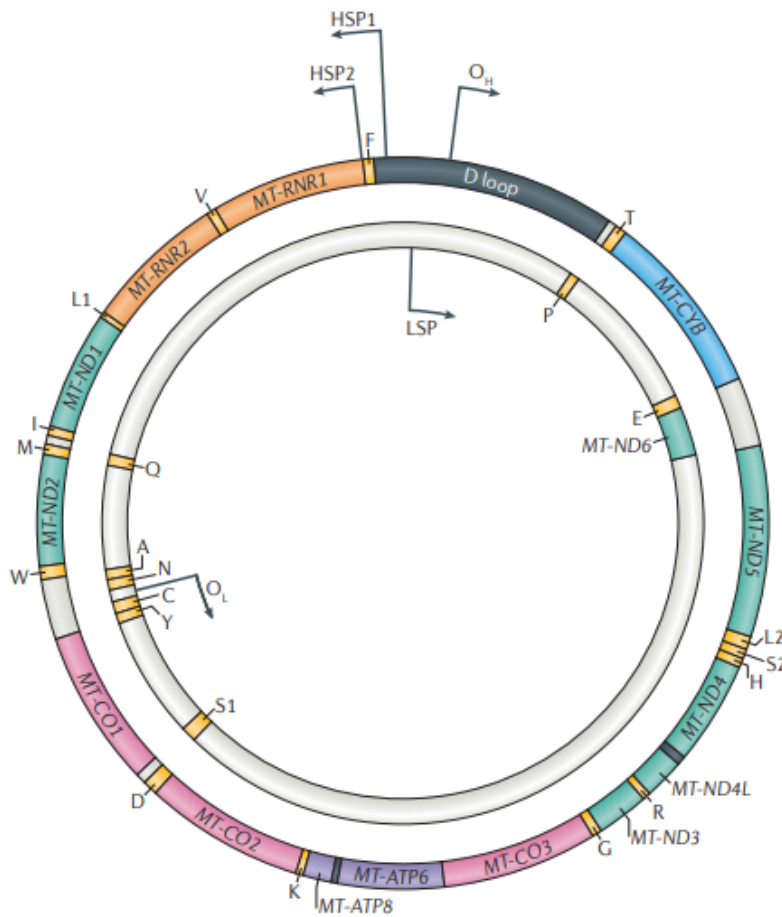
Στις αρχές του 1960, εντοπίστηκαν ορισμένα γονίδια, ανεξάρτητα και διακριτά από το γονιδίωμα του πυρήνα, που ονομάστηκαν εξωχρωματικά [58]. Παρατηρήθηκε ότι τα γονίδια αυτά βρίσκονται στα μιτοχόνδρια και παρουσιάζουν ομοιότητες με βακτηριακά γονίδια [58]. Το μιτοχονδριακό DNA κωδικοποιεί πρωτεΐνες που είναι σημαντικές για τις λειτουργίες του και επιτελεί την αντιγραφή, μεταγραφή και μετάφραση ανεξάρτητα από το πυρηνικό. Βέβαια, στον πυρήνα κωδικοποιούνται πρωτεΐνες ζωτικής σημασίας για τα μιτοχόνδρια που μεταφέρονται ύστερα σε αυτά. Η αλληλεπίδραση αυτή, των μιτοχονδρίων με το πυρηνικό γονιδίωμα, είναι ο λόγος που χαρακτηρίζονται «ημιαυτόνομα οργανίδια» [59][60].

Το mtDNA, στους περισσότερους πολυκύτταρους οργανισμούς είναι ένα δίκλωνο κυκλικό μόριο που βρίσκεται στη μιτοχονδριακή μήτρα [61]. Με τη βοήθεια της ηλεκτρονικής μικροσκοπησης, ανακαλύφθηκε ότι ορισμένα πρωτόζωα διαθέτουν γραμμικό mtDNA. Σε γενικές γραμμές, κάθε μιτοχόνδριο έχει περίπου 10 αντίγραφα του κυκλικού μορίου, που σημαίνει ότι κάθε κύτταρο περιέχει περίπου 8000 μιτοχονδριακά γονιδιώματα [58]. Όμως, η ποσότητα αυτή είναι μεταβαλλόμενη και καθορίζεται από την ενεργειακή ανάγκη των κυττάρων κάθε δεδομένη στιγμή [62]. Το ανθρώπινο mtDNA έχει μέγεθος 16,6 Kb και αποτελείται από μία βαριά-H (Heavy) αλυσίδα που είναι πλούσια σε γουανίνες (G) και μία ελαφριά-L (light) αλυσίδα που είναι πλούσια σε κυτοσίνες (C) [59][63]. Παρά το μικρό του μέγεθος, το mRNA που προκύπτει από αυτό, αντιπροσωπεύει μεγάλο κομμάτι του συνολικού κυτταρικού mRNA, το 5% στους πνεύμονες και το 30% στην καρδιά [64]. Το μιτοχονδριακό DNA αποτελείται από 37 γονίδια, τα οποία κωδικοποιούν 13 πολυπεπίδια, 2 ριβοσωμικά RNA και 22 tRNA [61]. (Εικ. 12) Τα 13 πολυπεπίδια αποτελούν πολύτιμα συστατικά του συμπλέγματος που είναι υπεύθυνο για την οξειδωτική φωσφορυλίωση και βρίσκεται στην εσωτερική μιτοχονδριακή μεμβράνη.

Πιο συγκεκριμένα, είναι:

- 7 υπομονάδες του συμπλέγματος I (αφυδρογονάση NADH, ND1-ND6 και ND4L)
- 1 υπομονάδα του συμπλέγματος II (αναγωγή του κυτοχρώματος c, CYTB)
- 3 υπομονάδες του συμπλέγματος IV (οξειδάση του κυτοχρώματος c, COX I,II,III)
- 2 υπομονάδες του συμπλέγματος V (ΑΤΡάση 6 και ΑΤΡάση 8) [64][59]

Επίσης, στο mtDNA δεν παρεμβάλλονται εσώνια στα γονίδια και περιέχει λίγες μη κωδικοποιητικές περιοχές [61].

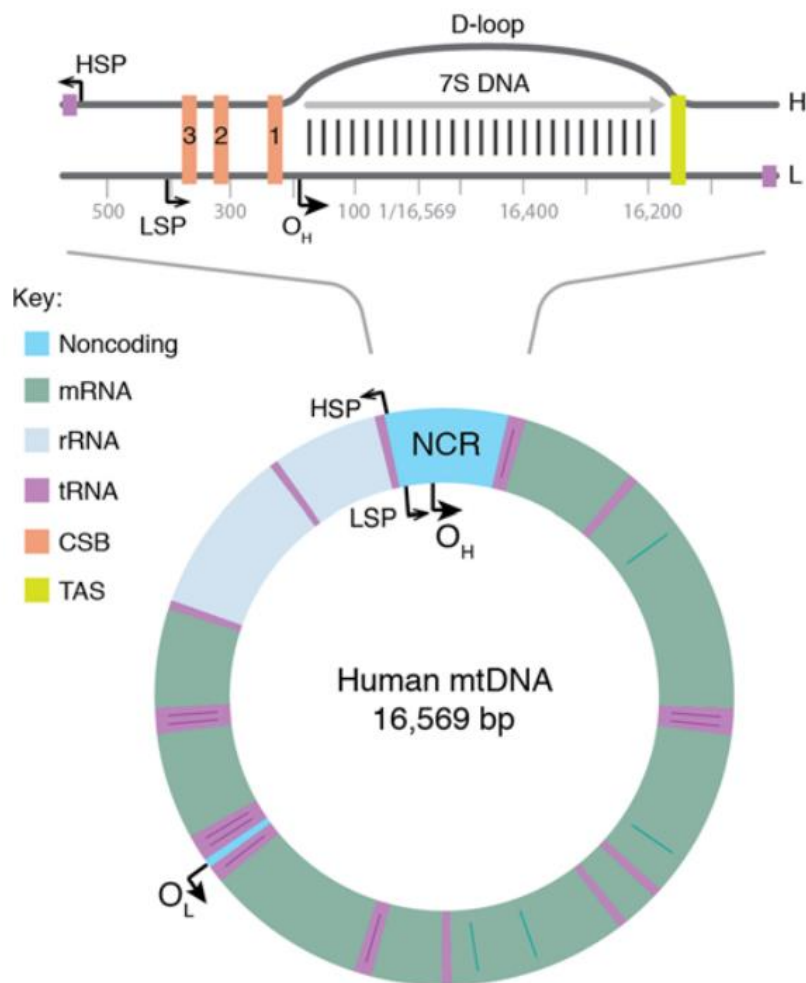


Εικ. 12: Μιτοχονδριακό DNA (Πηγή: Gorman, Gráinne S., et al. "Mitochondrial diseases." *Nature reviews Disease primers* 2.1 (2016): 1-22.)

2.1.1. Αντιγραφή

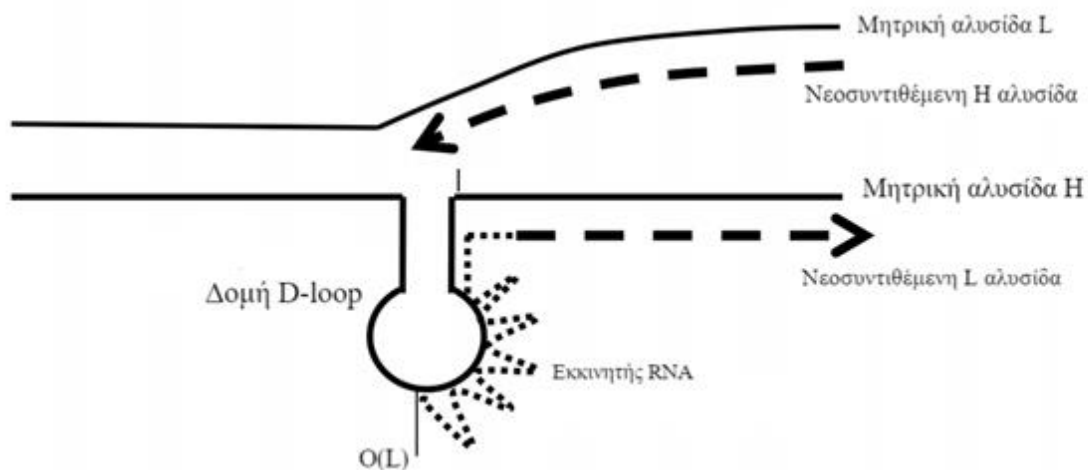
Η αντιγραφή του mtDNA είναι ανεξάρτητη από τον κυτταρικό κύκλο, δηλαδή δεν περιορίζεται αποκλειστικά στη φάση S. Τα βασικά ένζυμα που συμμετέχουν σε αυτή, κωδικοποιούνται από το DNA του πυρήνα και είναι η μιτοχονδριακή DNA πολυμεράση (POLG) και η ελικάση Twinkle [62][60]. Σημαντικό ρόλο στην αντιγραφή διαδραματίζει η μεγαλύτερη μη κωδικοποιητική περιοχή του mtDNA (NCR). Ουσιαστικά, πρόκειται για μία περιοχή μήκους 700 ζευγών βάσεων που βρίσκεται μεταξύ των γονιδίων που κωδικοποιούν το tRNA προλίνη και το tRNA φαινυλαλανίνη.

Στην περιοχή αυτή, βρίσκονται τα κυριότερα ρυθμιστικά στοιχεία της αντιγραφής. (Εικ.13) Ειδικότερα, τα στοιχεία αυτά είναι: α) η θέση έναρξης της αντιγραφής της βαριάς αλυσίδας (O_H), β) οι υποκινητές LSP και HP1 για την αντιγραφή της ελαφριάς και της βαριάς αλυσίδας αντίστοιχα, γ) οι νουκλεοτιδικές αλληλουχίες CSB1, CSB2, CSB3 και δ) μία αλληλουχία που ονομάζεται TAS (termination-associated sequence) που σηματοδοτεί την λήξη της αντιγραφής [65]. Η θέση έναρξης της αντιγραφής της ελαφριάς αλυσίδας (O_L) βρίσκεται σε μία μικρότερη μη κωδικοποιητική περιοχή [59].



Εικ. 13: Αντιγραφή του mtDNA με σχηματισμό θηλιάς εκτόπισης D-loop. (Πηγή: Garone, Caterina, Michal Minczuk, and Maria Falkenberg. "Mitochondrial DNA replication in mammalian cells: overview of the pathway." *Essays in biochemistry* 62.3 (2018): 287-296.)

Σημειώνεται ότι, έχουν προταθεί 3 μοντέλα αντιγραφής του δίκλωνου κυκλικού μιτοχονδριακού DNA. Ωστόσο, το επικρατέστερο ονομάζεται «ασύμμετρο» μοντέλο αντιγραφής (strand asymmetric model) ή αλλιώς αντιγραφή με εκτόπιση αλυσίδας (strand-displacement model) [65]. Σύμφωνα με αυτό, η αντιγραφή ξεκινάει με το ξετύλιγμα της διπλής έλικας του DNA που πραγματοποιείται μέσω ενός πρωταρχικού τμήματος RNA που συντίθεται από μία πριμάση. Στη συνέχεια ακολουθεί πρόσδεση της μιτοχονδριακής DNA πολυμεράσης POLG στην περιοχή O_H . (Εικ.14) Το ένζυμο προσθέτει, ως επακόλουθο, νουκλεοτίδια απέναντι από την μητρική βαριά αλυσίδα (H) επάγοντας τον διπλασιασμό της. Όταν η σύνθεση του νέου κλώνου της βαριάς αλυσίδας φτάσει στη περιοχή O_L , δημιουργείται μία θηλιά που ονομάζεται D-loop (θηλιά εκτόπισης) [66]. Σε αυτό το σημείο, δηλαδή στα 2/3 του κυκλικού DNA, η μιτοχονδριακή RNA πολυμεράση αντικαθίσταται από την μιτοχονδριακή DNA πολυμεράση, η οποία ξεκινάει τη σύνθεση της ελαφριάς αλυσίδας προς την αντίθετη κατεύθυνση [67]. Έπειτα, η διαδικασία συνεχίζεται αδιάκοπα μέχρι να σχηματιστούν πλήρως οι δύο νέοι κλώνοι των αλυσίδων του mtDNA [68].

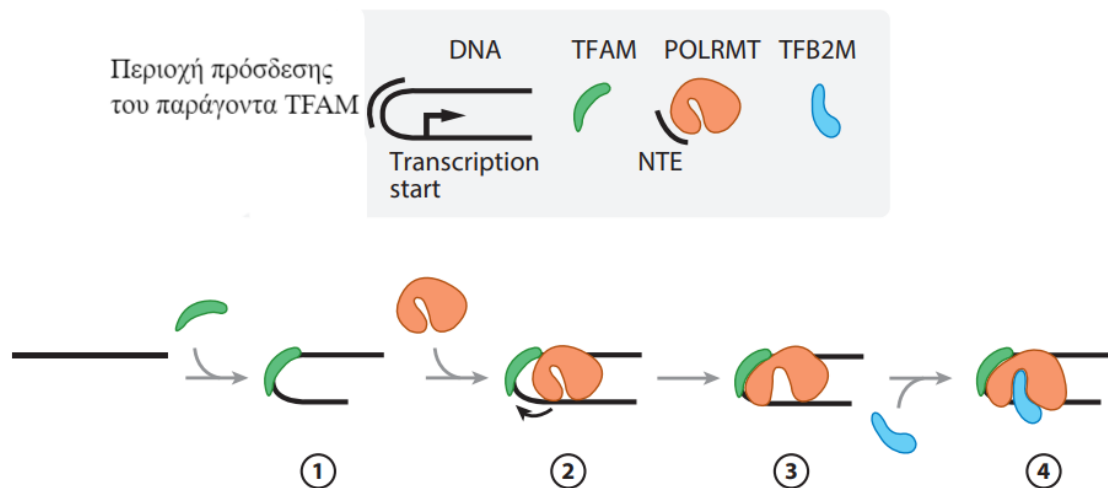


Εικ. 14: Αντιγραφή της βαριάς και της ελαφριάς αλυσίδας του μιτοχονδριακού DNA. (Πηγή: Zinovkina, L. A. "DNA Replication in Human Mitochondria." *Biochemistry (Moscow)* 84.8 (2019): 884-895.)

2.1.2. Μεταγραφή

Η μεταγραφή του mtDNA ξεκινάει από 2 εκκινητές που βρίσκονται στη βαριά αλυσίδα (HSP1 και HSP2) και έναν που αποτελεί μέρος της ελαφριάς αλυσίδας [64]. Αναφέρεται ότι η διαδικασία αυτή στηρίζεται σε παράγοντες που κωδικοποιούνται από το DNA του πυρήνα: α) τη μιτοχονδριακή RNA πολυμεράση (POLRMT), β) τον μεταγραφικό παράγοντα B₂ (TFB2M) και τον μεταγραφικό παράγοντα A (TFAM) [69]. (Εικ.15)

Η εκκίνηση της μεταγραφής πυροδοτείται από την πρόσδεση του παράγοντα TFAM στους εκκινητές του mtDNA. Στη συνέχεια, ο TFAM υποβοηθά την αποτελεσματική πρόσδεση της RNA πολυμεράσης στους εκκινητές. Ακολουθεί, τελευταίος ο μεταγραφικός παράγοντας TFB2M και σχηματίζεται έτσι το σύμπλοκο έναρξης της μεταγραφής [70].



Εικ. 15: Δημιουργία συμπλόκου εκκίνησης της μεταγραφής του mtDNA. (Πηγή: Gustafsson, Claes M., Maria Falkenberg, and Nils-Göran Larsson. "Maintenance and expression of mammalian mitochondrial DNA." *Annual review of biochemistry* 85 (2016): 133-160.)

Οι δύο αλυσίδες μεταγράφονται αρχικά ως «πολυσιστρονικά» mRNA, δηλαδή πρόδρομα και ενιαία mRNA και ύστερα διαχωρίζονται [64]. Τα προϊόντα της διάσπασης του πρόδρομου mRNA της βαριάς αλυσίδας είναι 2 rRNA, 12mRNA, 14tRNA. Αντιθέτως, από τη διάσπαση του μορίου που προκύπτει από τη μεταγραφή της ελαφριάς αλυσίδας απορρέουν 1 mRNA και 8tRNA [70]. Ωστόσο, τα μόρια αυτά για να προχωρήσουν στο επόμενο στάδιο, τη μετάφραση, υφίστανται περαιτέρω επεξεργασία όπως πολυαδενυλίωση και νουκλεοτιδικές αλλαγές [64].

2.1.3. Μετάφραση

Για να σχηματισθεί η μιτοχονδριακή πρωτεΐνη, χρειάζεται η γενετική πληροφορία από την «γλώσσα» των νουκλεοτιδίων να μεταφραστεί στην «γλώσσα» των αμινοξέων.

Η μετάφραση πραγματοποιείται στα ριβοσώματα των μιτοχονδρίων με την βοήθεια των μεταφορικών tRNAs, τα οποία αναγνωρίζουν μια τριπλέτα νουκλεοτιδίων, το κωδικόνιο και μεταφέρουν το συμπληρωματικό, για αυτή την τριπλέτα, αντικωδικόνιο που φέρει το αντίστοιχο αμινοξύ. Αυτή η αντιστοίχιση του κωδικονίου με το αμινοξύ έχει χαρτογραφηθεί, αναγράφεται ως «Γενετικός Κώδικας» και είναι σχεδόν καθολικός [71]. Ορισμένα μιτοχονδριακά κωδικόνια δεν κωδικοποιούν το ίδιο αμινοξύ με αυτό του πυρήνα. Οι αλλαγές του Γενετικού Κώδικα στα μιτοχόνδρια του ανθρώπου παραθέτονται στον Πίνακα 1 [72].

Πίνακας 1: Εξαιρέσεις του Γενετικού Κώδικα στο γενετικό υλικό των μιτοχονδρίων.

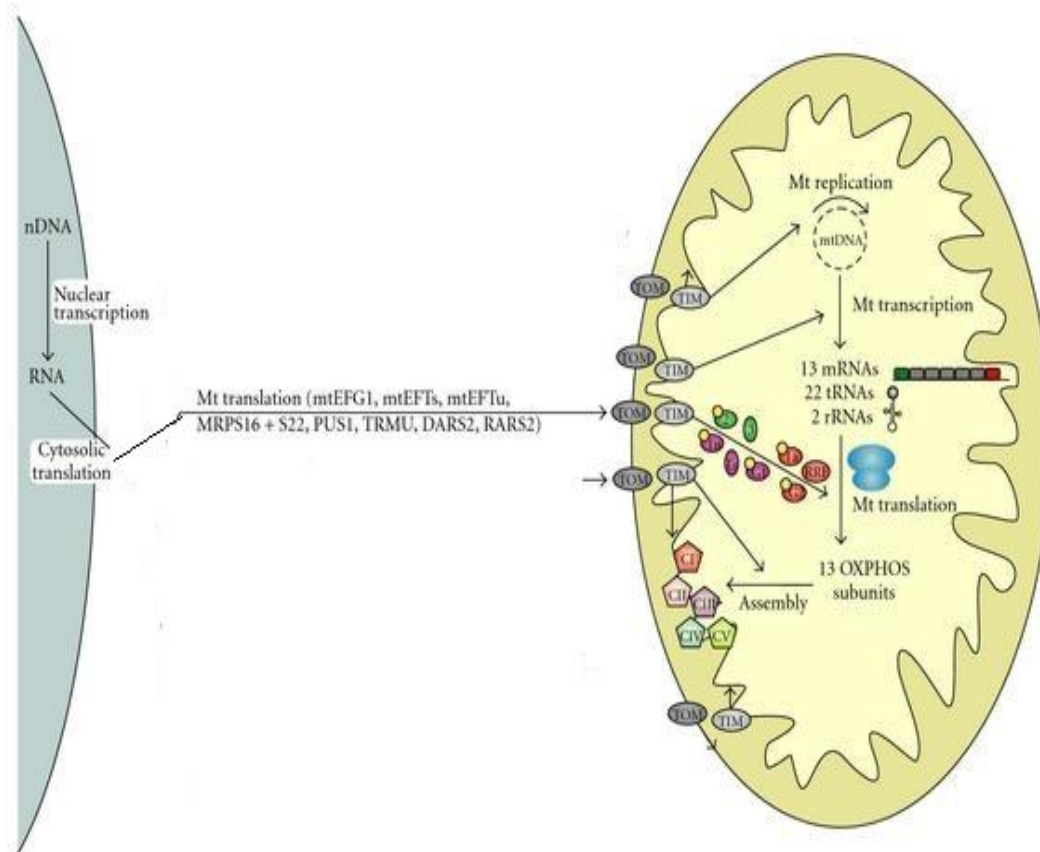
Κωδικόνιο	Παγκόσμιος Γενετικός Κώδικας	Μιτοχόνδρια
UGA	Κωδικόνιο λήξης	Τρυπτοφάνη
AUA	Ισολευκίνη	Μεθειονίνη
AGA και AGG	Αργινίνη	Κωδικόνια λήξης

Στην μήτρα των μιτοχονδρίων εντοπίζονται, ριβοσώματα 55S (συντελεστής ταχύτητας καθίζησης), όπως στα περισσότερα βακτήρια. Όμως, τα ανθρώπινα μιτοχονδριακά ριβοσώματα περιέχουν το μισό rRNA και την διπλάσια περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες, από αυτά. Δύο μοναδικά mt-rRNA μεταγράφονται από τα μιτοχόνδρια, ενώ οι μιτοχονδριακές ριβοσωμικές πρωτεΐνες, MRPs (Mitochondrial Ribosome Proteins), κωδικοποιούνται από το πυρηνικό DNA (nDNA) και μεταφέρονται στο μιτοχόνδριο μετά τη σύνθεσή τους και συναρμολογούν με τα rRNA τις 2 υπομονάδες των ριβοσωμάτων [73]. Η μικρή υπομονάδα αποτελείται από το 12S rRNA και 30 MRPs, ενώ η μεγάλη από το 16S rRNA και 48 MRPs [73] [74]. Τέλος τα μιτοχονδριακά ριβοσώματα έχουν μια εγγενή πρωτεΐνη σύνδεσης, GTP, στην μικρή υπομονάδα, η οποία βοηθά στην σύνδεση του tRNA με την υπομονάδα .

