

# Mitochondrijske miopatije

---

Sredanović, Mašan

Master's thesis / Diplomski rad

2023

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:105:920526>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-08-14**



Repository / Repozitorij:

[Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
MEDICINSKI FAKULTET**

**Mašan Sredanović**

# **Mitohondrijske miopatije**

**DIPLOMSKI RAD**



**Zagreb, 2023.**

Ovaj diplomski rad izrađen je u Kliničkom bolničkom centru „Zagreb“, Klinici za neurologiju, Zavodu za neuromuskularne bolesti pod vodstvom prof.dr.sc. Ervine Bilić, prim.dr.med. i predan je na ocjenu u akademskoj godini 2022./2023.

## **Popis kratica:**

**ADP** – Adenozin difosfat

**AHS** – Aplers-Huttenlocher sindrom

**AMPK** – engl. 5'-adenosine monophosphate-activated protein kinase

**ANS** – Ataksija neuropatija spektar

**ATP** – Adenozin trifosfat

**CACT** – engl. Carnitine acylcarnitine translocase

**CADASIL** – Cerebralna autosomno dominantna arteriopatija sa subkortikalnim infarktima i leukoencefalopatijom

**CoA** – engl. Coenzyme A

**CoQ10** – engl. Coenzyme Q10

**CPEO** – engl. Chronic progressive external opthalmoplegia

**CPT-I** – engl. Carnitine palmytoiltransferase I

**CPT-II** – engl. Carnitine palmytoiltransferase II

**CRISPR** – engl. Clustered regularly interspaced palindromic repeat

**CSL** – Cerebrospinalni likvor

**DCA** – engl. Dichloroacetate

**DNA** – Deoksiribonukleinska kiselina

**EEG** – Elektroencefalografija

**EKG** – Elektrokardiografija

**EMA** – engl. European medicines agency

**EMNG**- Elektromioneurografija

**FADH<sub>2</sub>** – Flavin adenine dinucleotide

**FDA** – engl. Food and drug administration

**FGF21** – engl. Fibroblast growth factor 21

**GDF-15** – engl. Growth/Differentiation factor-15

**Hsp** – engl. Heat shock protein

**KSS** – engl. Kearns Sayre syndrome

**LHON** – Leberova hereditarna optička neuropatija

**MADD** – engl. Multiple acyl CoA dehidrogenase deficiency

**MDDS** – engl. Mitochondrial DNA depletion syndrome

**MELAS** – engl. Mitochondrial encephalomyopathy, lactic acidosis and stroke-like episodes

**MEMSA** – Mioklona epilepsija, miopatija, senzorna ataksija

**MERRF** – engl. Mioclonic epilepsy with ragged red fibers

**MG** – Miastenija gravis

**MIDD** – engl. Maternally inherited diabetes and deafness

**MNGIE** – Mitohondrijska neurogastrointestinalna encefalopatija

**MPP** – engl. Mitochondrial processing peptidase

**mtDNA** – Mitohondrijska deoksiribonukleinska kiselina

**MT-TL 1** – engl. Mitochondrially encoded tRNA-Leu 1

**NAC** – N-acetilcistein

**NAD(P)H** – engl. Nicotinamide adenine dinucleotide (phosphate)

**NARP** – Neuropatija, ataksija, pigmentni retinitis

**nDNA** – Nuklearna deoksiribonukleinska kiselina

**PB** – Parovi baza

**PCr** – engl. Creatine phosphate

**PEO** – Progresivna eksterna oftalmoplegija

**PGC-1 $\alpha$**  – engl. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha

**Pi** – engl. Inorganic phosphate

**PPAR $\delta$**  – Peroksisomski proliferatorom aktivirani receptor  $\delta$

**RNA** – Ribonukleinska kiselina

**SCAE** – Spinocerebelarna ataksija s epilepsijom

**SŽS** – Središnji živčani sustav

**SIRT1** – Sirtuin 1

**Tim-kompleks** – engl. Translocase of the inner membrane

**Tom-kompleks** – engl. Translocase of the outer membrane

**WES** – engl. Whole exome sequencing

**WGS** – engl. Whole genome sequencing

## Sadržaj

### SAŽETAK

### SUMMARY

<b>1. UVOD</b> .....	1