Η έναρξη της μετάφρασης ρυθμίζεται από τους μιτοχονδριακούς παράγοντες mtIF2 και mtIF3. Ο τελευταίος παράγοντας τοποθετεί τα κωδικόνια έναρξης AUA ή AUG του mRNA, που κωδικοποιούν την μεθειονίνη, στην μικρή υπομονάδα του μιτοχονδριακού ριβοσώματος. Για να ξεκινήσει η μετάφραση πρέπει ο εκκινητής, δηλαδή το mt-tRNA της μεθειονίνης (mt-tRNA^{Met}), να αυξήσει την συγγένεια του με τον παράγοντα mtIF2. Αυτό επιτυγχάνεται με την προσθήκη μιας φορμυλομάδας στην αμινομάδα της μεθονίνης, που έχει ως αποτέλεσμα τον εκκινητή fMet-tRNA^{Met}. Έτσι ο mtIF2 κατευθύνει τον εκκινητή να συνδεθεί με το mt-mRNA [75].

Η επιμήκυνση του νεοσυντιθέμενου πεπτιδίου πραγματοποιείται από τους αντίστοιχους παράγοντες μιτοχονδριακής επιμήκυνσης, τους EFTu, EFTs και EFGM, οι οποίοι μετακινούν κατά ένα κωδικόνιο το mt-mRNA στο ριβόσωμα, ώστε να έρθει ένα νέο mt-tRNA και να προστεθεί ένα νέο αμινοξύ στην νεοσυντιθέμενη αλυσίδα [76]. (Εικ.16)

Ο τερματισμός της μιτοχονδριακής μετάφρασης πυροδοτείται, όπως και στην πυρηνική μετάφραση, από ένα κωδικόνιο λήξης. Οι πρωτεΐνες που είναι υπεύθυνες για τον τερματισμό της σύνθεσης του πεπτιδίου είναι, οι mtRF1, mtRF1a, C12orf65 και ICT1. Αυτές αναγνωρίζουν το κωδικόνιο λήξης (UAG ή UAA) και υδρολύουν το δεσμό μεταξύ του mt-tRNA με το πολυπεπίδιο που έχει παραχθεί [75]. Τέλος, οι παράγοντες «ανακύκλωσης» mtRRF και EFG2 καταστρέφουν το mt-tRNA και τις ριβοσωμικές υπομονάδες [77].



Εικ. 16: Οι παράγοντες επιμήκυνσης κωδικοποιούνται από το πυρηνικό DNA. (Πηγή: Smits, Paulien, Jan Smeitink, and Lambert van den Heuvel. "Mitochondrial translation and beyond: processes implicated in combined oxidative phosphorylation deficiencies." *Journal of Biomedicine and Biotechnology* 2010 (2010). (Τροποποιημένη))

2.2. Διαφορές πυρηνικού – μιτοχονδριακού DNA

Τα μιτοχονδριακά και τα πυρηνικά γονίδια αλληλοεξαρτώνται λειτουργικά. Υπάρχουν όμως, πολλά σημεία στα οποία εντοπίζονται βιολογικά ουσιαστικές διαφορές [78].

Στον Πίνακα 2 παρουσιάζονται συγκεντρωτικά ορισμένες από αυτές.

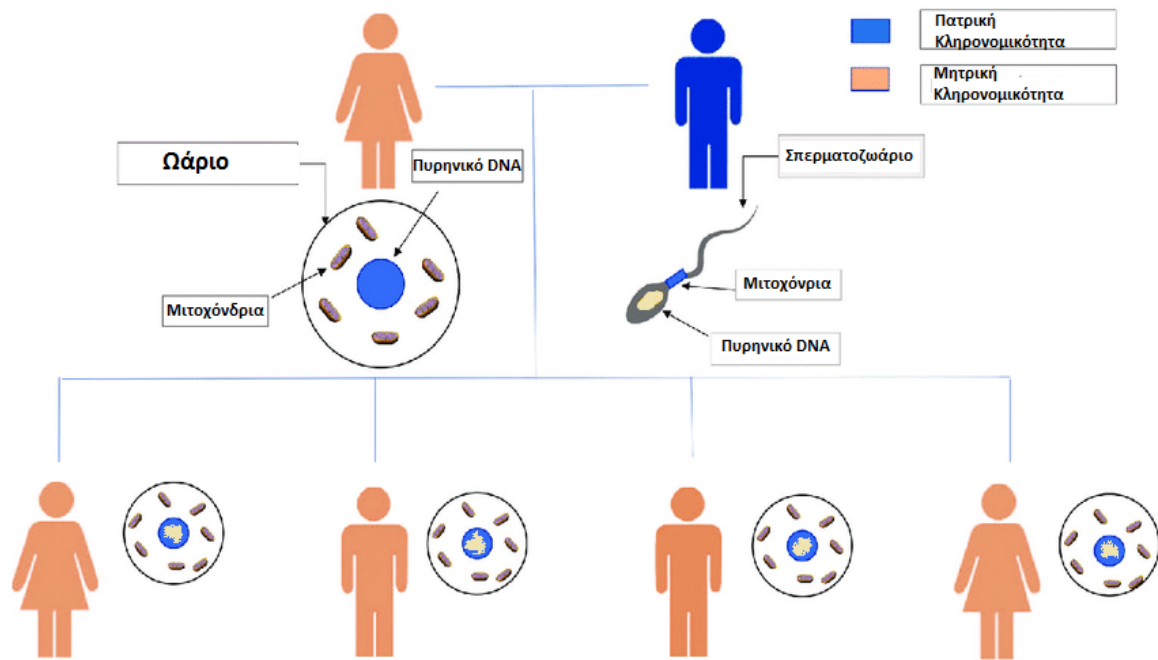
Πίνακας 2. Διαφορές πυρηνικού και μιτοχονδριακού γονιδιώματος.

(Πηγές: α) <https://www.nature.com/scitable/topicpage/mtdna-and-mitochondrial-diseases-903/> και β) Κλάδη, Αθηνά. Μελέτη του μιτοχονδριακού DNA σε ασθενείς με νευρολογικά νοσήματα. Diss, National and Kapodistrian University of Athens; Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών (ΕΚΠΑ), (2000): Σελ 30)

	<u>Πυρηνικό DNA</u>	<u>Μιτοχονδριακό DNA</u>
1.	Είναι γραμμικό	Είναι κυκλικό
2.	Πακετάρεται σε μόρια χρωματίνης	Δεν συσκευάζεται σε μόρια χρωματίνης (οπότε δε συνδέεται με ιστόνες)
3.	Κάθε κύτταρο περιέχει ένα αντίγραφο πυρηνικού DNA	Σε κάθε κύτταρο υπάρχουν χιλιάδες αντίγραφα mtDNA
4.	Το 93% περιέχει μη κωδικοποιητικές περιοχές	Μόνο το 3% περιέχει μη κωδικοποιητικές περιοχές
5.	Μενδελικός τύπος κληρονομικότητας	Μη μενδελικός τύπος κληρονομικότητας-Μητρική (όπως θα αναλυθεί παρακάτω)
6.	Περιέχει εσόνια, που αφαιρούνται κατά την ωρίμανση του mRNA	Δεν περιέχει εσόνια
7.	Κάθε κωδικόνιο συνδέεται συμπληρωματικά με ένα αντικωδικόνιο	Είναι πιο χαλαροί οι νόμοι κωδικονίου - αντικωδικονίου
8.	Βασίζεται στον κλασσικό γενετικό κώδικα	4 κωδικόνια από τα 64 του κλασσικού έχουν διαφορετική πληροφορία σε αμινοξέα
9.	Έχει εξελιγμένους μηχανισμούς επιδιόρθωσης	Διαθέτει λιγότερο αποτελεσματικούς μηχανισμούς επιδιόρθωσης

2.3. Κληρονομικότητα του μιτοχονδριακού γενετικού υλικού

Όπως προαναφέρθηκε, το μιτοχονδριακό DNA ανακαλύφθηκε την δεκαετία του 1960 [79]. Λίγα χρόνια αργότερα και συγκεκριμένα το 1972 έγινε ευρέως γνωστό, ότι το mtDNA κληρονομείται αποκλειστικά από την μητέρα [80]. (Εικ. 17) Αυτό το φαινόμενο κατά το οποίο κληρονομείται μονογονεϊκά ο μητρικός γονότυπος ορίζεται ως μητρική κληρονομικότητα και είναι ασύμβατη με τους κανόνες του Mendell [8]. Σήμερα γνωρίζουμε ότι τα μιτοχόνδρια παρέχουν την απαραίτητη ενέργεια για να κινηθεί το μαστίγιο των σπερματοζωαρίων προς το ωοκύτταρο. Αν και εντοπίζονται ως ένας δακτύλιος στην ουρά των γεννητικών κυττάρων του άνδρα, κατά την γονιμοποίηση τα πατρικά μιτοχόνδρια εισέρχονται μέσα στο ωάριο [81]. Ο μηχανισμός που αποτρέπει την μεταβίβαση του πατρικού μιτοχονδριακού υλικού στους απόγονους του δεν έχει διαπιστωθεί ακόμα. Από την άλλη πλευρά υπάρχουν δυο θεωρίες που μπορούν να τεκμηριώσουν την μητρική κληρονόμηση των μιτοχονδρίων στο ζυγωτό. Η πρώτη ονομάζεται «Μοντέλο απλής αραίωσης». Υποστηρίζεται, λόγω της μεγάλης ποσότητας mtDNA αντιγράφων που φέρουν τα ωοκύτταρα σε σύγκριση με αυτά των σπερματοζωαρίων, το ποσοστό από τον πατέρα να είναι αμελητέο και δύσκολα ανιχνεύσιμο στον απόγονο [66]. Ειδικότερα, στα σπερματοζωάρια περιέχονται μερικές εκατοντάδες αντίγραφα mtDNA, ενώ στα ωάρια τα αντίγραφα ξεπερνούν τις εκατοντάδες χιλιάδες [82]. Η δεύτερη υπόθεση, όπου και οι περισσότερες έρευνες τείνουν προς αυτήν, ονομάζεται «Μοντέλο δραστηκής αποδόμησης». Πιστεύεται, ότι τα μιτοχόνδρια αποκοιμούνται επιλεκτικά μετά την γονιμοποίηση με ειδικούς μηχανισμούς [66]. Στα ποντίκια και στο παράσιτο *C. elegans* τα μιτοχόνδρια των σπερματοζωαρίων, βρέθηκαν να αποβάλλονται μέσω της λυσοσωμικής οδού με την βοήθεια της πρωτεΐνης-υποδοχέα LC3 του αυτοφαγосώματος (μιτοφαγία). Ένας ακόμη μηχανισμός που ενισχύει την θεωρία περί της στοχευόμενης αποικοδόμησης των μιτοχονδρίων είναι αυτή της μιτοχονδριακής ενδονουκλεάσης G (EndoG). Διαπιστώθηκε ότι στην μύγα, *Drosophila melanogaster*, η EndoG των πατρικών μιτοχονδρίων, μεταφέρεται από τον διαμεμβρανικό χώρο στο στρώμα του οργανιδίου, αμέσως μετά την γονιμοποίηση, όπου ενεργοποιείται και τα πατρικής προέλευσης μιτοχόνδρια αποικοδομούνται [83]. Είναι σημαντικό να ειπωθεί ότι το 2016 μια έρευνα έδειξε ότι τα ανθρώπινα μιτοχόνδρια των σπερματοζωαρίων φέρουν τις κατάλληλες πρωτεΐνες που είναι υπεύθυνες για την μιτοφαγία μετά την γονιμοποίηση τους με το ωάριο [84].



Εικ. 17: Οι απόγονοι κληρονομούν το πυρηνικό γενετικό υλικό και από τους δύο γονείς, δηλαδή 50% από την μητέρα και 50% από τον πατέρα. Αντίθετα το μιτοχονδριακό γενετικό υλικό κληρονομείται εξ ολοκλήρου από την μητέρα. (Πηγή: Ortiz, Genaro Gabriel, et al. "Mitochondrial Aging and Metabolism: The Importance of a Good Relationship in the Central Nervous System." *Mitochondrial DNA: New Insights (2018): 155*(Τροποποιημένη))

Ενώ παραμένει ως κεντρικό δόγμα ότι το mtDNA είναι μητρικής προέλευσης, ο κανόνας αυτός αποκαλύπτει ότι έχει εξαιρέσεις. Η πρώτη αναφορά για «διαρροή» του πατρικού mtDNA γίνεται το 2002, όταν ένας 28χρόνος έπασχε από μυοπάθεια. Για να βρεθεί η αιτιολογία χρειάστηκε να γίνει προσδιορισμός του mtDNA και διαπιστώθηκε ότι στα μιτοχόνδρια των μυών του δεν έχει το ίδιο mtDNA με της μητέρας του. Με περαιτέρω διερεύνηση αποδείχθηκε ότι το mtDNA στα μυϊκά κύτταρα ήταν πανομοιότυπο με αυτό του πατέρα [85]. Η μεταβίβαση του πατρικού mtDNA στον απόγονο, πιθανόν να συνέβη λόγω μεταλλάξεων στο γενετικό υλικό των μιτοχονδρίων του σπερματοζωαρίου και να αποφεύχθηκε η αποδόμηση του στο ωάριο, με αποτέλεσμα να ξεκινήσει η αντιγραφή του στο ζυγωτό [86]. Από τότε έχουν εμφανιστεί παρόμοιες περιπτώσεις που οι απόγονοι κληρονομούν και το πατρικό mtDNA μέσω μεταλλάξεων σε αυτό [85]. Έτσι ορίστηκαν δυο έννοιες για τα αντίγραφα μιτοχονδριακού DNA. Πιο συγκεκριμένα, όταν ένας οργανισμός φέρει πανομοιότυπα αντίγραφα mtDNA ονομάζεται ομοιοπλασμία, ενώ όταν ένας οργανισμός φέρει μείγμα 2 διαφορετικών γονότυπων mtDNA, καλείται ετεροπλασμία [87]. Γι' αυτήν την κατάσταση οφείλονται μεταλλάξεις στο πυρηνικό ή στο μιτοχονδριακό DNA και αυτές μπορούν να οδηγούν σε μιτοχονδριακές ασθένειες [83].

Κεφάλαιο 3: Μεταλλάξεις μιτοχondριακού DNA

3.1. Αίτια μιτοχondριακών μεταλλάξεων

Το mtDNA είναι ιδιαίτερα ευάλωτο σε μεταλλάξεις είτε επειδή βρίσκεται πολύ κοντά στην εσωτερική μεμβράνη που γίνεται η οξειδωτική φωσφορυλίωση και παράγονται οι δραστικές μορφές οξυγόνου, είτε λόγω της απουσίας αποτελεσματικών μηχανισμών επιδιόρθωσης [88]. Το 1988, αποτελεί έτος «ορόσημο» για την ανακάλυψη των πρώτων μιτοχondριακών μεταλλάξεων [89]. Από τότε, έχουν ταυτοποιηθεί περισσότερες από 300 μεταλλάξεις του μιτοχondριακού γονιδιώματος που σχετίζονται με την εμφάνιση νοσημάτων [90]. Διάφορες επιδημιολογικές μελέτες υποδεικνύουν ότι η συχνότητα τους είναι 1:8000 άτομα στον καυκάσιο πληθυσμό [91]. Χωρίστηκαν σε τρεις κύριες κατηγορίες:

- (1) Σημειακές μεταλλάξεις σε γονίδια που κωδικοποιούν rRNA και tRNA, οι οποίες διαταράσσουν την πρωτεϊνοσύνθεση,
- (2) Αναδιατάξεις που οδηγούν σε διπλασιασμούς ή ελλείμματα στο mtDNA,
- (3) Μεταλλάξεις σε κωδικές περιοχές γονιδίων που διαδραματίζουν κομβικό ρόλο στην μιτοχondριακή αντιγραφή και μεταγραφή [64].

Αξίζει να σημειωθεί το γεγονός ότι περισσότερες από 90 μεταλλάξεις που προκαλούν νοσήματα έχουν βρεθεί στα 20 από τα 22 tRNA και αποτελούν την κύρια αιτία ανωμαλιών στην οξειδωτική φωσφορυλίωση [91]. Κυρίως πρόκειται για σημειακές μεταλλάξεις με συχνότητα 1:200 άτομα και συνδέονται με κλινικά συμπτώματα που κυμαίνονται από μία κώφωση έως την ασθένεια MELAS, μία σοβαρή νευρολογική πάθηση [92].

Ιδιαίτερα σημαντική αιτία μεταλλαξιγένεσης κρίνεται η αναπόφευκτη παραγωγή ROS μέσω της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης. Προτείνεται ότι, οι δραστικές μορφές οξυγόνου βλάπτουν το μιτοχondριακό γονιδίωμα και οδηγούν σε οξειδωτικό στρες [88]. Επίσης, τα τελευταία χρόνια έχει αποδειχθεί από διάφορες θεωρίες η συσχέτιση της γήρανσης με μεταλλάξεις στο μιτοχondριακό DNA [93]. Η θεωρία MFRTA (mitochondrial free radical theory of aging) υποδεικνύει ότι οι μιτοχondριακές μεταλλάξεις των σωματικών κυττάρων συσσωρεύονται με το πέρασμα των χρόνων και η οξειδωτική βλάβη εντείνεται. Εκτός από αυτό, η γήρανση θεωρείται ότι αποβαίνει σε αποδυνάμωση της λειτουργίας της αναπνευστικής αλυσίδας, γεγονός που απορρέει από την φυσιολογική μείωση των

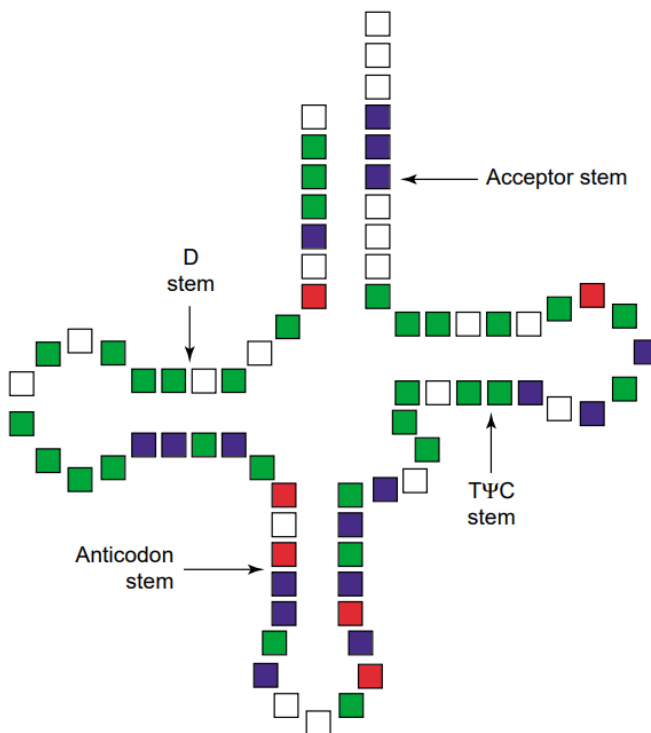
ορμονικών επιπέδων. Άλλος ένας παράγοντας, είναι η εξασθένηση της αντιοξειδωτικής άμυνας του οργανισμού [94].

Το αποτέλεσμα των μεταλλάξεων είναι μία σειρά από κυτταρικές μεταβολές όπως η ενδοκυττάρια αύξηση του ROS, διαταραχές στην ομοιόσταση του ασβεστίου, η αποδιοργάνωση της διαδικασίας της απόπτωσης και κυρίως η ανεπαρκής παραγωγή ενέργειας [95]. Η μειωμένη παραγωγή ATP είναι κατά κύριο λόγο υπεύθυνη για την κυτταρική δυσλειτουργία, η οποία οδηγεί σε πολύπλοκες διαταραχές που ονομάζονται μιτοχονδριακές ασθένειες [91].

3.2. Δομή και μεταλλάξεις των μιτοχονδριακών tRNA

Τα γονίδια που κωδικοποιούν το μιτοχονδριακό μεταφορικό RNA (tRNA) αποτελούν μόνο το 8% του συνολικού μιτοχονδριακού γονιδιώματος. Παρόλα αυτά, η συχνότητα των παθογόνων παραλλαγών που συμβαίνουν σε αυτά, είναι σημαντικά υψηλότερη (έως και 8,5 φορές) από την αντίστοιχη των γονιδίων που κωδικοποιούν το mt-mRNA [96].

Τα μόρια tRNA έχουν δευτεροταγή δομή, η οποία προσομοιάζεται με τη μορφή ενός «τριφυλλιού» που αποτελείται από 3 θηλιές (loops) και 4 στελέχη (stems) [97]. (Εικ.18)



Εικ. 18: Δομή tRNA. (Πηγή: Wittenhagen, Lisa M., and Shana O. Kelley. "Impact of disease-related

mitochondrial mutations on tRNA structure and function." Trends in biochemical sciences 28.11 (2003): 605-611.)

Οι μεταλλάξεις των tRNA γονιδίων χωρίζονται σε 2 κατηγορίες: (1) τους πολυμορφισμούς που δεν προκαλούν αλλαγές στην

τριδιάστατη δομή του tRNA και (2)

τις παθογόνες μεταλλάξεις που συσχετίζονται με σοβαρές ασθένειες.

Παθογόνες μεταλλάξεις έχουν εντοπιστεί κυρίως σε 3 γονίδια

tRNA: tRNA^{Leu}, tRNA^{Ile}, tRNA^{Lys}

[98]. (Εικ.19) Παρόλο που έχουν

εντοπιστεί ορισμένες ομοπλασμικές

μεταλλάξεις των tRNA γονιδίων,

στην πλειονότητα τους είναι

ετεροπλασμικές και προκαλούν

νόσους εάν περάσουν μία

συγκεκριμένη τιμή (κατώφλι)

μεταλλαγμένων γονιδίων. Το

κατώφλι διαφέρει ανάλογα με τον

ιστό και συχνά απαντάται στο 70-

90% των συνολικών γονιδίων [97].

	tRNA	Pathogenic Mutations	Polymorphic Mutations
1	tRNA ^{Leu(UUR)}	28	7
2	tRNA ^{Lys}	14	9
3	tRNA ^{Ile}	14	7
4	tRNA ^{Leu (CUN)}	10	11
5	tRNA ^{Thr}	8	29
6	tRNA ^{Ser(UCN)}	7	10
7	tRNA ^{Phe}	7	10
8	tRNA ^{Val}	6	10
9	tRNA ^{Trp}	6	13
10	tRNA ^{Gly}	5	12
11	tRNA ^{Tyr}	4	7
12	tRNA ^{Pro}	4	9
13	tRNA ^{Asn}	4	7
14	tRNA ^{Gln}	3	15
15	tRNA ^{His}	3	11
16	tRNA ^{Met}	3	6
17	tRNA ^{Ala}	3	11
18	tRNA ^{Ser(AGY)}	3	13
19	tRNA ^{Glu}	3	9
20	tRNA ^{Cys}	2	16
21	tRNA ^{Asp}	2	11
22	tRNA ^{Arg}	0	9
	Total	139	243

Εικ. 19: Πολυμορφισμοί και μεταλλάξεις των tRNA γονιδίων. (Πηγή: Zifa, Emily, et al.

"Mitochondrial tRNA mutations: clinical and functional perturbations." RNA biology 4.1 (2007): 38-66.)

3.3. Κληρονόμηση μιτοχονδριακών ασθενειών

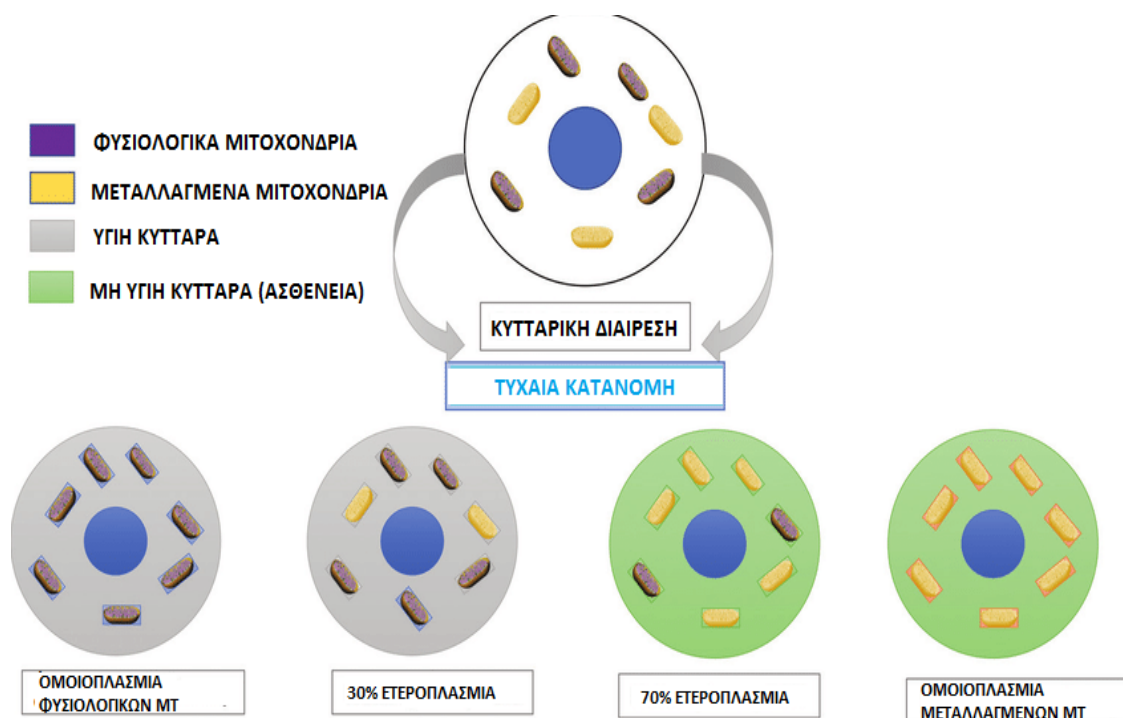
Τα χαρακτηριστικά της κληρονομικότητας των μιτοχονδριακών ασθενειών είναι τρία. Πρώτον το μιτοχονδριακό γονιδίωμα είναι μητρικής προέλευσης. Δεύτερον υπάρχουν πολλά αντίγραφα mtDNA σε κάθε κύτταρο και ο αριθμός τους ποικίλει, τρίτον υπάρχουν τα φαινόμενα της ομοιοπλασμίας και ετεροπλασμίας. Στην πρώτη περίπτωση δηλαδή, τα μιτοχόνδρια σε ένα κύτταρο είναι όλα φυσιολογικά ή όλα μεταλλαγμένα, ενώ στην δεύτερη περίπτωση υπάρχουν στο ίδιο κύτταρο και μεταλλαγμένα και φυσιολογικά μιτοχόνδρια. Τα ωοκύτταρα διαφέρουν στο ποσοστό του mtDNA μεταξύ τους και αυτό οφείλεται στην μιτοχονδριακή γενετική των ωαρίων [99].

Πιο συγκεκριμένα, κατά την ωογένεση εμφανίζεται το φαινόμενο «μιτοχονδριακός στενότυπος» (mitochondrial bottleneck). Στα προγονικά βλαστικά κύτταρα του ωαρίου (PGCs) ο μιτοχονδριακός πολλαπλασιασμός αναστέλλεται, άρα το ποσοστό του mtDNA μειώνεται. Όταν σχηματιστούν τα ωοκύτταρα, τα αντίγραφα του mtDNA αυξάνονται, ώστε κατά τα την ωρίμανση τους, τα ωάρια να μπορούν να στηρίξουν τις ενεργειακές απαιτήσεις για την ανάπτυξη του ζυγωτού [100]. Τα μιτοχόνδρια μετά από αυτή την μείωση και αύξηση τους, κατανέμονται ασύμμετρα και τυχαία στα κύτταρα [99].

Ο μηχανισμός αυτός μπορεί να οδηγήσει σε έναν απόγονο που μπορεί να έχει ομοιοπλασμία σε φυσιολογικά μιτοχόνδρια, ομοιοπλασμία σε μεταλλαγμένα μιτοχόνδρια ή ετεροπλασμία, από μια μητέρα που έχει ετεροπλασμικά μιτοχόνδρια [100]. (Εικ. 20) Αυτό το φαινόμενο ισχύει και στα σωματικά κύτταρα του ανθρώπου, οπότε σε διαφορετικούς ιστούς μπορούμε να έχουμε διαφορετικές αναλογίες αλληλομόρφων του mtDNA, διαφορετικό φαινότυπο και διαφορετικά κλινικά συμπτώματα μιας ασθένειας μέσα στο ίδιο γενεαλογικό δέντρο [99].

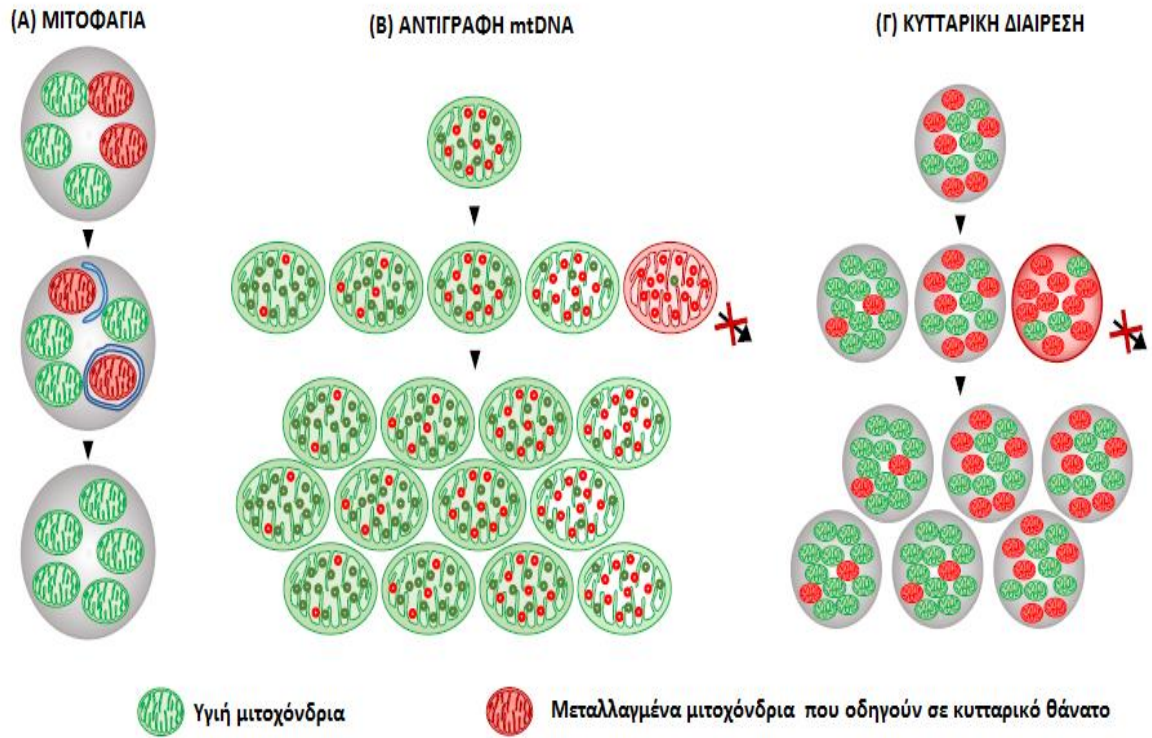
Αυτή η ετερογένεια της ετεροπλασμίας και ομοιοπλασμίας οφείλεται στο φαινόμενο του μιτοχονδριακού στενοτύπου, αλλά ο τρόπος εφαρμογής του ποικίλει. Οι μηχανισμοί που βοηθούν στην κατανομή του mtDNA σε διαφορετικά μιτοχόνδρια και διαφέρει μεταξύ διαφορετικών ειδών κυττάρων είναι τρεις: (Εικ. 21)

- (1) Η εστιακή αντιγραφή του mtDNA.
- (2) Εστιακή καταστροφή mtDNA. (Μιτοφαγία)
- (3) Διαχωρισμός mtDNA από το ίδιο το κύτταρο [101].



Εικ. 20: Τυχαία και απρόβλεπτη κατανομή των μιτοχονδρίων (MT) στα θυγατρικά κύτταρα. (Πηγή: Ortiz, Genaro Gabriel, et al. "Mitochondrial Aging and Metabolism: The Importance of a Good Relationship in the Central Nervous System." *Mitochondrial DNA: New Insights* (2018): 155.)

Μέχρι σήμερα η ετεροπλάσμία θεωρούταν πολύ σπάνιο φαινόμενο. Έρευνες, αποδεικνύουν ότι μητέρες με υψηλό ποσοστό μεταλλαγμένων μιτοχονδριακών μορίων είναι πιθανό να αποκτήσουν προσβεβλημένους απογόνους, όμως κίνδυνο διατρέχουν και μητέρες που μεταδίδουν σε χαμηλό ποσοστό σπάνιες μεταλλαγές που προκαλούν σοβαρές μιτοχονδριακές ασθένειες [102]. Επιπλέον, ερευνητές έχουν συσχετίσει την ηλικία των μητέρων κατά την κύηση με την πιθανότητα να μεταβιβάσουν κάποια ασθένεια στους απογόνους. Αποδείχθηκε ότι, γυναίκες που έμειναν έγκυος 40 ετών και άνω, με χαμηλό ποσοστό μεταλλαγμένων αλληλομόρφων, έχουν αυξημένες πιθανότητες να μεταδώσουν κάποια ασθένεια στον παιδί τους σε σύγκριση με κάποια νεότερης σε ηλικία. Πλέον, ένα στα οχτώ άτομα (1:8) φέρουν ετεροπλάσμιες που σχετίζονται με μιτοχονδριακές ασθένειες [103].



Εικ. 21: Τα μεταλλαγμένα μιτοχόνδρια μπορούν προκαλέσουν κυτταρικό θάνατο ή να αυτοκαταστραφούν, λόγω των μεταλλάξεων στο mtDNA που τα καθιστά ανίκανα να τελέσουν σωστά τις λειτουργίες τους. (Πηγή : Garone, Caterina, et al. "The mitochondrial DNA genetic bottleneck: inheritance and beyond." *Essays in Biochemistry* 62.3 (2018): 225-234.)

3.4. Κλινικοί φαινότυποι μεταλλάξεων

Κατά γενική ομολογία, κάθε μιτοχονδριακή μετάλλαξη μπορεί να επιφέρει διαφορετικά, ποικίλης σοβαρότητας, συμπτώματα. Εντούτοις, οι μιτοχονδριακές ασθένειες έχουν ευρύ φάσμα και η παθοφυσιολογική ανάλυση τους κρίνεται δύσκολη [88]. Στην εικόνα 22, αναφέρονται σε γενικά πλαίσια οι κλινικοί φαινότυποι των μεταλλάξεων.



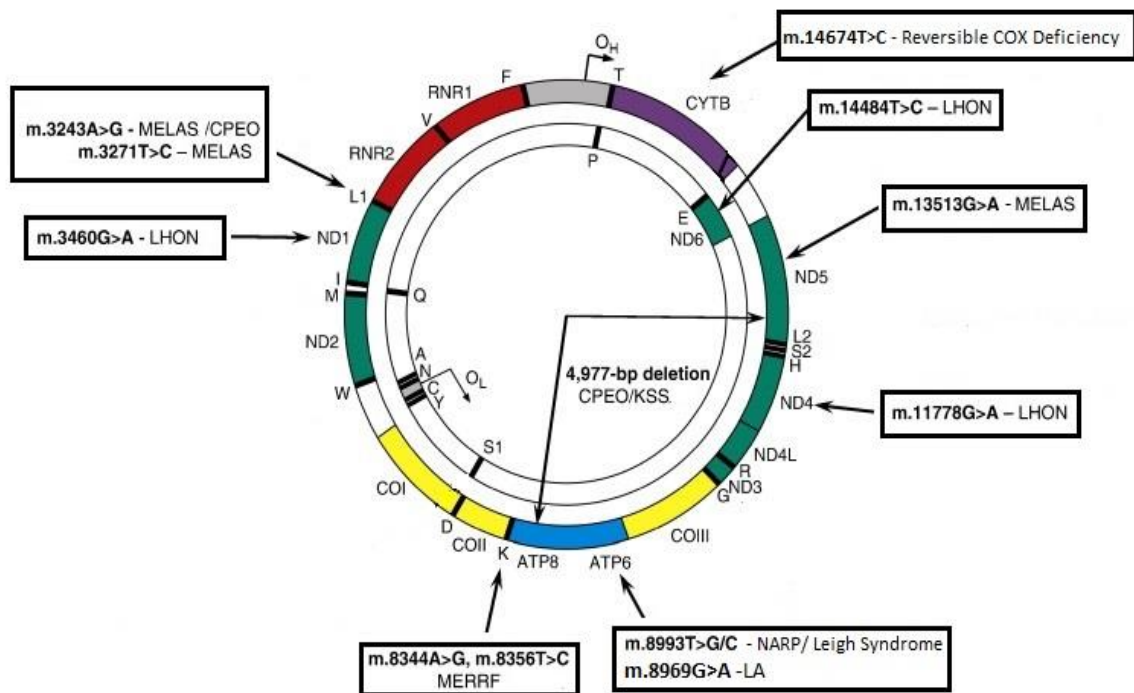
Εικ. 22: Ιστοί που προσβάλλονται από τις μεταλλάξεις του mtDNA και οι κλινικοί φαινότυποι των ασθενειών. (Πηγή: Bates, Matthew GD, et al. "Cardiac involvement in mitochondrial DNA disease: clinical spectrum, diagnosis, and management." *European heart journal* 33.24 (2012): 3023-3033.)

Κεφάλαιο 4: Μιτοχονδριακές Ασθένειες

4.1. Εισαγωγή στις μιτοχονδριακές ασθένειες

Σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Μιτοχονδριακών Νοσημάτων (UMDF), μιτοχονδριακή ασθένεια ορίζεται η ανικανότητα των μιτοχονδρίων να μετατρέψουν την τροφή και το οξυγόνο σε ενέργεια. Αυτή η ανωμαλία έχει ως αποτέλεσμα να αλλοιωθούν κάποια κύτταρα και να οδηγηθούν σε κυτταρικό θάνατο. Όταν επαναλαμβάνεται η διαδικασία αυτή σε ολόκληρο το σώμα, τα συστήματα του οργανισμού υπολειπονται και τελικά σταματούν να λειτουργούν. Η δυσλειτουργία του μιτοχονδρίου μπορεί να οφείλεται είτε σε μεταλλάξεις του πυρηνικού γονιδιώματος, είτε του μιτοχονδριακού. Είναι πλέον γνωστό ότι κάθε 30 λεπτά ένα παιδί που γεννιέται, θα αποκτήσει μιτοχονδριακή ασθένεια έως την ηλικία των 10 ετών [104]. Σε αυτήν την διπλωματική αναλύονται οι μιτοχονδριακές νόσοι, που οφείλονται στις μεταλλάξεις του mtDNA.

(Εικ. 23)



Εικ. 23: Στο δίκλωνο κυκλικό DNA του μιτοχονδρίου, αναγράφονται οι μεταλλάξεις των γονιδίων που προκαλούν τα ανθρώπινα μιτοχονδριακά νοσήματα. (Πηγή : Tuppen, Helen AL, et al. "Mitochondrial DNA mutations and human disease." *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics* 1797.2 (2010): 113-128.)

4.2. Μιτοχονδριακές ασθένειες που προκαλούνται από μεταλλάξεις στο mtDNA

Στην εποχή του 19^{ου} με 20^{ου} αιώνα ξεκίνησαν οι πρώτες αναφορές για ανθρώπινες ασθένειες, που σχετίζονταν με μεταλλάξεις στο μιτοχονδριακό γονιδίωμα [89]. Σήμερα, είναι ευρέως γνωστό ότι οι ασθένειες που οφείλονται σε μεταλλάξεις του mtDNA συνδέονται με προβλήματα στην αναπνευστική αλυσίδα και ποικίλουν από σχετικά ελαφριάς μορφής (Κώφωση και διαβήτη τύπου 2) έως και περίπλοκα πολυσυστημικά σύνδρομα [105]. Στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 3) αναλύονται οι μιτοχονδριακές ασθένειες ως προς τα αίτια και τα συμπτώματά τους.

Πίνακας 3: Κύριες μιτοχονδριακές ασθένειες που οφείλονται σε σημειακές μεταλλάξεις ή ελλείψεις στο mtDNA και πως αυτές εκδηλώνονται στον οργανισμό. (Πηγές: α)UMDF <https://www.umdf.org/what-is-mitochondrial-disease/types-of-mitochondrial-disease/> β) <https://rarediseases.info.nih.gov/>)

ΑΣΘΕΝΕΙΑ	ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ	ΑΙΤΙΑ	ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΑ
Reversible COX Deficiency (Complex IV)	Αντιστρεπτή ανεπάρκεια COX. Ασθένεια που προκαλεί εγκεφαλομυοπάθεια και μυοπάθεια.	Στο mt-tRNA ^{Glu} σημειακή μετάλλαξη στο m.14674 T>C ή T>G [106] [107]	Αναιμία, Αταξία, Γαλακτική οξέωση, Οπτική Ατροφία, Αναπνευστική ανεπάρκεια, Μειωμένη λειτουργία ήπατος κ.α.
CPEO (Chronic Progressive External Ophthalmoplegia Syndrome)	Σύνδρομο χρόνιας προοδευτικής εξωτερικής οφθαλμοπληγίας. Νευρομυϊκή ασθένεια.	Ελλείμματα τμημάτων mtDNA (σαν KSS) και στο mt-tRNA ^{Leu} σημειακή μετάλλαξη στο A.3243 A>G [91]	Δυσλειτουργία ΚΝΣ, Αμφιβληστροειδίτιδα, Οπτική μυοπάθεια, Πτώση βλεφάρων, Μυοπάθεια σκελετικών μυών, Δυσφαγία. κ.α.
KSS (Kearns Sayre Syndrome)	Αργή προοδευτική μιτοχονδριακή ασθένεια που επιβαρύνει πολλαπλά συστήματα. Συνήθως εμφανίζεται πριν την ηλικία των 20.	Μεγάλο έλλειμμα 5 Kb mtDNA (βλ. Εικ. 23)	Πτώση βλεφάρων, Παράλυση της κίνησης των ματιών, εκφυλισμός αμφιβληστροειδούς, Αταξία ,κώφωση, Μυοπάθεια, Νεφρική δυσλειτουργία, Άνοια κ.α.

Lactic Acidosis (Γαλακτική οξέωση)	Συσώρευση γαλακτικού οξέων, λόγω μεγάλης παραγωγής και μειωμένης κατανάλωσης .	Στο γονίδιο MT-ATP6 γίνεται σημειακή αντικατάσταση στο m.8969G>A [108]	Θάνατος σε βρεφική ή παιδική ηλικία, Μειωμένα αντανακλαστικά τενόντων, Κώφωση, Υπογλυκαιμία, Υποθερμία κ.α.
Leigh Disease (Subacute Necrotizing Encephalomyelopathy)	Υποξεία νεκρωτική εγκεφαλομυοπάθεια. Προοδευτική νευρομεταβολική νόσος που εμφανίζεται συνήθως μετά από ιογενή λοίμωξη.	Κυρίως μεταλλάξεις mtDNA στο Σύμπλοκο V, στο MT-ATP6 αντικατάσταση m.8993 T>C ή m.8993 T>G [108]	Θάνατος σε βρεφική ηλικία, Εγκεφαλομυοπάθεια, Επιληπτικές κρίσεις, Κώμα, Αναπνευστικά προβλήματα, Αταξία, Δυσκολία στην κατάποση. κ.α.
LHON (Leber hereditary optic neuropathy)	Ασθένεια που χαρακτηρίζεται από εκφυλισμό των γαγγλίων του αμφιβληστροειδούς	Το 90% των περιπτώσεων αφορά τις μεταλλάξεις m.11778G>A (MT-ND4) m.14484T>C (MT-ND6) m.3460G>A (MT-ND1) [109]	Θόλωση της όρασης, Οπτική ατροφία, Σοβαρή απώλεια οπτικής οξύτητας και έγχρωμης όρασης κ.α. Αιφνίδια και ανώδυνη απώλεια της κεντρικής όρασης, το τελευταίο στάδιο.
MERRF (Myoclonic epilepsy with ragged red fibers)	Μυοκλονική επιληψία με αλλοιώσεις των μυϊκών κυττάρων.	Σημειακή μετάλλαξη στο γονίδιο MT-TK που κωδικοποιεί το tRNA ^{Lys} m.8344A>G Μεταλλάξεις στα γονίδια MT-TL1, MT-TH, MT-S1 [91]	Δυσκολία στις κινήσεις, Αταξία, Μυοπάθεια, Αισθητικονευρική κώφωση, Πολλαπλά λιπώματα, οπτική ατροφία κ.α.

MELAS (Mitochondrial Encephalomyopathy Lactic Acidosis and Stroke-like Episodes)	Εγκεφαλοπάθεια που χαρακτηρίζεται από κρίσεις. Είναι μία πολυοργανική ασθένεια με ποικίλες εκδηλώσεις.	Στο γονίδιο MT-TL1 που κωδικοποιεί το TRNA ^{Leu(UUR)} συμβαίνουν οι σημειακές μεταλλάξεις: m.3243A>G και m.3271T>C [110]	Επιληπτικές κρίσεις, Αταξία, Εγκεφαλικά επεισόδια, Μυϊκή αδυναμία, Αναπτυξιακή καθυστέρηση, Υπογλυκαιμία, Διαβήτης, απώλεια όρασης
NARP (Neuropathy ataxia retinitis pigmentosa syndrome)	Αισθητικοκινητική νευροπάθεια που εκδηλώνεται σε πρόωμη ηλικία και μπορεί να μείνει σταθερή έως την ενηλικίωση.	Σημειακές μεταλλάξεις στο γονίδιο MT-ATP6. Η πιο κοινή είναι η m.8993T>G και λιγότερο σοβαρή η m.8993T>C [109]	Μυϊκή αδυναμία, Αναπτυξιακή καθυστέρηση, Κρίσεις, Νοητική υστέρηση, Κρίσεις, Τύφλωση, Προβλήματα ακοής κ.α.
Pearson Syndrome (Σύνδρομο Pearson)	Σποραδική και σπάνια μιτοχονδριακή ασθένεια που επηρεάζει κυρίως τον μυελό των οστών και το πάγκρεας.	Μεγάλα ελλείμματα στο μιτοχονδριακό DNA. Το κυριότερο έχει μήκος 4977 ζεύγη βάσεων. [111]	Πανκυτταροπενία, Καρδιομυοπάθεια, Ηπατομεγαλία, Σπληνομεγαλία, Παγκρεατική ανεπάρκεια, Νεφρική ανεπάρκεια
Κώφωση	Προοδευτική αισθητικονευρική κώφωση. Συχνά επάγεται από αμινογλυκοζιτικά αντιβιοτικά.	Στο γονίδιο που κωδικοποιεί το 12S rRNA συμβαίνουν οι σημειακές μεταλλάξεις : m.1555A>G m.7445A>G	Προοδευτική απώλεια της ακοής.
Complex III Deficiency	Ανεπάρκεια της αναγωγής του κυτοχρώματος c, προκαλεί εγκεφαλομυοπάθειες	Στο γονίδιο MT-CYB πραγματοποιείται η μετάλλαξη m.15579 A>G	Κώφωση, Αταξία, αμινουρία, ανωμαλία στον καταρράκτη πήξεως κ.α.

*Ο συμβολισμός A>G υποδεικνύει την αντικατάσταση της αδενίνης (A) από την γουανίνη (G). Το ίδιο ισχύει και για τις υπόλοιπες βάσεις.

Παρακάτω αναλύονται οι πιο συχνές μιτοχονδριακές ασθένειες εκ των οποίων οι 3 συγκαταλέγονται στην κατηγορία των νευρομυασθενειών, ενώ η τελευταία στις μυασθενειες.

4.2.1. MELAS (Mitochondrial Encephalomyopathy Lactic Acidosis and Stroke-like Episodes Syndrome)

Το σύνδρομο μιτοχονδριακής εγκεφαλοπάθειας με γαλακτική οξείδωση και επεισόδια τύπου εγκεφαλικού (MELAS) είναι μία από τις συχνότερες ασθένειες που κληρονομούνται μητρικά [110]. Ουσιαστικά, πρόκειται για μία πολυσυστημική διαταραχή που εμφανίζεται σε νεαρή ηλικία και επηρεάζει κυρίως τον εγκέφαλο, τους μύες και το ενδοκρινικό σύστημα [112]. Οι μεταλλάξεις που είναι υπεύθυνες για τη παθογένεια της νόσου, διαταράσσουν την ακεραιότητα της αναπνευστικής αλυσίδας, με αποτέλεσμα την μειωμένη παραγωγή ATP [110].

Αίτια

Η μοριακή βάση της ασθένειας ανακαλύφθηκε το 1990, όταν προτάθηκε ότι οφείλεται σε αντικατάσταση της αδενίνης από τη γουανίνη (m.3243A>G) στο γονίδιο που κωδικοποιεί το tRNA^{Leu} [110]. Η μετάλλαξη αυτή, εκτιμάται ότι βρέθηκε στο 80% των ατόμων με σύνδρομο MELAS και έχει συχνότητα 0,06% στο γενικό πληθυσμό [113]. Επηρεάζει τη μετάφραση και την πρωτεϊνοσύνθεση των πρωτεϊνών που αποτελούν μέρος της αναπνευστικής αλυσίδας, με αντίκτυπο την εξασθενημένη παραγωγή ενέργειας [89]. Ωστόσο, υπάρχουν και άλλες μεταλλάξεις που προκαλούν τη νόσο και αναλύονται στον πίνακα 4.

Πίνακας 4. Μεταλλάξεις που σχετίζονται με το σύνδρομο MELAS. (Πηγή: Michelangelo M., Klopstock T., P:Diagnosis and Management of Mitochondrial Disorders, Εκδόσεις: Springer, Ελβετία(2019):Σελ:91

Ποσοστό νοσούντων (%)	Μετάλλαξη	Γονίδιο
~80%	m.3243A>G	MT-TL1
~<10%	m.3271T>C	MT-TL1

~<10%	m.13513G>A	MT-ND5
~<5%	m.3252A>G	MT-TL1
Πολύ σπάνια	m.12146A>G	MT-TL2
	m.3481G>A	MT-ND1
	m.3697G>A	MT-ND1
	m.14453G>A	MT-ND6

**Τα γονίδια MT-ND1 – MTND6 κωδικοποιούν πρωτεΐνες των συμπλόκων της αναπνευστικής αλυσίδας.*

Συμπτώματα

Σε γενικά πλαίσια, στις σημειακές μεταλλάξεις δεν υπάρχει ακρίβεια στη σχέση γονότυπου-φαινότυπου. Αυτό σημαίνει ότι άτομα που φέρουν την ίδια μετάλλαξη, συχνά έχουν διαφορετικά συμπτώματα [114]. Ο φαινότυπος του συνδρόμου MELAS εξαρτάται από πολλούς παράγοντες, στους οποίους συμπεριλαμβάνονται η παθογένεια της μετάλλαξης, το ποσοστό ετεροπλασμίας της και τα όργανα όπου αυτή ανευρίσκεται [115]. Το σύνδρομο αυτό είναι ουσιαστικά μία νευροεκφυλιστική διαταραχή που συνήθως εκδηλώνεται στα 2-15 έτη [104]. Οι ιστοί που έχουν υψηλές ενεργειακές απαιτήσεις, όπως ο εγκέφαλος και οι σκελετικοί μύες, είναι αυτοί που επηρεάζονται πρωτίστως. Τα πρώτα συμπτώματα της νόσου είναι η αδυναμία, η κόπωση, οι συχνοί πονοκέφαλοι και οι επιληπτικές κρίσεις [115]. Στη συνέχεια, παρατηρείται αναπτυξιακή καθυστέρηση, άνοια καθώς και γνωστική δυσλειτουργία. Ενώ η παθογένεια του συνδρόμου εξελίσσεται επικρατούν συμπτώματα όπως η γαλακτική οξέωση και τα επεισόδια τύπου-εγκεφαλικού. Από τη στιγμή που εμφανίζονται αυτά τα επεισόδια, ξεκινάει μια σταδιακή επιδείνωση της κλινικής κατάστασης των ασθενών [113]. Βέβαια, το σύνδρομο MELAS χαρακτηρίζεται από ευρύ φάσμα εκδηλώσεων σε διάφορα συστήματα του ανθρώπινου σώματος, όπως θα αναλυθεί παρακάτω.

Κεντρικό νευρικό σύστημα

Εκτός από τα επεισόδια τύπου-εγκεφαλικού και την επερχόμενη ατροφία του εγκεφάλου, λιγότερο συχνά τα άτομα που πάσχουν εμφανίζουν αταξία, αγχώδεις διαταραχές και κατάθλιψη [116]. Επίσης, σε ποσοστό περίπου 60% οι ασθενείς έχουν γνωστικές δυσλειτουργίες που με το πέρασμα του χρόνου επιδεινώνονται και επακολουθούν αλλαγές στη συγκέντρωση και την αντίληψη [117].

Μυοσκελετικό σύστημα

Η μη ειδική μυοπάθεια είναι ένα από τα πρωταρχικά συμπτώματα του συνδρόμου MELAS. Η μυϊκή αδυναμία εμφανίζεται σε ποσοστό 87-89% των ασθενών. Επιπλέον, κατά τη διάρκεια σωματικής άσκησης ή στρεσογόνων επεισοδίων, παρατηρείται αύξηση του γαλακτικού οξέος που υποδεικνύει στροφή προς τον αναερόβιο μεταβολισμό [113].

Καρδιαγγειακό σύστημα

Διαταραχές στη λειτουργία του καρδιακού μυός, στο σύνδρομο MELAS, είναι συνήθεις λόγω των υψηλών ενεργειακών απαιτήσεων. Αναφέρονται προβλήματα όπως η καρδιομυοπάθεια, η κοιλιακή συστολική δυσλειτουργία και το σύνδρομο Wolff-Parkinson-White [118].

Ενδοκρινικό σύστημα

Ενδοκρinoπάθειες που σχετίζονται με το σύνδρομο είναι ο σακχαρώδης διαβήτης, ο υποθυρεοειδισμός, η ανεπάρκεια αυξητικής ορμόνης και η έλλειψη αδρεναλίνης. Ο σακχαρώδης διαβήτης είναι μία από τις κύριες διαταραχές που αφορά τη μετάλλαξη m.3243A>G. Πιο συγκεκριμένα, στα β-κύτταρα του παγκρέατος, υπάρχει ένα κανάλι καλίου, εξαρτώμενο από το ATP, που απαιτείται για την απελευθέρωση της ινσουλίνης. Όταν, εξαιτίας της μετάλλαξης, υπάρχει μειωμένη σύνθεση του ATP τότε η παραγωγή της ινσουλίνης είναι ελλιπής και μπορεί να οδηγήσει σε ινσουλινοπενία [110]. Σε έρευνα που διεξάχθηκε στο NAMDC (North American Mitochondrial Disease Consortium registry), συμμετείχαν 91 ασθενείς με τη συγκεκριμένη μετάλλαξη και το 31,9% εμφάνισε σακχαρώδη διαβήτη, ενώ το 12,2% υποθυρεοειδισμό [119]

Διάγνωση

Η διάγνωση του συνδρόμου MELAS στηρίζεται σε κλινικά και εργαστηριακά αποτελέσματα, σε αξονική εγκεφάλου, σε ιστολογικά και μοριακά ευρήματα [120]. Λόγω της τυχαίας κατανομής των μεταλλαγμένων γονιδίων στα διάφορα όργανα, η εντόπιση της μετάλλαξης σε δείγματα αίματος δεν αποτελεί ευαίσθητη διαδικασία. Αυτό συμβαίνει γιατί στο αίμα το ποσοστό μεταλλαγμένων γονιδίων είναι πολύ μικρό. Το ίζημα των ούρων, οι ινοβλάστες του δέρματος και ο στοματικός βλεννογόνος χρησιμοποιούνται κυρίως για την μοριακή εντόπιση, επειδή εκτός από το γεγονός ότι είναι εύκολα προσβάσιμοι ιστοί, περιέχουν και υψηλό φορτίο μεταλλαγμένων γονιδίων [121]. Όσον αφορά την βιοχημική ανάλυση, η παρουσία αυξημένων επιπέδων γαλακτικού οξέος στο αίμα και το εγκεφαλονωτιαίο υγρό είναι το πρώτο εργαστηριακό εύρημα που ανευρίσκεται σε ποσοστό >90% των ασθενών [122].

Το 1992, διαμορφώθηκαν ορισμένα διαγνωστικά κριτήρια για το σύνδρομο MELAS. Σύμφωνα με αυτά, η διάγνωση θα πρέπει να περιλαμβάνει : (1) σημάδια εγκεφαλοπάθειας (άνοια, επιληπτικές κρίσεις κ.α.), (2) επεισόδια τύπου-εγκεφαλικού σε νεαρή ηλικία, (3) βιοχημικές ενδείξεις αυξημένου γαλακτικού οξέος ή ακανόνιστες κόκκινες ίνες σε βιοψία μυός [120]. Πιο πρόσφατα, το 2011, μία ομάδα ερευνητών στην Ιαπωνία διαφοροποίησε τα αρχικά κριτήρια και τα χώρισε σε 2 κύριες κατηγορίες (Α και Β). Πρότεινε ότι για να διαπιστωθεί η ύπαρξη του συνδρόμου, ένα άτομο θα πρέπει να διαθέτει 2 κριτήρια από κάθε κατηγορία. Η κατηγορία Α περιλαμβάνει: (1) πονοκεφάλους με εμετούς, (2) επιληπτικές κρίσεις, (3) ημιπληγία, (4) τύφλωση, (5) οξεία εστιακή βλάβη στην αξονική εγκεφάλου. Ενώ η κατηγορία Β περιέχει: (1) υψηλά επίπεδα γαλακτικού οξέος στο αίμα ή/και στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό ή μειωμένη μιτοχονδριακή ενζυμική δραστηριότητα ή ελαττώματα στην αναπνευστική αλυσίδα, (2) ανωμαλίες σε βιοψία μυός [123].

Θεραπεία

Μέχρι στιγμής, δεν έχει βρεθεί θεραπεία για την αντιμετώπιση του συνδρόμου MELAS. Τα θεραπευτικά μέσα που έχουν ανακαλυφθεί βασίζονται στη διαχείριση των συμπτωμάτων της νόσου [89]. Οι ερευνητές έχουν επικεντρωθεί στην προσπάθεια βελτίωσης της λειτουργίας της αναπνευστικής αλυσίδας με τη χρήση αντιοξειδωτικών φαρμάκων και την αύξηση της παραγωγής ATP μέσω συμπαραγόντων. Επιπλέον,

χρησιμοποιείται φαρμακευτική αγωγή για τη μείωση των επιπέδων του ROS ή άλλων τοξικών μεταβολιτών που εμποδίζουν την ροή της ενέργειας [113]. Αναλυτικότερα, οι επιληπτικές κρίσεις αντιμετωπίζονται με αντισπασμωδική αγωγή ενώ οι πονοκέφαλοι με αναλγητικά [110]. Έχει αποδειχθεί σε έρευνα που έγινε το 2005 ότι η L-αργινίνη είναι ευεργετική για την θεραπεία των επεισοδίων τύπου-εγκεφαλικού [125]. Από την άλλη το συνένζυμο Q₁₀ (C₆Q₁₀) επιταχύνει τη μεταφορά των ηλεκτρονίων από τα σύμπλοκα I και II της αναπνευστικής αλυσίδας, παρέχοντας προστατευτική αντιοξειδωτική δράση [110]. Είναι αξιοσημείωτο το γεγονός ότι για τη βελτίωση της ποιότητας της ζωής τους, οι ασθενείς θα πρέπει να ασχολούνται με αερόβιες δραστηριότητες, να κοιμούνται καλά και να αποφεύγουν τις απότομες εναλλαγές της θερμοκρασίας και το άγχος. Επίσης είναι σημαντικό να εμβολιάζονται τακτικά και να προστατεύονται από μολυσματικές ασθένειες διατηρώντας ακέραιο το ανοσοποιητικό τους σύστημα [125].

4.2.2. *MERRF (Myoclonic epilepsy with ragged red fibers)*

Η μυοκλονική επιληψία με τραχιές κόκκινες ίνες είναι μια μιτοχονδριακή ασθένεια που ανακαλύφθηκε το 1973 από τον Tsairis et.al. [126], ενώ το 1990 έγινε γνωστή η πρώτη mtDNA μετάλλαξη που προκαλούσε την νόσο MERRF [127]. Κληρονομείται μέσω των μεταλλαγμένων μιτοχονδρίων της μητέρας και επηρεάζει πολλά συστήματα του οργανισμού. Ο φαινότυπος μεταβάλλεται ανάλογα με το ποσοστό της ετεροπλάσμιας στα μέλη μιας οικογένειας και το εύρος θνησιμότητας είναι από 7 έως 79 ετών [128].

Αίτια

Το 1988 βρέθηκε, από τους Wallace et. al., ότι η νόσος MERRF οφείλεται σε κάποιο σφάλμα της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης με αποτέλεσμα να υπάρχει βλάβη στην παραγωγή του ATP. Η διαταραχή αυτή μπορεί να οφείλεται σε μεταλλάξεις και του πυρηνικού και του μιτοχονδριακού DNA. Η ταυτοποίηση, όμως, της μυοκλονικής επιληψίας προβλέπει μεταλλαγές σε συγκεκριμένες θέσεις του mtDNA [129]. Συνολικά έχουν βρεθεί 15 γονίδια και 26 σημειακές μεταλλάξεις αζωτούχων βάσεων σε πολλά γονίδια του mtDNA που προκαλούν την ασθένεια MERRF (Πίνακας 5). Μερικές από αυτές είναι ουδέτερες και εξαιρετικά σπάνιες (<10%). Η πιο συνηθισμένη μετάλλαξη, που καλύπτει το 80% των περιπτώσεων, είναι στο γονίδιο MT-TK, που κωδικοποιεί το

mt-tRNA^{Lys}, στην θέση m.8344 η αδενίνη αντικαθίσταται από μια γουανίνη (A>G). Η θέση αυτή στο μεταφορικό RNA βρίσκεται στην θηλιά T-Ψ-C, με αυτόν τον τρόπο αλλάζει την αλληλουχία του tRNA^{Lys} και το μιτοχονδριακό ριβόσωμα δεν συνδέεται πλήρως με το tRNA. Ως συνέπεια αυτών, το μιτοχόνδριο αδυνατεί να συνθέσει επαρκή επίπεδα πρωτεϊνών και μειώνεται η κατανάλωση οξυγόνου καθώς και η παραγωγή ενέργειας [125].

Πίνακας 5: Μεταλλάξεις γονιδίων, που προκαλούν την ασθένεια MERRF (Πηγές: Finsterer, Josef, Sinda Zarrouk-Mahjoub, and John M. Shoffner. "MERRF classification: implications for diagnosis and clinical trials." Pediatric neurology 80 (2018): 8-23. και Michelangelo M., Klopstock T., P:Diagnosis and Management of Mitochondrial Disorders, Εκδόσεις:Springers, Ελβετία(2019):(Σελ:107)

ΓΟΝΙΔΙΟ	ΘΕΣΗ	ΓΟΝΙΔΙΟ	ΘΕΣΗ
MT-TD	m.7543A>G	MT-TW	m.5521G>A
MT-TF	m.611G>A	MT-ND3	m.10191T>C
MT-TH	m.12147G>A	MT-ND5	m.13042G>A
MT-TI	m.4279A>G m.4284G>A	MT-RNN2	m.2294A>G m.3145A>G
MT-TL2	m.12300G>A	MT-TS1	m.7471_7472insC*
MT-TP	m.15967G>A		m.7512A>G
MT-TT	m.15923A>G	MT-TS2	m.122076G>A
MT-TK (90%)	m.8344A>G (80%) m.8296A>G m.8342G>A m.8356T>C m.8361G>A m.8363G>A } (10%)	MT-TL1	m.3243A>G m.3255G>A m.3271T>C m.3291T>C

**ins= insertion, δηλαδή προσθήκη μιας αζωτούχας βάση. Συγκεκριμένα, εδώ, προσθήκη μίας C (κυτοσίνη)*

Συμπτώματα

Σε όλες τις μεταλλάξεις, η εκδήλωση των συμπτωμάτων εξαρτώνται από 3 παράγοντες, το ποσοστό ετεροπλασμίας σε έναν οργανισμό, την αλλοίωση των κύτταρων- ιστών που έχουν επιφέρει οι μεταλλάξεις του mtDNA και η δραστηριότητα του μιτοχονδρίου στο ανάλογο είδος ιστικού κυττάρου. Ως εκ τούτου, σε μια οικογένεια τα συμπτώματα και η κλινική εκδήλωση ποικίλει [130].

Όπως αναφέρθηκε και στην αρχή, η ασθένεια MERRF εισβάλλει σε πολλά συστήματα- όργανα του ανθρώπου, όπως τον εγκέφαλο, μύες, αυτιά, καρδιά, μάτια, έντερα, δέρμα, ενδοκρινικά όργανα και περιφερικά νεύρα [131]. Οι πιο συνήθεις κλινικές εκδηλώσεις της νόσου είναι η μυοκλονία, δηλαδή μια ακούσια, σύντομη και ξαφνική συστολή των μυϊκών ινών [132], η επιληψία (μυοκλονική ή μη μυοκλονική), η αταξία και η μυοπάθεια. Επιπλέον συχνά εμφανίζονται υποξία, πολυνευροπάθεια, άνοια, μικρό ανάστημα, οπτική ατροφία, λιπώματα [131] (Εικ. 24β) και σπασμούς κυρίως των άνω και κάτω άκρων (pyramidal signs) στους ασθενείς [132]. Η MERRF στους ενήλικες μπορεί να εκδηλωθεί με αργή προοδευτική πορεία, ενώ σε ορισμένες περιπτώσεις, στους ανήλικες μπορεί να είναι γρήγορη και προοδευτική με θανατηφόρα έκβαση [131].

Διάγνωση

Η διάγνωση βασίζεται τόσο στα κλινικά όσο στα εργαστηριακά, ιστολογικά ευρήματα, ηλεκτρογραφήματα και μαγνητική εγκεφάλου [134]. Συνήθως προτιμάται έλεγχος ιζήματος, ούρων και λευκοκυττάρων για να ανιχνευθεί η μετάλλαξη και να αποφευχθεί η επεμβατική και επώδυνη μέθοδος της βιοψίας από τον μυ [125].

Εργαστηριακά ευρήματα

Στο αίμα και στον ENY (εγκεφαλονωτιαίο υγρό) παρατηρείται, σε κατάσταση ηρεμίας, αυξημένη συγκέντρωση γαλακτικού οξέος και πυροσταφυλικού, ενώ μετά από μέτρια δραστηριότητα του ασθενούς παρατηρείται ραγδαία αύξηση των οξέων αυτών. Στο ENY, επιπλέον, αυξάνεται και η συγκέντρωση της πρωτεΐνης, αλλά σπάνια ξεπερνάει την τιμή

των 100 mg/dL. Επίσης σε εναιώρημα μυϊκών κυττάρων μελετώνται τα ένζυμα της αναπνευστικής αλυσίδας, κυρίως του συμπλόκου IV, για να ελεγχτεί η δραστηριότητά τους. Συνήθως είναι μειωμένη, όμως μπορεί να είναι και φυσιολογική [134].

Ιστοπαθολογικές εξετάσεις

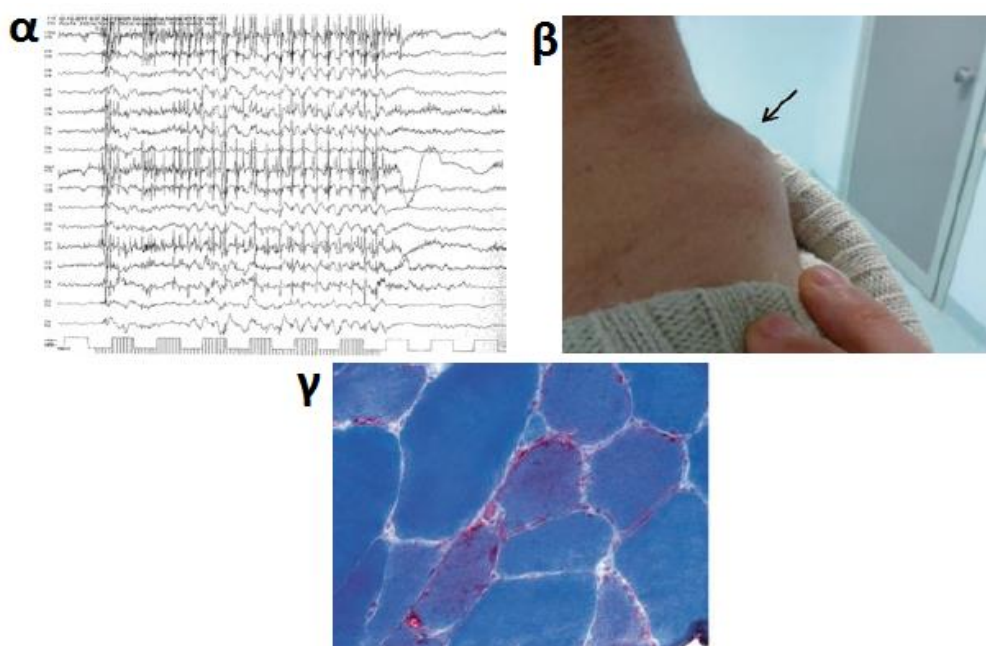
Πραγματοποιείται βιοψία μυϊκών κυττάρων, όπου οι μυϊκές ίνες βάφονται με τις χρώσεις τρίχρωμη Gomori και σουκινική δεϋδρογονάση (SDH). Στο μικροσκόπιο παρατηρούνται κόκκινες και τραχιές ίνες [135]. (Εικ. 24γ)

Ηλεκτρογραφήματα

Στο ηλεκτροεγκεφαλογράφημα, εμφανίζονται γενικευμένες εκκενώσεις και επιβραδύνσεις εγκεφαλικών κυμάτων. (Εικ. 24α) Στο ηλεκτροκαρδιογράφημα εμφανίζεται πρόιμη διεγερσιμότητα των μυοκαρδιακών κυττάρων στην ανταπόκριση τους στο ηλεκτρικό ρεύμα. Τέλος στο ηλεκτρομυογράφημα και στο ηλεκτρονευρογράφημα εντοπίζεται ο βαθμός της μυοπάθειας και νευροπάθειας αντίστοιχα, μέσω της ταχύτητας και της αγωγιμότητας των μυών και των νεύρων [134].

Μαγνητική τομογραφία εγκεφάλου (MRI)

Στην εξέταση MRI απεικονίζεται ατροφία στον εγκέφαλο και βλάβες στα γάγγλια, ενώ σε σπάνιες περιπτώσεις εντοπίζονται νεκρώσεις στο εγκέφαλο και στην παρεγκεφαλίδα [134].



Εικ. 24: α) HEK από ασθενή με νόσο MERRF, εμφανής επιβράδυνση δραστηριότητας εγκεφάλου. β) Λίπωμα στον αυχένα ως κλινικό συμπτώματα της MERRF. γ) Με χρώση τρίχρωμη Gomori, μυϊκά κύτταρα με εμφανή κόκκινες ίνες μετά από παρατήρηση στο μικροσκόπιο. (Πηγή : Michelangelo M., Klopstock T., P:Diagnosis and Management of Mitochondrial Disorders, Εκδόσεις:Springers, Ελβετία(2019):Σελ:102)

Διαφορική διάγνωση

Η διαφορική διάγνωση βασίζεται στην γενετική και πιο συγκεκριμένα στην μέθοδο αλληλούχισης DNA νέας γενιάς (next generation sequencing). Η τεχνική αυτή εφαρμόζεται στην αλληλουχία του μιτοχονδριακού γενετικού υλικού ή ολόκληρων εξωσωμάτων ή ολοκλήρου του γονιδιώματος του κυττάρου (πυρηνικό και μιτοχονδριακό γονιδίωμα). Το ελάττωμα της μεθόδου είναι, ότι μπορεί να ανιχνεύσει την παραμικρή παραλλαγή στο DNA και να είναι άνευ σημασίας, μπορεί να οδηγήσει τους ειδικούς σε λανθασμένη διάγνωση και κατά συνέπεια σε λανθασμένη θεραπεία. Για αυτό τον λόγο χρειάζονται πάντοτε, να συνοδεύουν την μέθοδο αυτή, και οι εργαστηριακές και ιστοπαθολογικές εξετάσεις [129].

Θεραπεία

Για την θεραπεία της εκδήλωσης της νόσου MERRF χρειάζονται, ουσίες που είναι θρεπτικές για το μιτοχόνδριο, όπως η ουμπικινόλη, L-καρνιτίνη, βιταμίνες E και B , κρεατινίνη, α-λιποϊκό οξύ και συνένζυμο Q₁₀ [134]. Ενδεικτικές δοσολογίες για τις παραπάνω ουσίες είναι:

L-καρνιτίνη → 1gr / ημέρα

CoQ₁₀ → 100 - 400 mg 2-3 φορές / ημέρα [125]

Για την αντιμετώπιση των επιληπτικών (μυοκλονικών ή μη) κρίσεων χορηγούνται αντιεπιληπτικά φάρμακα (AED), αλλά μερικά από αυτά μπορούν να μην φέρουν το επιθυμητό αποτέλεσμα και να επιδεινώσουν τις κρίσεις [131]. Ορισμένα AED είναι το βαλπροϊκό οξύ, όμως μπορεί να αποβεί τοξικό για το μιτοχόνδριο [136], η κλοναζεπαμίνη

(CZP), η τοπιραμάτη (TPM), η ζονισαμίδα (ZNS), η πιρακεταμίνη (PIR) και η πιο πρόσφατη σε χρήση, η λεβετιρακετάμη (LEV) [131].

Ενδεικτικές δοσολογίες αυτών των AED είναι:

CZP→ 0,5-1 mg/dL 3φορές / ημέρα [125]

Για την αποκατάσταση ή την βελτίωση της κινητικής δυσλειτουργίας προτείνονται φυσικοθεραπείες και συγκεκριμένες αερόβιες ασκήσεις [137]. Είναι σημαντικό να τονιστεί, ότι αυτές είναι ενδεικτικές θεραπείες και δοσολογίες. Ο κάθε άνθρωπος είναι διαφορετικός, έτσι η θεραπεία διαφέρει κατά ασθενή και κατά θεράπων ιατρό. Ο ασθενής οφείλει να παρακολουθείται συχνά με ετήσιες εξετάσεις που περιλαμβάνουν νευρολογικές, βιοχημικές και ενδοκρινολογικές αναλύσεις, ανά 6 με 12 μήνες, ενώ ακτινογραφίες και μαγνητική εγκεφάλου ανά 2 με 3 χρόνια [134].

4.2.3. LHON (*Leber Hereditary Optic Neuropathy*)

Η κληρονομική οπτική νευροπάθεια Leber (LHON) είναι η πρώτη μιτοχονδριακή ασθένεια που αποδείχθηκε ότι οφείλεται σε σημειακή μετάλλαξη στο mtDNA [89]. Περιγράφηκε από τον Theodore Leber το 1871 και αποτελεί χαρακτηριστικό μοντέλο νευροεκφυλιστικής μιτοχονδριακής ασθένειας, λόγω της πλήρους αποσαφηνισμένης γενετικής αιτίας, της πρώιμης εκδήλωσης και της ταχείας εξέλιξης της [138]. Η ασθένεια εκδηλώνεται με οξεία ή υποξεία και ανώδυνη απώλεια της κεντρικής όρασης σε νεαρή ηλικία. Η συχνότητα εμφάνισης της στο γενικό πληθυσμό εκτιμάται σε 1 στα 30.000 άτομα, γεγονός που τη καθιστά τη συχνότερη μιτοχονδριακή νόσο [139].

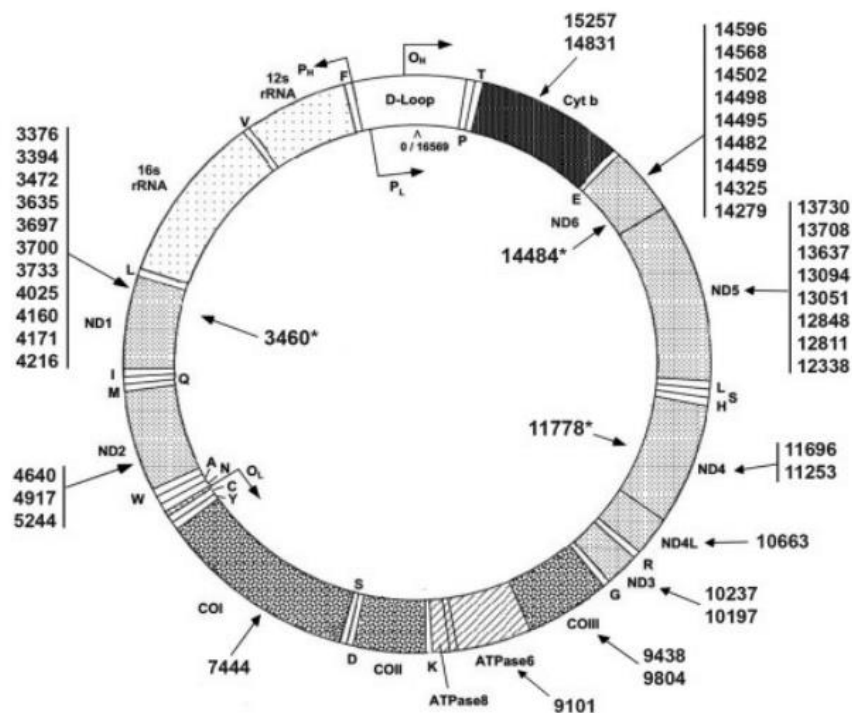
Αίτια

Η πλειονότητα των ασθενών που πάσχουν από LHON διαθέτουν μία από τις 3 κυριότερες σημειακές μεταλλάξεις : m.3460G>A, m.1178G>A και m.14484T>C. Η μετάλλαξη m.1178G>A ήταν η πρώτη μεταλλαγή σε γονίδιο του mtDNA που βρέθηκε ότι είναι υπεύθυνη για μιτοχονδριακή νόσο και αποτελεί την επικρατέστερη στην Βόρεια Ευρώπη, την Αυστραλία και την Άπω Ανατολή [128]. (Πίνακας 6)

Πίνακας 6: Οι κυριότερες μεταλλάξεις που προκαλούν την ασθένεια LHON (Πηγή: Zhang, Yong, et al. "The progress of gene therapy for Leber's optic hereditary neuropathy." *Current gene therapy* 17.4 (2017): 320-326.)

Μετάλλαξη	Συχνότητα	Θέση μετάλλαξης
m.1178G>A	50 – 70% των ασθενών με LHON στην Ευρώπη 87- 92.9% στην Ασία	Υπομονάδα 4 του συμπλόκου I της αναπνευστικής αλυσίδας
m.3460G>A	15-25% στην Ευρώπη 1,4 - 4% στην Ασία	Υπομονάδα 1 του συμπλόκου I της αναπνευστικής αλυσίδας
m.14484T>C	15% στην Ευρώπη 5,7-9% στην Ασία	Υπομονάδα 6 του συμπλόκου I της αναπνευστικής αλυσίδας

Ωστόσο, οι ερευνητές έχουν εντοπίσει συνολικά περίπου 50 μεταλλάξεις που μπορεί να επιβαρύνουν τον φαινότυπο της ασθένειας LHON εάν συνυπάρχουν με τις 3 πρωταρχικές στον οργανισμό [140]. (Εικ. 25)



*Εικ. 25: Οι μεταλλάξεις που οδηγούν στην ασθένεια LHON. Με αστερίσκο σημειώνονται οι κύριες μεταλλάξεις. (Πηγή: Bakaeva, Tatiana, Robert Mallery, and Sashank Prasad. "Emerging Treatments for Leber's Hereditary Optic Neuropathy and Other Genetic Causes of Visual Loss." *Seminars in neurology*. Vol. 39. No. 06. Thieme Medical Publishers, 2019.)*

Οι μεταλλάξεις είναι κατά κύριο λόγο ομοπλασμικές και δεν αναπτύσσουν όλοι όσοι τις φέρουν οπτική ατροφία [141]. Στην πραγματικότητα το 50% των ανδρών και το 10% των γυναικών που διαθέτουν παθογόνο μετάλλαξη νοσούν. Αυτό σημαίνει ότι οι άνδρες έχουν 4-5 φορές υψηλότερο κίνδυνο εκδήλωσης της ασθένειας [128]. Αυτή η διαφορά στα δύο φύλα, μπορεί να σχετίζεται με την προστασία που παρέχει το διπλό χρωμόσωμα X στις γυναίκες [138]. Άλλη εξήγηση θα μπορούσε να είναι τα αυξημένα οιστρογόνα στις γυναίκες που ενεργοποιούν τους μηχανισμούς αντιοξειδωτικής άμυνας των μιτοχονδρίων [142].

Επιπλέον, διάφορες μελέτες αποδεικνύουν ότι κομβικό ρόλο στην εμφάνιση της οπτικής νευροπάθειας διαδραματίζουν παράγοντες όπως το αλκοόλ και κυρίως το κάπνισμα. Ειδικότερα, παρατηρήθηκε ότι οι καπνιστές έχουν μικρότερο αριθμό αντιγράφων μιτοχονδριακού DNA, έχουν προβλήματα στην οξειδωτική φωσφορυλίωση και αυξημένα επίπεδα ROS [139].

Συμπτώματα

Όπως αναφέρθηκε, η οπτική νευροπάθεια Leber οφείλεται κυρίως σε μεταλλάξεις που αφορούν υπομονάδες του συμπλόκου I της αναπνευστικής αλυσίδας. Η ελλιπής παραγωγή ATP και το οξειδωτικό στρες οδηγούν σε εκφύλιση των γαγγλιακών κυττάρων του αμφιβληστροειδούς [138]. Επομένως, οι ασθενείς εμφανίζουν υποξεία απώλεια της κεντρικής όρασης με κεντρικό σκότωμα στα οπτικά τους πεδία και μειωμένη έγχρωμη όραση [143]. Στα πρώτα στάδια της νόσου, μπορεί να παρατηρηθεί διεύρυνση στα μικρά αιμοφόρα αγγεία που βρίσκονται γύρω από τα οπτικά δισκία. Στη συνέχεια, στην οξεία φάση, σε ηλικία 15-35 χρονών, επέρχεται ανώδυνη απώλεια της κεντρικής όρασης που αφορά και τους δύο οφθαλμούς. Σπάνια έχουν καταγραφεί περιστατικά που η απώλεια αφορά τον ένα μόνο οφθαλμό, ενώ στο 25% των περιπτώσεων συμβαίνει ταυτόχρονα. Συνήθως τα συμπτώματα γίνονται αντιληπτά πρώτα στο ένα μάτι και μετά από λίγους

μήνες στο άλλο [128]. Σε αυτό το στάδιο παρατηρείται επίσης περιτύλιξη των μικρών αγγείων γύρω από τον οπτικό δίσκο, ο οποίος μετά από 6 μήνες γίνεται ωχρός [144]. Ύστερα ακολουθεί το ατροφικό στάδιο, όπου γίνονται διακριτά η ατροφία των οπτικών νεύρων και η αραίωση των νευρικών ινών του αμφιβληστροειδούς [145]. Η απώλεια της όρασης είναι τις περισσότερες φορές μόνιμη, ωστόσο μπορεί να υπάρξει ξαφνική βελτίωση [138]. Η πιθανότητα τουλάχιστον μερικής αποκατάστασης είναι μεγαλύτερη σε ασθενείς που φέρουν την μετάλλαξη m.14484T>C (37-58%) σε αντίθεση με άτομα που φέρουν την m.11778G>A (4-25%) [144].

Παρόλο που οι κυριότερες επιπτώσεις της ασθένειας LHON αφορούν τους οφθαλμούς, έχουν αναφερθεί διάφορα συμπτώματα όπως αρρυθμίες, περιφερική νευροπάθεια, μυοπάθεια, δυστονία και μυοκλονία [128].

Διάγνωση

Γενικά, ο απλούστερος βιοδείκτης για τον εντοπισμό προβλημάτων στη μιτοχονδριακή βιογένεση είναι ο αριθμός των αντιγράφων mtDNA σε κύτταρα αίματος. Η μείωση του αριθμού συνδέεται άμεσα με δυσλειτουργία στην αναπνευστική αλυσίδα [89]. Πρόσφατα ανακαλύφθηκε μία από τις πιο καινοτόμες προσεγγίσεις για τη διάγνωση της νόσου LHON. Στηρίζεται στην ποσοτικοποίηση των αποτελεσμάτων που λαμβάνονται από την βυθοσκοπική απεικόνιση των οφθαλμών και ονομάζεται τομογραφία οπτικής συνοχής (OCT- Optical Coherence Tomography). Τους πρώτους 6 μήνες, δημιουργείται οίδημα στις οπτικές ίνες, το λεγόμενο «ψευδοοίδημα». Επίσης παρατηρείται μικροαγγειοπάθεια και περιτυλιγμένα αγγεία γύρω από τον οπτικό δίσκο. Μετά τον πρώτο χρόνο, στην βυθοσκοπική εικόνα εμφανίζονται σημάδια οπτικής ατροφίας [143].

Θεραπεία

Προς το παρόν, το μόνο διαθέσιμο φάρμακο που έχει εγκριθεί από την Ευρωπαϊκή Ένωση για την αντιμετώπιση της ασθένειας LHON είναι το Raxone. Μία από τις κυριότερες δραστικές ουσίες του φαρμάκου είναι η ιδεβενόνη (idebenone), που είναι ουσιαστικά ένα μοριακό ανάλογο βραχείας αλυσίδας της ουβικινόνης [146]. Σε έρευνα που ονομάστηκε RHODOS (Rescue Of Hereditary Optic Disease Outpatient Study) με 85 ασθενείς,

χορηγήθηκε σε μία ομάδα υψηλή δόση ιδεβενόνης (900mg) και στην άλλη εικονικό φάρμακο. Διαπιστώθηκε ότι οι ασθενείς που έλαβαν την ιδεβενόνη είχαν καλύτερη όραση από εκείνους που έλαβαν το εικονικό. Επιπλέον, ανακαλύφθηκε ότι όσοι βρίσκονταν σε αρχικά στάδια της νόσου επωφελήθηκαν σε μεγαλύτερο βαθμό [138].

Κρίνεται επίσης σημαντική η επίδραση ορμονικών παραγόντων στην φαινοτυπική έκφραση της ασθένειας LHON. Το γεγονός αυτό επιβεβαιώθηκε από μία έρευνα, στην οποία χρησιμοποιήθηκαν κυτταρικές σειρές από οστεοσάρκωμα που είχαν μία από τις 3 κύριες μιτοχονδριακές μεταλλάξεις που σχετίζονται με τη LHON. Τα κύτταρα αυτά είχαν υψηλά επίπεδα ROS, μειωμένη λειτουργικότητα μιτοχονδριακής μεμβράνης και αυξημένα ποσοστά απόπτωσης. Η θεραπεία με β-οιστραδιόλη βοήθησε στην ανακούφιση από αυτά τα παθολογικά χαρακτηριστικά. Πιο συγκεκριμένα, η χρήση 17β-οιστραδιόλης στις κυτταρικές σειρές οδήγησε σε αύξηση του αντιοξειδωτικού ενζύμου υπεροξειδίου της δισμουτάσης (SOD), με αποτέλεσμα την ενίσχυση της μιτοχονδριακής βιογένεσης [128].

Γονιδιακή θεραπεία

Οι βασικοί στόχοι της γονιδιακής θεραπείας είναι η βελτίωση της μιτοχονδριακής λειτουργίας και η ανακούφιση από τα συμπτώματα των ασθενειών με την έγχυση φυσιολογικού αλληλομόρφου του μεταλλαγμένου γονιδίου στον οργανισμό. Οι οπτικές νευροπάθειες που οφείλονται σε γονιδιακές μεταλλάξεις, όπως η ασθένεια LHON, αποτελούν το αντικείμενο μελέτης πολλών ερευνητών που ασχολούνται με τη γονιδιακή θεραπεία λόγω του μικρού μεγέθους του οφθαλμού και της εύκολης πρόσβασης σε αυτόν [138]. Βέβαια, η γονιδιακή θεραπεία παρεμποδίζεται από την δομή διπλής μεμβράνης των μιτοχονδρίων και πιο συγκεκριμένα από την μειωμένη διαπερατότητα της εσωτερικής μεμβράνης. Για να παρακάμψουν αυτά τα εμπόδια, οι ερευνητές χρησιμοποίησαν έναν έμμεσο τρόπο, την «αλλοτροπική έκφραση». Προσπάθησαν, δηλαδή, να αντικαταστήσουν το μεταλλαγμένο γονίδιο, εισάγοντας το υγιές αλληλόμορφο του στο γονιδίωμα του πυρήνα αφού έχει προσδεθεί σε έναν αδενοσχετιζόμενο ιό (AAV- Adeno-associated virus) [139]. Η κωδικοποιημένη πρωτεΐνη, στη συνέχεια, μεταφέρεται στα μιτοχόνδρια όπου αντικαθιστά την μεταλλαγμένη και προσδένεται στο σύμπλοκο I, διορθώνοντας την βιοχημική βλάβη [143].

4.2.4. CPEO (*Chronic progressive external ophthalmoplegia*)

Το 1868 περιγράφηκε, από τον Albrecht von Graefe, η χρόνια προοδευτική εξωτερική οφθαλμοπληγία (CPEO) ως μια ασυνήθιστη ανωμαλία των οφθαλμών. Έναν αιώνα μετά, το 1958, οι Kearns και Sayre συσχέτισαν την νόσο με τον εκφυλισμό τους αμφιβληστροειδούς και τον αποκλεισμό του καρδιακού ηλεκτρικού σήματος [147].

Η χρόνια προοδευτική εξωτερική οφθαλμοπληγία, είναι μια μιτοχονδριακή, νευρομυϊκή ασθένεια που επηρεάζει τους οφθαλμούς, και χαρακτηρίζεται από αδυναμία των εξωφθάλμιων μυών και πτώση αυτών [148]. Η νόσος έχει δύο υποκατηγορίες, το σύνδρομο KSS και το CPEO plus [149]. Το KSS (Kearns-Sayre Syndrome) είναι υπότυπος της CPEO, αρκετά σπάνιος και αποτελείται από τρία χαρακτηριστικά:

1. Ελλείμματα της καρδιακής αγωγιμότητας .
2. Εγκεφαλική αταξία.
3. Αυξημένη συγκέντρωση πρωτεΐνης στο ENY [148].

Το CPEO plus, αναφέρεται σε ασθενείς με CPEO, με εκδήλωση συμπτωμάτων σαν του KSS, όμως οι ασθενείς δεν πληρούν τα κριτήρια για την κλινική του διάγνωση, δηλαδή δεν πληρούν τον ορισμό του KSS [149].

Το 2016 διεξήχθη μία έρευνα σε 372 ασθενείς που πάσχουν είτε από CPEO, είτε KSS, είτε CPEO plus. Αποδείχθηκε ότι το 56,3% που έπασχαν ήταν άντρες, ενώ το 43,7% ήταν οι γυναίκες ασθενείς και ο μέσος όρος ηλικίας που εκδήλωναν τα πρώτα συμπτώματα ήταν 11,9, δηλαδή από 6 έως 16,4 ετών. Τέλος, σε αυτή την έρευνα προκλήθηκε θάνατος μόνο σε έναν ασθενή [148].

Αίτια

Τον επόμενο αιώνα, μετά την ανακάλυψη της ασθένειας και συγκεκριμένα το 1976, οι ερευνητές, Lou και Reske Nielsen, σύνδεσαν τα ιστολογικά ευρήματα μυϊκών κυττάρων και την αύξηση του γαλακτικού και πυροσταφυλικού οξέος στο αίμα ασθενών με CPEO. Αυτές οι ανακαλύψεις οδήγησαν τους ερευνητές στο συμπέρασμα ότι η ασθένεια της χρόνιας προοδευτικής εξωτερικής οφθαλμοπληγίας, επηρεάζει την οξειδωτική φωσφορυλίωση που πραγματοποιείται στα μιτοχόνδρια [150].

Οι τρόποι κληρονόμησης της CPEO είναι τρεις. Μπορεί να είναι σποραδική και συνήθως καλύπτει το 50% των περιπτώσεων, ενώ το άλλο 50% καλύπτεται είτε από το μεντελικό μοτίβο κληρονόμησης, δηλαδή την αυτοσωμική επικρατή ή υπολειπόμενη μετάδοση είτε από τον μητρικό τρόπο κληρονόμησης [151].

Ανάλογα με τον τρόπο κληρονόμησης διαφοροποιούνται και οι μεταλλάξεις. Πιο συγκεκριμένα μπορεί να υπάρξει διαγραφή μικρού ή μεγάλου τμήματος του μιτοχondριακού γονιδιώματος που συνήθως έχει σποραδικό τρόπο κληρονόμησης ή κάποια σημειακή μετάλλαξη στο nDNA είτε στο mtDNA που οφείλεται σε αυτοσωμικό και μητρικό τρόπο κληρονόμησης αντίστοιχα και επηρεάζουν την σωστή λειτουργία του μιτοχondρίου [151].

Διαγραφή τμήματος mtDNA

Όπως προαναφέρθηκε, πάνω από το 50% των μεταλλάξεων της CPEO οφείλεται σε δίκλωνη ή μονόκλωνη διαγραφή μήκους του κυκλικού mtDNA. Η διαγραφή αυτή, μπορεί να αναφέρεται από 1,3 έως 9,1 Kb και τα σημεία κοπής μπορεί να διαφέρουν. Συνήθως το μήκος διαγραφής είναι 4,9 Kb, στα σημεία m.8470 και m.13460 [152]. Συχνότερα η διαγραφή ενός τμήματος του mtDNA γίνεται de novo στα ωοκύτταρα της μητέρας [153]. Προηγουμένως ειπώθηκε, ότι η κληρονομικότητα αυτής της ανωμαλίας μπορεί να μεταδοθεί με σποραδικό τρόπο. Υπάρχουν όμως μεταλλάξεις, κυρίως στο πυρηνικό γονιδίωμα, που μπορούν να προκαλέσουν πολλαπλές διαγραφές στο mtDNA, ή να επηρεάσουν την σταθερότητα του, ώστε να προκληθεί απώλεια των μιτοχondριακών αντίγραφων [151].

Σημειακές μεταλλάξεις στο mtDNA

Οι σημειακές μεταλλάξεις μπορούν να είναι αποτέλεσμα σποραδικής ή μητρικής κληρονομικότητας. Οι πιο συχνές συμβαίνουν στα mt-tRNA και συγκεκριμένα στα mt-tRNA^{Leu}, mt-tRNA^{Gln}, mt-tRNA^{Ala}, mt-tRNA^{Tyr}, mt-tRNA^{Lys} και mt-tRNA^{Asn}. Η πιο κοινή είναι στο MT-TL1 που κωδικοποιεί το mt-tRNA^{Lys} στην θέση m.3243 και γίνεται αντικατάσταση της αδενίνης σε γουανίνη (A>G) σαν την ασθένεια MELAS. Στο ίδιο μεταφορικό RNA μπορούν να προκύψουν οι αντικαταστάσεις m.3273T>C, m.33251A>G, m.3256C>T. Περαιτέρω σημειακές μεταλλάξεις που μπορούν να προκαλέσουν CPEO είναι στο mt-tRNA της γλουταμίνης (Gln), προσθήκης μιας αδενίνης στην θέση mt.4366 (m.4366insA).

Στο γονίδιο MT-TY, που κωδικοποιείται το μεταφορικό RNA της τυροσίνης (Tyr) υπάρχει έλλειψη μιας θυμίνης στην θέση m.5885 (T5885del). Στο γονίδιο MT-TA που κωδικοποιεί το tRNA της αλανίνης (Ala) πραγματοποιείται αντικατάσταση μιας βάσης m.5628T>C. Στο γονίδιο MT-TN, που κωδικοποιείται το tRNA της ασπαργίνης (Asn) γίνονται οι παρακάτω αντικαταστάσεις m.5692A>G, m.5702A>G, m.5703G>A [154]. Σε δύο ασθενής εμφανίστηκε η αντικατάσταση m.2835C>T, η οποία θέση κωδικοποιεί το 16S rRNA [149]. Άλλες αντικαταστάσεις που προκαλούν CPEO είναι m.3271T>C, m.3460G>A, m.8344A>G, m.9035C>T [155] και m.8340G>A [156].

Σημειακές μεταλλάξεις στο nDNA

Ο αυτοσωμικός επικρατής ή αυτοσωμικός υπολειπόμενος χαρακτήρας της ασθένειας, προκύπτει από μεταλλάξεις του πυρηνικού γονιδιώματος. Έχουν βρεθεί 42 πυρηνικά γονίδια που κωδικοποιούν μιτοχονδριακές πρωτεΐνες και οι μεταλλάξεις τους οδηγούν σε διαταραχές της λειτουργίας των αυτόνομων οργανιδίων [149]. Τα πιο πολύ εμφανιζόμενα γονίδια που προκύπτουν οι μεταλλάξεις είναι τα POLG1, POLG2, ANT1, Twirikle, RRM2B και OPA1. Αυτές οι μεταλλάξεις διαταράσσουν την λειτουργία των μιτοχονδρίων, καθώς επίσης μπορούν να συνοδεύονται από κάποια μετάλλαξη στο mtDNA [151].

Συμπτώματα

Τα χαρακτηριστικά που πλαισιώνουν την CPEO είναι τρία . Πρώτον χαρακτηρίζεται από προοδευτική αμφίπλευρη πτώση (Εικ. 26), δεύτερον από διάχυτη και συμμετρική μείωση της οφθαλμικής κινητικότητας και τρίτον από μιτοχονδριακή μυοπάθεια. Η ασθένεια αυτή μπορεί να προκαλέσει σοβαρή νοσηρότητα και θνησιμότητα, καθώς επηρεάζει πολλά συστήματα [151]. Άλλοι φαινότυποι που εκδηλώνονται είναι , εξωτερική οφθαλμοπληγία, μυϊκή αδυναμία οφθαλμών, αισθητηριακή απώλεια ακοής υψηλής συχνότητας (SNHL) και προοδευτική δυσφαγία. Ασθενείς με διαγραφή τμημάτων mtDNA εμφανίζουν προγενέστερα την έναρξη της νόσου CPEO και έχουν σοβαρότερη οφθαλμοπληγία σε σύγκριση με ασθενείς που έχουν σημειακές μεταλλάξεις [152]. Επί πρόσθετα συμπτώματα που μπορούν να εμφανιστούν είναι αταξία, αμφιβλειςτροειδίτιδα, πονοκέφαλοι και από σημειακές μεταλλάξεις μπορούν να προκληθούν εγκεφαλικά επεισόδια που οφείλονται από μιτοχονδριακές διαταραχές , σακχαρώδη διαβήτη, απώλεια ακοής και αποτυχία

ανάπτυξης του ασθενή [153]. Γίνεται αντιληπτό ότι η CPEO είναι μια ασθένεια που προσβάλλει τους οφθαλμούς ως προς τα νευρά και τους μύες. Σε διάφορες έρευνες σημειώθηκαν προβλήματα στην όραση των ασθενών. Ειδικότερα, πάνω από τους μισούς (52%) ασθενείς είχαν στραβισμό σε έναν ή και στους δυο οφθαλμούς και το 46,6% εμφάνισε διπλωπία [157].

Διάγνωση

Η διάγνωση της χρόνιας προοδευτικής εξωτερικής οφθαλμοπληγίας, για να πραγματοποιηθεί, δεν πρέπει να στηριχτεί στα κλινικά συμπτώματα που αυτή παρουσιάζει, δηλαδή την πτώση και την παράλυση των εξωφθαλμίων μυών. Αυτό πρέπει να λαμβάνεται υπόψη, διότι πολλές ασθένειες όπως αυτή της οφθαλμικής μυασθένειας Gravis, μιμείται τα χαρακτηριστικά της CPEO [151]. Η κατευθυντήρια γραμμή της διάγνωσης ορίζεται από την μιτοχονδριακή μετάλλαξη που υπάρχει στο κύτταρο. Πιο συγκεκριμένα, η διαγραφή που προκύπτει στο γονιδίωμα του μιτοχονδρίου δεν μπορεί να εντοπιστεί από ανάλυση του αίματος, για αυτό πραγματοποιείται μυϊκή βιοψία. Κατά την συλλογή του τμήματος του μυϊκού ιστού, ένα τμήμα του, αποθηκεύεται για ιστολογική εξέταση και ένα άλλο τμήμα αποθηκεύεται ώστε να επεξεργαστεί και να υποβληθεί σε διαγραφή στο mtDNA με την μέθοδο real time- qPCR (quality) [151]. Όταν ένας ασθενής φέρει σημειακές μεταλλάξεις στο μιτοχονδριακό DNA, συνηθίζεται να πραγματοποιείται αλληλούχιση του mtDNA και real time-qPCR [151,152]. Επειδή δεν είναι γνωστό τι είδους μετάλλαξη φέρει ο ασθενής, γίνονται όλες οι παραπάνω αναλύσεις. Περαιτέρω εξετάσεις, που διαδραματίζονται για την διάγνωση της CPEO είναι η τροχιακή αξονική τομογραφία (Orbital-CT) που απεικονίζει μη ειδική, διάχυτη μυϊκή ατροφία. Το ηλεκτρομυογράφημα αποτελεί μη ειδική εξέταση για την ασθένεια της CPEO, διότι μπορεί να δείξει αρχικά στάδια μυοπάθειας και μειωμένη κινητικότητα των μυών σε οποιαδήποτε μιτοχονδριακή μυοπάθεια. Το ξεχωριστό χαρακτηριστικό της ασθένειας CPEO είναι, ότι η απόδοση της κινητικότητας των μυϊκών κύτταρων μειώνεται. Άλλος ένας μη ειδικός δείκτης, είναι η αύξηση του γαλακτικού στο αίμα και στο ENY και η συγκέντρωση της κινάση κρεατινίνης, στον ορό, να είναι φυσιολογική ή ελαφρώς αυξημένη [151]. Τέλος, αξιοσημείωτο είναι, ότι στην μικροσκοπική εξέταση, με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο, τα μυϊκά μιτοχόνδρια εντοπίζονται με ανώμαλη μορφολογία, δηλαδή οι ακρολοφίες είναι

διογκωμένες [158] και παρατηρούνται παρακρυσταλλικά εγκλείσματα σε σχήμα ορθογωνίου, που αποτελούνται από συσσωρευμένες πρωτεΐνες [168].

Θεραπεία

Γενικά, πολλές είναι οι ουσίες που βοηθούν στην καλύτερη λειτουργία των μιτοχονδρίων, όπως το συνένζυμο Q₁₀, διγλωροοξικά, καρνιτίνη, κρεατινίνη και «cocktails» βιταμινών. Για την CPEO, όμως, δεν υπάρχει κάποια συγκεκριμένη ουσία που μπορεί να βοηθήσει στην θεραπεία της [149]. Ωστόσο, υπάρχουν κάποιοι τρόποι για να καλυτερεύσουν την κλινική εικόνα της νόσου. Μερικούς από αυτούς τους τρόπους είναι η χρήση ακουστικών βαρηκοΐας ή κοχλιακά εμφυτεύματα για την αποκατάσταση της απώλειας της ακοής. Για την αποκατάσταση της πτώσης των οφθαλμών, μόνο σε σοβαρές περιπτώσεις, ενδείκνυται η χειρουργική επέμβαση βλεφάρων τοποθετώντας σφεντόνες, ειδάλλως η λύση μπορεί να δοθεί μέσω το πρισματικών γυαλιών. Όπως σε κάθε ασθένεια που προσβάλλει το μυϊκό σύστημα, έτσι και στην CPEO, προτείνονται φυσικοθεραπείες με ανάλογες ασκήσεις για τους μυς των ματιών [153].

Τέλος, είναι σημαντικό να τονισθεί, ο ετήσιος έλεγχος επιτήρησης των ασθενών από μια σειρά από γιατρούς όπως νευρολόγους, καρδιολόγους, οφθαλμιάτρους, ακτινολόγους, ενδοκρινολόγους, νεφρολόγους, γαστρεντερολόγους και ωτορινολαρυγγολόγους, ώστε να παρακολουθούν την πορεία του ασθενούς με την πάροδο του χρόνου και των θεραπειών [153].



Εικ. 26: Δύο περιπτώσεις αμφίπλευρης συμμετρικής πτώσης βλεφάρων σε ασθενείς με CPEO (Πηγή: V.Borislavova, S. Cherninkova "Neuro-ophthalmologic findings in patients with mitochondrial cytopathies" University Hospital Aleksandrovska, Clinic of Neurology, Sofia, 2011.)

4.3. Μιτοχονδριακές ασθένειες που προκαλούνται από μεταλλάξεις στο nDNA

Τα μιτοχόνδρια, όπως έχει αναφερθεί και στην αρχή, είναι ημιαυτόνομα οργανίδια, δηλαδή πολλές πρωτεΐνες κωδικοποιούνται από το μιτοχονδριακό DNA που φέρουν στην μήτρα [4]. Ένα μεγάλο, όμως, μερίδιο μιτοχονδριακών πρωτεϊνών κωδικοποιούνται από το πυρηνικό γονιδίωμα του κυττάρου, όπως οι υπομονάδες των συμπλόκων της αναπνευστικής αλυσίδας. Τα τελευταία χρόνια, έχει στραφεί η προσοχή πολλών επιστημόνων στις πυρηνικές μεταλλάξεις που διαταράσσουν την λειτουργία του μιτοχονδρίου. Πλέον αμφισβητείται η αιτιολογία μιας μιτοχονδριακής νόσου, για το αν είναι μετάλλαξη του ίδιου το mtDNA ή έχει συμβάλει σε αυτή την διαταραχή το πυρηνικό DNA (nDNA) [159]. Στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 7) επισημαίνονται οι κύριες μιτοχονδριακές ασθένειες που οφείλονται σε μεταλλάξεις του nDNA, καθώς επίσης συμπεριλαμβάνονται και τα συμπτώματα που προκύπτουν από αυτές.

*Πίνακας 7: Οι μιτοχονδριακές ασθένειες οφειλόμενες σε μεταλλάξεις του πυρηνικού γονιδιώματος. (Πηγές: α) UMDF <https://www.umdf.org/what-is-mitochondrial-disease/types-of-mitochondrial-disease/> β) <https://rarediseases.info.nih.gov/> γ) Angelini, Corrado, et al. "Mitochondrial disorders of the nuclear genome." *Acta Myologica* 28.1 (2009): 16.)*

ΑΣΘΕΝΕΙΑ	ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ	ΑΙΤΙΑ	ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΑ
ADOA (Autosomal Dominant Optic Atrophy)	Η αυτοσωμική κυρίαρχη οπτική ατροφία είναι μια ασθένεια που προσβάλλει το μυϊκό σύστημα.	Μετάλλαξη στο γονίδιο της OPA1, η οποία προκαλεί ελάττωμα στην σύντηξη των μιτοχονδρίων.	Το 80-90% εκδηλώνουν οπτική ατροφία, μειωμένη αίσθηση του πόνου, μείωση αισθητηριακής ακοής. Λιγότερα συχνά εμφανίζεται αχρωματοψία, αταξία κ.α.
Alpers Disease (Progressive Infantile Poliodystrophy)	Νευρολογική ασθένεια που ξεκινάει από την παιδική ηλικία.	Μετάλλαξη στο γονίδιο της POLG, η οποία προκαλεί εξάντληση των αντιγράφων του mtDNA.	Επιληπτικές κρίσεις, άνοια, τύφλωση, ηπατικές δυσλειτουργίες, εκφυλισμός εγκεφάλου.

Barth Syndrome	Νευρομυϊκή ασθένεια που εκδηλώνεται κυρίως σε άντρες.	Μετάλλαξη στο γονίδιο TAZ, που φυσιολογικά, διατηρεί την δομή των εσωτερικών μεμβρανών στα μιτοχόνδρια.	Σκελετική μυοπάθεια, καρδιοπάθεια, ουδετεροπενία, διαταραχή μορφολογίας των μιτοχονδρίων κ.α.
CACT Deficiency (Carnitine-acylcarnitine translocase)	Η ασθένεια CACT αποτρέπει την μετατροπή των λιπαρών οξέων για την παραγωγή ενέργειας.	Οφείλεται σε μετάλλαξη του γονιδίου SLC25A20	Υπογλυκαιμία, αρρυθμίες, καρδιοπάθεια, ηπατομεγαλία, μυϊκή αδυναμία, νευρολογικά προβλήματα, επιληπτικές κρίσεις, έμετος, άπνοια κ.α.
Complexes I Deficiency	Η ανεπάρκεια συμπλόκου I, μπορεί να προκαλέσει ασθένεια όπως, γαλακτική οξείδωση εγκεφαλοπάθεια, καρδιομυοπάθεια, Σύνδρομο Leigh κ.α. [160]	Μερικά πυρηνικά γονίδια που υπόκεινται σε μεταλλάξεις είναι: NDUFS1, NDUFS8, NDUF A1, NDUFS2, NDUF B9 κ.α. [160]	Αταξία, εγκεφαλοπάθεια, μιτοχονδριακή εγκεφαλοπάθεια, δυσκολία αναπνοής κ.α.
Complex II Deficiency	Η ανεπάρκεια του συμπλόκου II, μπορεί να προκαλέσει Σύνδρομο Leigh, παραγαγγλίωμα στο ΠΝΣ και φαιοχρωμοκύττωμα [160]	Μεταλλάξεις στα γονίδια : SDH-A, SDH-B, SDH-C, SDH-D [160]	Εγκεφαλομυοπάθεια, υποτονία, λήθαργος, αναπνευστική ανεπάρκεια, γαλακτική οξέωση, αταξία κ.α.
Complex III Deficiency	Η ανεπάρκεια του συμπλόκου III μπορεί να προκαλέσει νευρολογικές διαταραχές [160]	Μετάλλαξη στα γονίδια: UQCRB και UQC RQ [160]	Υπογλυκαιμία, Γαλακτική οξείδωση κ.α. [160]
Complex IV Deficiency	Η ανεπάρκεια του συμπλόκου IV μπορεί να προκαλέσει Charcot-Marie-Tooth ασθένεια (νευροπάθεια) και εγκεφαλομυοπάθεια	Μετάλλαξη στα γονίδια: COX6A1, COX6B1, COX7B, COX8A [160]	Μυοπάθεια, αταξία, αναπνευστική δυσκολία, ατροφία κ.α.

Complex V Deficiency	Η ανεπάρκεια του συμπλόκου V προκαλεί αργή και εξελικτική μυοπάθεια	Τα γονίδια που πραγματοποιούνται οι μεταλλάξεις είναι ATP5E, ATP51 , ATP8A2 και μειώνουν την ενεργητικότητα της ΑΤΡάσης. [160]	Γαλακτική οξείδωση, αταξία, νευροπάθεια, διανοητική καθυστέρηση κ.α.
Co-Enzyme Q10 Deficiency	Ανεπάρκεια του συνένζυμου Q ₁₀ , η όποια προκαλεί διαταραχή στα επίπεδα του συνένζυμου	Οι μεταλλάξεις γίνονται στα γονίδια COQ2 και PDSS2	Εγκεφαλομυοπάθεια, αταξία και ανωμαλία στα νεφρικά σωληνάρια
LBSL (Leukoencephalopathy with brain stem and spinal cord involvement and lactate elevation)	Η ασθένεια αυτή είναι μια νευρολογική διαταραχή που εμφανίζεται στα παιδιά και χαρακτηρίζεται ως προοδευτική παρεγκεφαλίτιδα	Το γονίδιο που είναι υπεύθυνο για την LBSL είναι το DARS2	Αταξία, Σπασμούς με δυσλειτουργία της σπονδυλικής στήλης, νευρολογικές διαταραχές, κυρίως των ποδιών, επιληψίες κ.α.
Γλουταρική οξυαιμία τύπου II	Ασθένεια που σχετίζεται με την ικανότητα αποικοδόμησης πρωτεϊνών και λιπιδίων για την παραγωγή ενέργειας.	Μεταλλάξεις στα γονίδια ETFA, ETFB και ETFDH	Υπογλυκαιμία, μυϊκή υποτονία, μυαλγία κ.α.
MCADD (Medium-chain acyl-coenzyme A dehydrogenase deficiency)	Κληρονομική δυσλειτουργία που προκαλεί επεισόδια εγκεφαλοπάθειας σε παιδιά.	Η μετάλλαξη στο γονίδιο ACADM δεν επιτρέπει την μετατροπή των λιπών σε ενέργεια.	Ηπατομεγαλία, μειωμένη ηπατική λειτουργία, μυϊκή υποτονία-αδυναμία, μυαλγία, αδυναμία στους μύες των άνω και κάτω άκρων, εμετός κ.α.

MEPAN (Mitochondrial Enoyl C₆A Reductase Protein Associated Neurodegeneration)	Σπάνια νευρολογική πάθηση που χαρακτηρίζεται από δυστονία σε παιδιά ηλικίας 15 μηνών-6,5 χρόνων.	Μετάλλαξη στο γονίδιο MERC. Η πρωτεΐνη που προκύπτει από αυτό φυσιολογικά πραγματοποιεί το τελευταίο στάδιο της σύνθεσης των λιπαρών οξέων	Δυσαρθρία (ατελής άρθρωση του λόγου), αταξία, οπτική ατροφία, γνωστική δυσλειτουργία κ.α.
MIRAS (Mitochondrial Recessive Ataxia Syndrome)	Αυτοσωμική υπολειπόμενη ασθένεια που αποτελεί αιτία νεανικής αταξίας	Ελλείμματα στο γονίδιο POLG1 που κωδικοποιεί τη μιτοχονδριακή πολυμεράση γ.	Εγκεφαλοπάθεια, Προβλήματα στην ισορροπία, αταξία, επιληψία, γνωστική δυσλειτουργία, ψυχιατρικές διαταραχές κ.α.
MNGIE (Myoneurogastrointestinal Disorder and Encephalopathy)	Ασθένεια που επηρεάζει κυρίως το πεπτικό και το νευρικό σύστημα.	Μεταλλάξεις στο γονίδιο TYMP, που αναστέλλουν την δραστηριότητα του ενζύμου φωσφορυλάση θυμιδίνης	Γαστρεντερική δυσκινησία, δυσφαγία, ναυτία, εμετός, κοιλιακός πόνος, διάρροια, εντερική απόφραξη, καχεξία κ.α.
MEMSA (Myoclonic epilepsy myopathy sensory ataxia)	Πάθηση που χαρακτηρίζεται κυρίως από νευρικές και μυϊκές ανωμαλίες.	Μεταλλάξεις στο γονίδιο POLG.	Αταξία, Επιληπτικές κρίσεις, Εγκεφαλοπάθεια, Μυοπάθεια
Ανεπάρκεια συμπλέγματος πυροσταφυλικής αφυδρογονάσης	Φυλοσύνδετη μεταβολική νόσος κατά την οποία ο οργανισμός αδυνατεί να διασπάσει τα θρεπτικά συστατικά που λαμβάνει από τα τρόφιμα.	Η κυριότερη αιτία είναι μία μετάλλαξη που συμβαίνει στο γονίδιο PDHA1.	Γαλακτική οξέωση, υποτονία, λήθαργος, ταχύπνοια, επιληπτικές κρίσεις, μικροκεφαλία, σπασμοί κ.α.

4.4. Άλλες ασθένειες που συνδέονται με μιτοχονδριακές δυσλειτουργίες

Εκτός από τις πρωταρχικές μιτοχονδριακές ασθένειες που είναι αποτέλεσμα συγκεκριμένων μεταλλαγών, οι βλάβες στα μιτοχόνδρια συνδέονται δευτερογενώς με νευροεκφυλιστικές και μεταβολικές νόσους [161]. Το γεγονός αυτό γίνεται εύκολα αντιληπτό αναλογίζοντας την υψηλή ενεργειακή ανάγκη των νευρώνων. Πιο συγκεκριμένα, τα προβλήματα στις μιτοχονδριακές λειτουργίες και την μεταφορά των ηλεκτρονίων διαμέσου της αναπνευστικής αλυσίδας συσχετίζονται με ασθένειες όπως το Alzheimer και η νόσος Parkinson [162]. Βέβαια, στις δευτερογενείς κατατάσσονται και διαταραχές όπως ο σακχαρώδης διαβήτης, ο καρκίνος και τα αυτοάνοσα νοσήματα. Όσον αφορά το τελευταίο, λαμβάνοντας υπόψη την προέλευση των μιτοχονδρίων και τις δομικές ομοιότητες τους με τα βακτήρια, οι επιστήμονες διαπίστωσαν ότι το έμφυτο ανοσοποιητικό σύστημα ορισμένες φορές τα αντιλαμβάνεται ως επιβλαβείς ουσίες και προκαλεί αυτοάνοσες αποκρίσεις [163]. Τέλος αλλά εξίσου σημαντικό, πρόσφατη έρευνα έχει συσχετίσει την λοίμωξη από Covid-2019 με την μιτοχονδριακή λειτουργία στη σήψη. Ειδικότερα ελέγχεται η ανταπόκριση των μιτοχονδρίων στην έμφυτη ανοσολογική απάντηση, στην αντιγραφή του ιού, στην υπερφλεγμονώδη κατάσταση και τις οδούς HIFa/Sirtuin. Τα αποτελέσματα έδειξαν, ότι ίσως η αλληλεπίδραση των μιτοχονδρίων με τον ίο προκαλεί την αναπαραγωγή και την αύξηση του ιικού φορτίου [164].

4.4.1. Νόσος Alzheimer

Η νόσος Alzheimer είναι μία μη θεραπεύσιμη νευροεκφυλιστική ασθένεια. Αποτελεί την πιο κοινή αιτία άνοιας και εκτιμάται ότι καταγράφονται πάνω από 5 εκατομμύρια περιστατικά ετησίως. Η σύνθετη παθοφυσιολογία και αιτιοπαθογένεση της νόσου δεν επιτρέπουν την ανάπτυξη μίας στοχευμένης θεραπείας και πρόληψης. Από έρευνες που έχουν γίνει τα τελευταία χρόνια, έχει αποδειχθεί μια συσχέτιση της παθογένειας της ασθένειας με ανωμαλίες στα μιτοχόνδρια [165]. Πιο συγκεκριμένα, ελλείμματα στο μιτοχονδριακό DNA, που συσσωρεύονται με τη πάροδο του χρόνου, είναι υπεύθυνα για την ανεπάρκεια του συμπλόκου IV της αναπνευστικής αλυσίδας, που αποτελεί χαρακτηριστικό γνώρισμα της νόσου Alzheimer. Σε πολλές περιπτώσεις έχει παρατηρηθεί ανεπάρκεια στο σύμπλοκο I και μείωση στις δομικές πρωτεΐνες του συμπλόκου III. Εκτός από τις λειτουργικές διαφοροποιήσεις των μιτοχονδρίων σε ασθενείς που πάσχουν, εμφανείς είναι και οι μορφολογικές τους αλλαγές. Σε διάφορες μελέτες που έγιναν σε

ινοβλάστες πασχόντων ανακαλύφθηκε ότι τα μιτοχόνδρια τους είχαν μειωθεί σε μέγεθος ενώ πολλά από αυτά βρέθηκαν κατακερματισμένα. Επίσης, δεν πρέπει να παραλειφθεί η επίδραση του οξειδωτικού στρες στην παθογένεια της νόσου. Έχει επισημανθεί ότι οι βλάβες στην αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων και στις διαδικασίες της σύντηξης και της διαίρεσης των μιτοχονδρίων οδηγούν σε ενδοκυττάρια αύξηση των επιπέδων ROS. Η υπέρμετρη παραγωγή ROS, έχει αποδειχθεί ότι συμβάλλει στη συσσώρευση του β-αμυλοειδούς που είναι πρωταρχικός παράγοντας της ασθένειας καθώς παρεμποδίζει την διαδικασία της αναπνοής στους νευρώνες και τα αστροκύτταρα. [166] .

4.4.2. Νόσος Parkinson

Η νόσος Parkinson , είναι μια προοδευτική διαταραχή που εκφυλίζει το νευρικό σύστημα και περιγράφηκε για πρώτη φορά από τον James Parkinson, το 1817. Επηρεάζει συνήθως ηλικιωμένους σε παγκόσμιο επίπεδο και ο αριθμός από πάσχοντες πρόκειται να αυξηθεί έως το 2030 από 8,7 σε 9,3 εκατομμύρια. Οι κυριότερες κλινικές εκδηλώσεις της νόσου είναι δυσλειτουργίες του σωματοκινητικού συστήματος, όπως ακαμψία, αστάθεια, βραδυκίνησια και τρέμουλο. Δεν έχουν βρεθεί ακόμα όλες οι αιτίες του Parkinson, ωστόσο ο προοδευτικός εκφυλισμός της ντοπαμινεργικής οδού, η απώλεια νευρώνων και η εξάντληση της ντοπαμίνης έχουν συσχετισθεί με την νόσο αυτή. Η γέφυρα σύνδεσης των μιτοχονδρίων με το Parkinson ανακαλύφθηκε, με την βοήθεια ιστολογικών εξετάσεων από τμήματα ανθρώπινου εγκεφάλου. Το αποτέλεσμα των εξετάσεων ήταν μιτοχονδριακή δυσλειτουργία, λόγω οξειδωτικού stress. Στην ουσία, η τοξίνη 1-μεθυλ-4-φαινυλ-1,2,3,4-τριταυδροπυριδίνης (MPTP) αναστέλλει με μη αναστρέψιμο τρόπο το σύμπλοκο I [167], το οποίο εμπλέκεται στην παραγωγή ROS [40]. Η απώλεια αυτή έχει ποσοτικοποιηθεί και βρίσκεται στο 34%, ενώ τα υπόλοιπα σύμπλοκα της ECT παραμένουν αμετάβλητα. Οι ντοπαμινεργικοί νευρώνες είναι ευαίσθητοι στη διαδικασία παραγωγής ROS , η οποία προκαλεί οξειδωτικό stress από την απώλεια του συμπλόκου I της ECT . Με αυτόν τον τρόπο οι νευρώνες εκφυλίζονται και προκαλείται η νόσος Parkinson [167].

Στις νευροεκφυλιστικές ασθένειες, όπως αυτή του Parkinson, είναι απαραίτητο να διατηρηθούν τα υγιή μιτοχόνδρια και να καταστραφούν τα δυσλειτουργικά μέσω της διαδικασίας της μιτοφαγίας. Όπως έχει αναφερθεί, στην μιτοφαγία καταλυτικό ρόλο παίζουν δυο ουσίες , η Pink1 και Parkin [167]. Είναι αποδεδειγμένο ότι μεταλλάξεις στο γονίδιο των Pink1 και Parkin είναι αιτίες για την έναρξη του Parkinson. Ως αποτέλεσμα

αυτών των μεταλλάξεων, τα μιτοχόνδρια γίνονται δυσλειτουργικά και η μορφολογία τους παραμορφώνεται. Έτσι, τα παθολογικά μιτοχόνδρια συσσωρεύονται στο κύτταρο. Εφόσον ο μηχανισμός της μιτοφαγίας δεν μπορεί να λειτουργήσει ώστε να τα καταστρέψει, το κύτταρο οδηγείται σε κυτταρικό θάνατο [166].

Συμπέρασμα

Συνοψίζοντας, έχουν καταμετρηθεί πάνω από 50 μιτοχονδριακές ασθένειες, οι οποίες συμβάλλουν σε πολλά συστήματα του οργανισμού και στην πλειονότητα τους επικρατεί ετεροπλασμία. Κυρίως, τα συστήματα που προσβάλλονται είναι το νευρικό και μυϊκό στα οποία είναι πιο εντατική η λειτουργία των μιτοχονδρίων, όμως οι πιο σοβαρές είναι οι νευρικές ασθένειες που εκδηλώνουν επικίνδυνα για τον οργανισμό συμπτώματα. Γενικά, τα αίτια των μιτοχονδριακών ασθενειών οφείλονται σε πυρηνικές ή/ και μιτοχονδριακές μεταλλάξεις. Και στις τρεις περιπτώσεις οι μεταλλάξεις αυτές προκαλούν «νόσο» στα μιτοχόνδρια, με αποτέλεσμα να μην είναι λειτουργικά και να καταλήγουν τοξικά για το κύτταρο και τον οργανισμό. Ο αριθμός των μεταλλάξεων στο mtDNA αυξάνεται καθημερινά. Λόγω αυτών, υπάρχει μεγάλη ποικιλομορφία, που καθιστά την διάγνωση τους περίπλοκη. Η συμμετοχή της μεθόδου next generation sequencing είναι καθοριστική πλέον για το πόρισμα της εύρεσης των μιτοχονδριακών ασθενειών. Επιπλέον, η τράπεζα μιτοχονδριακών γονιδίων, γνωστή ως MITOMAP, περιέχει μια βάση δεδομένων την οποία πολλοί ερευνητές την χρησιμοποιούν για να ανακαλύψουν νέες μιτοχονδριακές μεταλλάξεις. Με αυτό τον τρόπο επιδιώκουν να προσδιορίσουν τις επιπτώσεις στα μιτοχόνδρια και το είδος της ασθένειας που θα ακολουθήσει. Η θεραπεία που πραγματοποιείται σε αυτές τις ασθένειες είναι μη ειδική, δηλαδή αντιμετωπίζονται τα συμπτώματα και όχι οι ίδιες οι ασθένειες. Νέες τεχνολογικές μέθοδοι, όπως η γονιδιακή θεραπεία, μπορεί να είναι το κλειδί για την καταπολέμηση των μιτοχονδριακών ασθενειών, καθώς αυτή εξελίσσεται συνεχώς και είναι πολλά υποσχόμενη για το μέλλον της επιστήμης και της θεραπείας.

Εν κατακλείδι, τα μιτοχόνδρια είναι οργανίδια που επιτελούν πολύπλοκες και σημαντικές λειτουργίες για το κύτταρο. Οι ιδιότητες τους μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως θεραπευτικά μέσα σε ασθένειες, όπως τον καρκίνο, όμως όταν «νοσούν» τα ίδια μπορούν να επιφέρουν δυσμενείς επιπτώσεις στον άνθρωπο.

Βιβλιογραφία

1. <https://www.etymonline.com>
2. Alberts, B., Bray, D., Hopkin, K., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, P & Walter, P: Βασικές αρχές κυτταρικής βιολογίας. 3^η ΕΚΔΟΣΗ. Εκδόσεις Πασχαλίδης. Αθήνα (2006): Σελ 59-60,67,558,523-525,533,564
3. O'Connor, Clare M., Jill U. Adams, and Jennifer Fairman. "Essentials of cell biology." *Cambridge, MA: NPG Education* 1 (2010): 54.
4. Rahman, Jubayer, et al. "Complement's favourite organelle—Mitochondria?." *British Journal of Pharmacology* (2020).
5. Κόκοτας, Χαρίλαος. *Η συμβολή των μεταλλαγών του μιτοχονδριακού DNA σε Έλληνες ασθενείς με νευροαισθητήρια, μη συνδρομική βαρηκοΐα, με έναρξη του φαινομένου στην παιδική ηλικία* Diss. National and Kapodistrian University of Athens; Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών (ΕΚΠΑ), (2011): Σελ 79
6. Detmer, Scott A., and David C. Chan. "Functions and dysfunctions of mitochondrial dynamics." *Nature reviews Molecular cell biology* 8.11 (2007): 870-879.
7. Stackebrandt, Erko. "Bacterial Biodiversity." (2001): 307-316.
8. Jocelyn E. Krebs, Elliot S. Goldstein, Stephen T. Kilpatric: LEWIN'S Γονίδια X. 10^η Έκδοση. Εκδόσεις Πασχαλίδης. Αθήνα (2016): Σελ 118,113
9. Gupta, Anil. "Cell and Organelles." *Comprehensive Biochemistry for Dentistry*. Springer, Singapore, (2019). 5-32.
10. Verma, P. S. *Cell biology, genetics Molecular Biology, Evolution and ecology*. Chand, (1974): Σελ 194 -196
11. Paradies, Giuseppe, et al. "Role of cardiolipin in mitochondrial function and dynamics in health and disease: Molecular and pharmacological aspects." *Cells* 8.7 (2019): 728.
12. Javadov, Sabzali, et al. "Mitochondrial respiratory supercomplexes in mammalian cells: structural versus functional role." *Journal of Molecular Medicine* (2020): 1-17.
13. Jacob, Wim A., et al. "Mitochondrial matrix granules: their behavior during changing metabolic situations and their relationship to contact sites between inner and outer mitochondrial membranes." *Microscopy research and technique* 27.4 (1994): 307-318.

14. Spurlock, B., et al. "Interplay of mitochondrial fission-fusion with cell cycle regulation: Possible impacts on stem cell and organismal aging." *Experimental Gerontology* (2020): 110919.
15. Hales, K. G. "Mitochondrial fusion and division." *Nature Education* 3.9 (2010): 12.
16. Willard, Melinda D., Francis S. Willard, and David P. Siderovski. "The Superfamily of "Regulator of G-Protein Signaling"(RGS) Proteins." *Handbook of Cell Signaling*. Academic Press, (2010). 1683-1703.
17. Anggono, V., and P. J. Robinson. "Dynamin." (2009): 725-735.
18. Sinha, Sansrity, and Narayanan Manoj. "Molecular evolution of proteins mediating mitochondrial fission–fusion dynamics." *FEBS letters* 593.7 (2019): 703-718.
19. Cohen, Mickael M., and David Tareste. "Recent insights into the structure and function of Mitofusins in mitochondrial fusion." *F1000Research* 7 (2018).
20. Lee, Hakjoo, Sylvia B. Smith, and Yisang Yoon. "The short variant of the mitochondrial dynamin OPA1 maintains mitochondrial energetics and cristae structure." *Journal of Biological Chemistry* 292.17 (2017): 7115-7130.
21. Whitley, B. N., E. A. Engelhart, and S. Hoppins. "Mitochondrial dynamics and their potential as a therapeutic target." *Mitochondrion* 49 (2019): 269-283.
22. Θεριανού, Αναστασία. *Μελέτη της δυναμικής συμπεριφοράς των μιτοχονδρίων και των ρυθμιστών τους στην ψωρίαση*. Diss. Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών (ΕΚΠΑ). Σχολή Επιστημών Υγείας. Τμήμα Ιατρικής. Τομέας Παθολογίας, Κλινική Αφροδισίων και Δερματικών Νόσων Νοσοκομείου ΑΝΔΡΕΑΣ ΣΥΓΓΡΟΣ, (2018): Σελ 47,48
23. Berg, Jeremy M., John L. Tymoczko, and Lubert Stryer. *Βιοχημεία*,^{3^η} ΕΚΔΟΣΗ. *Εκδόσεις Πασχαλίδης*. Αθήνα (2015): σελ 326, 383,407,411,431,408,459
24. Tortora, G. J., B. R. Funke, and C. L. Case. "Εισαγωγή στη μικροβιολογία." *2^η ΕΚΔΟΣΗ, Εκδόσεις Πασχαλίδης, Αθήνα* (2016): Σελ 75
25. Fernie, Alisdair R., Fernando Carrari, and Lee J. Sweetlove. "Respiratory metabolism: glycolysis, the TCA cycle and mitochondrial electron transport." *Current opinion in plant biology* 7.3 (2004): 254-261.
26. Korla, Kalyani, and Chanchal K. Mitra. "Modelling the Krebs cycle and oxidative phosphorylation." *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics* 32.2 (2014): 242-256.
27. Weinberg, Samuel E., and Navdeep S. Chandel. "Targeting mitochondria metabolism for cancer therapy." *Nature chemical biology* 11.1 (2015): 9.

28. Van der Blik, Alexander M., Margaret M. Sedensky, and Phil G. Morgan. "Cell biology of the mitochondrion." *Genetics* 207.3 (2017): 843-871.
29. Akram, Muhammad. "Citric acid cycle and role of its intermediates in metabolism." *Cell biochemistry and biophysics* 68.3 (2014): 475-478.
30. Papa, Sergio, et al. "The oxidative phosphorylation system in mammalian mitochondria." *Advances in Mitochondrial Medicine*. Springer, Dordrecht, 2012. 3-37.
31. Fernández-Vizarra, Erika, Valeria Tiranti, and Massimo Zeviani. "Assembly of the oxidative phosphorylation system in humans: what we have learned by studying its defects." *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research* 1793.1 (2009): 200-211.
32. Smeitink, Jan, Lambert van den Heuvel, and Salvatore DiMauro. "The genetics and pathology of oxidative phosphorylation." *Nature Reviews Genetics* 2.5 (2001): 342-352.
33. Nijtmans, Leo GJ, et al. "Function and dysfunction of the oxidative phosphorylation system." *Mitochondrial function and biogenesis*. Springer, Berlin, Heidelberg, 2004. 149-176.
34. Hüttemann, Maik, et al. "Regulation of mitochondrial oxidative phosphorylation through cell signaling." *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research* 1773.12 (2007): 1701-1720.
35. Γιαννούλης, Θεμιστοκλής. "Η συμβολή του μιτοχονδριακού mtDNA στην εξέλιξη: παραδείγματα από άγρια και οικόσιτα ζώα." (2018): Σελ 43-45
36. Kakkar, Poonam, and B. K. Singh. "Mitochondria: a hub of redox activities and cellular distress control." *Molecular and cellular biochemistry* 305.1-2 (2007): 235-253.
37. Ajith, Thekkuttuparambil Ananthanarayanan. "Role of mitochondria and mitochondria-targeted agents in non-alcoholic fatty liver disease." *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology* 45.5 (2018): 413-421.
38. Angelova, Plamena R., and Andrey Y. Abramov. "Role of mitochondrial ROS in the brain: from physiology to neurodegeneration." *FEBS letters* 592.5 (2018): 692-702.
39. Zorov, Dmitry B., Magdalena Juhaszova, and Steven J. Sollott. "Mitochondrial reactive oxygen species (ROS) and ROS-induced ROS release." *Physiological reviews* 94.3 (2014): 909-950.

40. Agrawal, Anurag, and Ulaganathan Mabalirajan. "Rejuvenating cellular respiration for optimizing respiratory function: targeting mitochondria." *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology* 310.2 (2016): L103-L113.
41. Kramer, Peter, and Paola Bressan. "Our (mother's) mitochondria and our mind." *Perspectives on Psychological Science* 13.1 (2018): 88-100.
42. Bravo-Sagua, Roberto, et al. "Calcium transport and signaling in mitochondria." *Comprehensive physiology* 7.2 (2011): 623-634.
43. Marchi, Saverio, et al. "Mitochondrial and endoplasmic reticulum calcium homeostasis and cell death." *Cell Calcium* 69 (2018): 62-72.
44. Rossi, Alice, Paola Pizzo, and Riccardo Filadi. "Calcium, mitochondria and cell metabolism: A functional triangle in bioenergetics." *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research* 1866.7 (2019): 1068-1078.
45. Kallergi, Emmanouela, et al. "Common players in mitochondria biogenesis and neuronal protection against stress-induced apoptosis." *Neurochemical research* 39.3 (2014): 546-555.
46. Gulbins, Dreschers and Bock. "Role of mitochondria in apoptosis" University of Essen (2003): 85-90
47. Karbowski, Mariusz. "Mitochondria on guard: role of mitochondrial fusion and fission in the regulation of apoptosis." *BCL-2 Protein Family*. Springer, New York, NY, 2010. 131-142.
48. Michael Lieberman, Allan D.Marks. Βασική Ιατρική Βιοχημεία του Marks.⁴ⁿ ΕΚΔΟΣΗ. Εκδόσεις Παρισιάνου (2014): Σελ 335
49. Jin, Seok Min, and Richard J. Youle. "PINK1-and Parkin-mediated mitophagy at a glance." *Journal of cell science* 125.4 (2012): 795-799.
50. Tanida, Isei, Takashi Ueno, and Eiki Kominami. "LC3 and Autophagy." *Autophagosome and phagosome*. Humana press, 2008. 77-88.
51. Dombi, Eszter, Heather Mortiboys, and Joanna Poulton. "Modulating mitophagy in mitochondrial disease." *Current Medicinal Chemistry* 25.40 (2018): 5597-5612.
52. Liu, Jia, et al. "Mitophagy in Parkinson's disease: from pathogenesis to treatment." *Cells* 8.7 (2019): 712.
53. Valero, Teresa. "Editorial (thematic issue: Mitochondrial biogenesis: Pharmacological approaches)." *Current pharmaceutical design* 20.35 (2014): 5507-5509.

54. Παληκαράς, Κωνσταντίνος. *Συντονισμός της μιτοχονδριακής βιογένεσης και του μηχανισμού της μιτοφαγίας κατά τη γήρανση στον νηματώδη Caenorhabditis elegans*. Diss. Πανεπιστήμιο Κρήτης. Σχολή Θετικών και Τεχνολογικών Επιστημών. Τμήμα Βιολογίας, 2015: Σελ 20-21
55. Walker, Melissa A., et al. "Powering the immune system: mitochondria in immune function and deficiency." *Journal of immunology research* 2014 (2014).
56. Angajala, Anusha, et al. "Diverse roles of mitochondria in immune responses: novel insights into immuno-metabolism." *Frontiers in immunology* 9 (2018): 1605.
57. Mills, Evanna L., Beth Kelly, and Luke AJ O'Neill. "Mitochondria are the powerhouses of immunity." *Nature immunology* 18.5 (2017): 488-498.
58. T.A.Brown, P: *Γονιδιώματα-Σύγχρονες Ερευνητικές Προσεγγίσεις*, 2^η ΕΚΔΟΣΗ, Εκδόσεις Πασχαλίδης.Αθήνα (2010): Σελ: 318,320
59. Sun, Xin, and Justin C. St. John. "The role of the mtDNA set point in differentiation, development and tumorigenesis." *Biochemical Journal* 473.19 (2016): 2955-2971.
60. Κλάδη, Αθηνά, *Μελέτη του μιτοχονδριακού DNA σε ασθενείς με νευρολογικά νοσήματα*.Diss, National and Kapodistrian University of Athens;Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών (ΕΚΠΑ), (2000):Σελ 30
61. Yan, Chaojun, et al. "Mitochondrial DNA: distribution, mutations, and elimination." *Cells* 8.4 (2019): 379.
62. Nissanka, Nadee, and Carlos T. Moraes. "Mitochondrial DNA damage and reactive oxygen species in neurodegenerative disease." *FEBS letters* 592.5 (2018): 728-742.
63. El-Hattab, Ayman W., William J. Craigen, and Fernando Scaglia. "Mitochondrial DNA maintenance defects." *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease* 1863.6 (2017): 1539-1555.
64. Sharma, Priyanka, and Harini Sampath. "Mitochondrial DNA integrity: role in health and disease." *Cells* 8.2 (2019): 100.
65. Zinovkina, L. A. "DNA Replication in Human Mitochondria." *Biochemistry (Moscow)* 84.8 (2019): 884-895.
66. Κυριάκου Ελένη, *Μοριακή προσέγγιση δομικών και λειτουργικών στοιχείων του μιτοχονδριακού DNA του Mytilus galloprovincialis*. Diss,National and Kapodistrian University of Athens; Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών (ΕΚΠΑ), (2015):Σελ 24,31

67. Fonseca, Miguel M., D. James Harris, and David Posada. "The inversion of the control region in three mitogenomes provides further evidence for an asymmetric model of vertebrate mtDNA replication." *PLoS One* 9.9 (2014): e106654.
68. Garone, Caterina, Michal Minczuk, and Maria Falkenberg. "Mitochondrial DNA replication in mammalian cells: overview of the pathway." *Essays in biochemistry* 62.3 (2018): 287-296.
69. Gustafsson, Claes M., Maria Falkenberg, and Nils-Göran Larsson. "Maintenance and expression of mammalian mitochondrial DNA." *Annual review of biochemistry* 85 (2016): 133-160.
70. Barshad, Gilad, et al. "Mitochondrial DNA transcription and its regulation: an evolutionary perspective." *Trends in Genetics* 34.9 (2018): 682-692.
71. Watson J.D, Bake T.A, Bell S.P, Gann A, Levin M, Richard L: ΜΟΠΙΑΚΗ ΒΙΟΛΟΓΙΑ του ΓΟΝΙΔΙΟΥ. 2^η ελληνική έκδοση. Εκδόσεις Utopia. Αγία Παρασκευή 2018:Σελ 565,566
72. Jukes, Thomas H., and Syozo Osawa. "The genetic code in mitochondria and chloroplasts." *Experientia* 46.11 (1990): 1117-1126.
73. O'Brien, Thomas W. "Properties of human mitochondrial ribosomes." *IUBMB life* 55.9 (2003): 505-513.
74. Gopisetty, Gopal, and Rajkumar Thangarajan. "Mammalian mitochondrial ribosomal small subunit (MRPS) genes: A putative role in human disease." *Gene* 589.1 (2016): 27-35.
75. Garone, Caterina, Michal Minczuk, and Aaron R. D'Souza. "Mitochondrial transcription and translation: overview." *Essays in biochemistry* 62.3 (2018): 309-320.
76. Hammarsund, Marianne, et al. "Identification and characterization of two novel human mitochondrial elongation factor genes, hEFG2 and hEFG1, phylogenetically conserved through evolution." *Human genetics* 109.5 (2001): 542-550.
77. Koripella, Ravi K., et al. "Structural insights into unique features of the human mitochondrial ribosome recycling." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 116.17 (2019): 8283-8288.
78. Κράιτσεκ, Σπυριδούλα. *Γενετική Ποικιλότητα και Φυλογενετικές Σχέσεις «Λιμναίων» και θαλάσσιων πληθυσμών της *Atherina boyeri**. Diss, University of Patras; Πανεπιστήμιο Πατρών, (2006), Σελ:23

79. Kakkar, Poonam, and B. K. Singh. "Mitochondria: a hub of redox activities and cellular distress control." *Molecular and cellular biochemistry* 305.1-2 (2007): 235-253.
80. Dawid, Igor B., and Antonie W. Blackler. "Maternal and cytoplasmic inheritance of mitochondrial DNA in *Xenopus*." *Developmental biology* 29.2 (1972): 152-161.
81. Βλαχοπούλου, Ευλαλία. *Διέγερση ποσοτικών και ποιοτικών παραμέτρων των σπερματοζωαρίων με φαρμακολογικούς παράγοντες in vivo και in vitro*. Diss. Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων. Σχολή Επιστημών Υγείας. Τμήμα Ιατρικής. Τομέας Χειρουργικός. Κλινική Ουρολογική, 2013:Σελ 34,60
82. Bender, Klaus, Peter M. Schneider, and Christian Rittner. "Application of mtDNA sequence analysis in forensic casework for the identification of human remains." *Forensic science international* 113.1-3 (2000): 103-107.
83. Luo, Shiyu, et al. "Biparental inheritance of mitochondrial DNA in humans." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 115.51 (2018): 13039-13044.
84. Aparicio, I. M., et al. "Autophagy-related proteins are functionally active in human spermatozoa and may be involved in the regulation of cell survival and motility." *Scientific reports* 6.1 (2016): 1-19.
85. Schwartz, Marianne, and John Vissing. "Paternal inheritance of mitochondrial DNA." *New England Journal of Medicine* 347.8 (2002): 576-580.
86. Σαριδάκη, Άρτεμις. *Μελέτη μεταλλάξεων μιτοχονδριακών γονιδίων σε ασθενείς με διαβήτη*. MS thesis. 2012:Σελ 13,14
87. Prigione, Alessandro, et al. "Human induced pluripotent stem cells harbor homoplasmic and heteroplasmic mitochondrial DNA mutations while maintaining human embryonic stem cell-like metabolic reprogramming." *Stem cells* 29.9 (2011): 1338-1348.
88. Szczepanowska, Joanna, et al. "Effect of mtDNA point mutations on cellular bioenergetics." *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics* 1817.10 (2012): 1740-1746.
89. Carelli, Valerio, and Chiara La Morgia. "Clinical syndromes associated with mtDNA mutations: where we stand after 30 years." *Essays in biochemistry* 62.3 (2018): 235-254.

90. Li, Huanzheng, et al. "Mitochondrial DNA variants and common diseases: a mathematical model for the diversity of age-related mtDNA mutations." *Cells* 8.6 (2019): 608.
91. McInnes, Robert L. Nussbaum Roderick R., and Huntington F. Willard. "Thompson & Thompson Ιατρική Γενετική." *Εκδόσεις ΠΧ Πασχαλίδης* 7.Κύπρος (2011): Σελ. 450,453
92. Alston, Charlotte L., et al. "The genetics and pathology of mitochondrial disease." *The Journal of pathology* 241.2 (2017): 236-250.
93. Taylor, Robert W., and Doug M. Turnbull. "Mitochondrial DNA mutations in human disease." *Nature Reviews Genetics* 6.5 (2005): 389-402.
94. Bratic, Ana, and Nils-Göran Larsson. "The role of mitochondria in aging." *The Journal of clinical investigation* 123.3 (2013): 951-957.
95. MJ, Molnar, and Kovacs GG. "Mitochondrial diseases." (2018).
96. Wong, Lee-Jun C., et al. "Interpretation of mitochondrial tRNA variants." *Genetics in Medicine* 22.5 (2020): 917-926.
97. Yarham, John W., et al. "Mitochondrial tRNA mutations and disease." *Wiley Interdisciplinary Reviews: RNA* 1.2 (2010): 304-324.
98. Zifa, Emily, et al. "Mitochondrial tRNA mutations: clinical and functional perturbations." *RNA biology* 4.1 (2007): 38-66.
99. Ng, Yi Shiau, and Doug M. Turnbull. "Mitochondrial disease: genetics and management." *Journal of neurology* 263.1 (2016): 179-191.
100. Babayev, Elnur, and Emre Seli. "Oocyte mitochondrial function and reproduction." *Current opinion in obstetrics & gynecology* 27.3 (2015): 175.
101. Garone, Caterina, et al. "The mitochondrial DNA genetic bottleneck: inheritance and beyond." *Essays in Biochemistry* 62.3 (2018): 225-234.
102. Wilson, Ian J., et al. "Mitochondrial DNA sequence characteristics modulate the size of the genetic bottleneck." *Human molecular genetics* 25.5 (2016): 1031-1041.
103. Rebolledo-Jaramillo, Boris, et al. "Maternal age effect and severe germ-line bottleneck in the inheritance of human mitochondrial DNA." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 111.43 (2014): 15474-15479.
104. <https://www.umdf.org/what-is-mitochondrial-disease/>
105. Schapira, Anthony HV. "Mitochondrial disease." *The Lancet* 368.9529 (2006): 70-82.

106. Davis, Ryan L., Christina Liang, and Carolyn M. Sue. "Mitochondrial diseases." *Handbook of clinical neurology*. Vol. 147. Elsevier, 2018. 125-141.
107. Uusimaa, J., et al. "Reversible infantile respiratory chain deficiency is a unique, genetically heterogenous mitochondrial disease." *Journal of medical genetics* 48.10 (2011): 660-668.
108. Isohanni, Pirjo, et al. "Defective mitochondrial ATPase due to rare mtDNA m. 8969G> A mutation—causing lactic acidosis, intellectual disability, and poor growth." *neurogenetics* 19.1 (2018): 49-53.
109. Gorman, Gráinne S., et al. "Mitochondrial diseases." *Nature reviews Disease primers* 2.1 (2016): 1-22.
110. El-Hattab, Ayman W., et al. "MELAS syndrome: Clinical manifestations, pathogenesis, and treatment options." *Molecular genetics and metabolism* 116.1-2 (2015): 4-12.
111. Farruggia, Piero, Floriana Di Marco, and Carlo Dufour. "Pearson syndrome." *Expert review of hematology* 11.3 (2018): 239-246.
112. Schon, Eric A., Salvatore DiMauro, and Michio Hirano. "Human mitochondrial DNA: roles of inherited and somatic mutations." *Nature Reviews Genetics* 13.12 (2012): 878-890.
113. Santa, Kristin M. "Treatment options for mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis, and stroke-like episodes (MELAS) syndrome." *Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy* 30.11 (2010): 1179-1196.
114. Kuwajima, Mari, et al. "MELAS syndrome with m. 4450 G> A mutation in mitochondrial tRNAMet gene." *Brain and Development* 41.5 (2019): 465-469.
115. Scaglia, Fernando, and Jennifer L. Northrop. "The mitochondrial myopathy encephalopathy, lactic acidosis with stroke-like episodes (MELAS) syndrome." *CNS drugs* 20.6 (2006): 443-464.
116. Petruzzella, V., et al. "Cerebellar ataxia as atypical manifestation of the 3243A> G MELAS mutation." *Clinical genetics* 65.1 (2004): 64-65.
117. Kraya, Torsten, et al. "Cognitive impairment, clinical severity and MRI changes in MELAS syndrome." *Mitochondrion* 44 (2019): 53-57.
118. Malfatti, Edoardo, et al. "High risk of severe cardiac adverse events in patients with mitochondrial m. 3243A> G mutation." *Neurology* 80.1 (2013): 100-105.
119. Al-Gadi, Iman S., et al. "Endocrine disorders in primary mitochondrial disease." *Journal of the Endocrine Society* 2.4 (2018): 361-373.

120. Lorenzoni, Paulo José, et al. "When should MELAS (Mitochondrial myopathy, Encephalopathy, Lactic Acidosis, and Stroke-like episodes) be the diagnosis?." *Arquivos de neuro-psiquiatria* 73.11 (2015): 959-967.
121. Shanske, Sara, et al. "Varying loads of the mitochondrial DNA A3243G mutation in different tissues: implications for diagnosis." *American Journal of Medical Genetics Part A* 130.2 (2004): 134-137.
122. Kaufmann, Petra, et al. "Cerebral lactic acidosis correlates with neurological impairment in MELAS." *Neurology* 62.8 (2004): 1297-1302.
123. Yatsuga, Shuichi, et al. "MELAS: a nationwide prospective cohort study of 96 patients in Japan." *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects* 1820.5 (2012): 619-624.
124. Koga, Y. M. D. P., et al. "L-arginine improves the symptoms of strokelike episodes in MELAS." *Neurology* 64.4 (2005): 710-712.
125. Michelangelo M., Klopstock T., P:Diagnosis and Management of Mitochondrial Disorders, Εκδόσεις:Springers, Ελβετία(2019):Σελ:95,103-105, 108
126. Arruda, Walter O., et al. "Mitochondrial myopathy and myoclonic epilepsy." *Arquivos de neuro-psiquiatria* 48.1 (1990): 32-43.
127. Shoffner, John M., et al. "Myoclonic epilepsy and ragged-red fiber disease (MERRF) is associated with a mitochondrial DNA tRNA^{Lys} mutation." *Cell* 61.6 (1990): 931-937.
128. Yu-Wai-Man, Patrick, Philip G. Griffiths, and Patrick F. Chinnery. "Mitochondrial optic neuropathies—disease mechanisms and therapeutic strategies." *Progress in retinal and eye research* 30.2 (2011): 81-114.
129. Finsterer, Josef, Sinda Zarrouk-Mahjoub, and John M. Shoffner. "MERRF classification: implications for diagnosis and clinical trials." *Pediatric neurology* 80 (2018): 8-23.
130. Silvestri, G., et al. "Clinical features associated with the A→G transition at nucleotide 8344 of mtDNA ("MERRF mutation")." *Neurology* 43.6 (1993): 1200-1200.
131. Finsterer, Josef. "Pharmacotherapeutic management of epilepsy in MERRF syndrome." *Expert opinion on pharmacotherapy* 20.10 (2019): 1289-1297.
132. Kojovic, Maja, Carla Cordivari, and Kailash Bhatia. "Myoclonic disorders: a practical approach for diagnosis and treatment." *Therapeutic advances in neurological disorders* 4.1 (2011): 47-62.

133. Padiath, Quasar Saleem, and Ying-Hui Fu. "Autosomal dominant leukodystrophy caused by lamin B1 duplications: a clinical and molecular case study of altered nuclear function and disease." *Methods in cell biology* 98 (2010): 337-357.
134. Velez-Bartolomei F, Lee C, Enns G. MERRF. 2003 Jun 3 [Updated 2021 Jan 7]. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, et al., editors. GeneReviews® [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2021.
135. Mancuso, Michelangelo, et al. "MERRF syndrome without ragged-red fibers: the need for molecular diagnosis." *Biochemical and biophysical research communications* 354.4 (2007): 1058-1060.
136. Su, Li-Jun, et al. "Antimyoclonic effect of levetiracetam and clonazepam combined treatment on myoclonic epilepsy with ragged-red fiber syndrome with m. 8344A> G mutation." *Chinese medical journal* 131.20 (2018): 2433.
137. Taivassalo, Tanja, and Ronald G. Haller. "Implications of exercise training in mtDNA defects—use it or lose it?." *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics* 1659.2-3 (2004): 221-231.
138. Karaarslan, Cuneyt. "Leber's Hereditary Optic Neuropathy as a Promising Disease for Gene Therapy Development." *Advances in therapy* 36.12 (2019): 3299-3307.
139. Kim, Ungsoo Samuel, Neringa Jurkute, and Patrick Yu-Wai-Man. "Leber Hereditary Optic Neuropathy—Light at the End of the Tunnel?." *The Asia-Pacific Journal of Ophthalmology* 7.4 (2018): 242-245.
140. Bakaeva, Tatiana, Robert Mallery, and Sashank Prasad. "Emerging Treatments for Leber's Hereditary Optic Neuropathy and Other Genetic Causes of Visual Loss." *Seminars in neurology*. Vol. 39. No. 06. Thieme Medical Publishers, 2019.
141. Chinnery, Patrick Francis, and Gavin Hudson. "Mitochondrial genetics." *British medical bulletin* 106.1 (2013): 135-159.
142. Wallace, Douglas C., and Marie T. Lott. "Leber hereditary optic neuropathy: exemplar of an mtDNA disease." *Pharmacology of Mitochondria* (2017): 339-376.
143. Carelli V., La Morgia C., Klopstock T. "Mitochondrial Optic Neuropathies. Diagnosis and Management of Mitochondrial Disorders." (2019):125-139
144. Chun, Bo Young, and Joseph F. Rizzo III. "Dominant optic atrophy and Leber's hereditary optic neuropathy: update on clinical features and current therapeutic approaches." *Seminars in pediatric neurology*. Vol. 24. No. 2. WB Saunders, 2017.
145. Zhang, Yong, et al. "The progress of gene therapy for Leber's optic hereditary neuropathy." *Current gene therapy* 17.4 (2017): 320-326.

146. Zuccarelli, Marta, et al. "Treatment of Leber's hereditary optic neuropathy: An overview of recent developments." *European Journal of Ophthalmology* 30.6 (2020): 1220-1227.
147. KEARNS, THOMAS P., and GEORGE P. SAYRE. "Retinitis pigmentosa, external ophthalmoplegia, and complete heart block: unusual syndrome with histologic study in one of two cases." *AMA archives of ophthalmology* 60.2 (1958): 280-289.
148. Lee, Sang-Jun, et al. "Ophthalmoplegia in mitochondrial disease." *Yonsei medical journal* 59.10 (2018): 1190.
149. Lv, Zhan-Yun, et al. "Mitochondrial mutations in 12S rRNA and 16S rRNA presenting as chronic progressive external ophthalmoplegia (CPEO) plus: A case report." *Medicine* 96.48 (2017).
150. RESKE-NIELSEN, E. D. I. T. H., HANS C. LOU, and MARTIN LOWES. "PROGRESSIVE EXTERNAL OPHTHALMOPLEGIA: Evidence for a Generalised Mitochondrial Disease with a Defect in Pyruvate Metabolism." *Acta ophthalmologica* 54.5 (1976): 553-573.
151. McClelland, Collin, Georgios Manousakis, and Michael S. Lee. "Progressive external ophthalmoplegia." *Current neurology and neuroscience reports* 16.6 (2016): 53.
152. Heighton, Julia N., et al. "Genotypes of chronic progressive external ophthalmoplegia in a large adult-onset cohort." *Mitochondrion* 49 (2019): 227-231.
153. Goldstein, Amy, and Marni J. Falk. "Mitochondrial DNA deletion syndromes." (2019).
154. Washington University School of Medicine. Neuromuscular Disease Center Website. Διαθέσιμο στο: <http://neuromuscular.wustl.edu/>.
155. Kasahara, Takaoki, and Tadafumi Kato. "What can mitochondrial DNA analysis tell us about mood disorders?." *Biological psychiatry* 83.9 (2018): 731-738.
156. Tarnopolsky, Mark A., et al. "CPEO-Like mitochondrial myopathy associated with m. 8340G> A mutation." *Mitochondrion* 46 (2019): 69-72.
157. Wabbels, B., et al. "Chronisch-progressive externe Ophthalmoplegie und Kearns-Sayre-Syndrom." *Der Ophthalmologe* 105.6 (2008): 550-556.
158. Taylor, Robert W., et al. "The diagnosis of mitochondrial muscle disease." *Neuromuscular Disorders* 14.4 (2004): 237-245.
159. Angelini, Corrado, et al. "Mitochondrial disorders of the nuclear genome." *Acta Myologica* 28.1 (2009): 16.

160. [FoswikiMITOMAP WebNuclearGenesStructural](#) (17 Jan 2018, [MarieLott](#))
161. Karaa, Amel, and Amy Goldstein. "The spectrum of clinical presentation, diagnosis, and management of mitochondrial forms of diabetes." *Pediatric diabetes* 16.1 (2015): 1-9.
162. Zádori, Dénes, et al. "Alzheimer's disease: recent concepts on the relation of mitochondrial disturbances, excitotoxicity, neuroinflammation, and kynurenines." *Journal of Alzheimer's Disease* 62.2 (2018): 523-547.
163. Rongvaux, Anthony. "Innate immunity and tolerance toward mitochondria." *Mitochondrion* 41 (2018): 14-20.
164. Shenoy, Santosh. "Coronavirus (Covid-19) sepsis: revisiting mitochondrial dysfunction in pathogenesis, aging, inflammation, and mortality." *Inflammation Research* (2020): 1-9.
165. Tobore, Tobore Onojighofia. "On the central role of mitochondria dysfunction and oxidative stress in Alzheimer's disease." *Neurological Sciences* 40.8 (2019): 1527-1540.
166. Macdonald, Ruby, et al. "Mitochondrial abnormalities in Parkinson's disease and Alzheimer's disease: can mitochondria be targeted therapeutically?." *Biochemical Society Transactions* 46.4 (2018): 891-909.
167. Raza, Chand, and Rabia Anjum. "Parkinson's disease: Mechanisms, translational models and management strategies." *Life sciences* 226 (2019): 77-90.
168. Tassin, S., et al. "Histochemical and ultrastructural analysis of the mitochondrial changes in a familial mitochondrial myopathy." *Neuropathology and applied neurobiology* 6.5 (1980): 337-347.