1.1. Mitochondriji.....	1
1.1.1. Evolucijsko podrijetlo.....	2
1.1.2. Građa.....	2
1.1.2.1. Genetički sustav.....	2
1.1.2.2. Membranski sustav.....	4
1.1.3. Metabolizam mitohondrija.....	5
1.1.3.1. Beta-oksidacija masnih kiselina.....	5
1.1.3.2. Ciklus limunske kiseline.....	6
1.1.3.3. Oksidativna fosforilacija.....	6
1.2. Mitochondriopatije.....	7
1.2.1. Etiologija.....	8
1.2.2. Klinička prezentacija.....	8
1.2.3. Sindromi mitohondrijskih bolesti.....	10
1.2.4. Dijagnostika.....	13
1.2.5. Liječenje i prevencija.....	14
<b>2. MITOHONDRIJSKE MIOPATIJE</b> .....	15
2.1. Epidemiologija .....	15
2.2. Klinička slika.....	16
2.3. Najčešći fenotipski sindromi.....	18
2.3.1. Sindromi s početkom u dječjoj dobi.....	18

2.3.2. Sindromi s početkom u odrasloj dobi.....	20
2.4. Dijagnostička obrada.....	24
2.4.1. Diferencijalna dijagnoza.....	24
2.4.2. Osnovni principi.....	26
2.4.3. Neinvazivne pretrage.....	28
2.4.4. Invazivne pretrage.....	30
2.5. Mogućnosti liječenja.....	32
2.5.1. Tjelesna aktivnost.....	32
2.5.2. Ketogena dijeta.....	33
2.5.3. Nespecifično liječenje.....	34
2.5.4. Specifično liječenje.....	36
2.5.5. Genska terapija.....	37
2.5.6. Pretkliničke i kliničke studije.....	38
<b>3. ZAKLJUČAK.....</b>	<b>40</b>
<b>4. ZAHVALE.....</b>	<b>41</b>
<b>5. LITERATURA.....</b>	<b>42</b>
<b>6. ŽIVOTOPIS.....</b>	<b>48</b>



## **Sažetak**

### **Mitohondrijske miopatije**

**Autor: Mašan Sredanović**

Mitohondrijske miopatije skupina su rijetkih poremećaja uzrokovanih mutacijama u mtDNA ili nDNA, te se ovisno o tome nasljeđuju maternalno ili rjeđe, prema Mendelovim zakonima. Budući da su mitohondriji glavni izvor energije u stanici, njihova disfunkcija tipično se prezentira na tkivima koja imaju velike energetske potrebe, poput živčanog sustava, skeletnog mišićja i srca. Broj zahvaćenih organskih sustava i stupanj oštećenja vrlo su varijabilni te mogu imitirati širok spektar drugih bolesti, no u pravilu se pacijenti prezentiraju skupinom simptoma koja odgovara određenom sindromu. Najčešći fenotipski sindromi koji se viđaju u kliničkoj praksi su MELAS i LHON. Dijagnostička obrada mitohondrijskih miopatija uključuje anamnezu s naglaskom na obiteljsku povijest bolesti, fizikalni pregled, laboratorijske pretrage te multisustavnu procjenu kako bi se utvrdila potencijalna oštećenja pojedinih organa. Definitivna dijagnoza postavlja se na temelju biopsije mišića i molekularnog genetskog testiranja. Terapijski pristup mitohondrijskim poremećajima primarno je simptomatski, što uključuje podvrgavanje specifičnom dijetnom režimu, tjelesnu aktivnost, uzimanje vitamina i antioksidansa te izbjegavanje lijekova koji oštećuju mitohondrijski metabolizam. Osim liječenja, bitna je uloga prevencije koja podrazumijeva genetsko savjetovanje, odnosno prepoznavanje obitelji s poviješću mitohondriopatija i savjetovanje o mogućnostima vezanim uz začeće. Trenutno su u tijeku brojna istraživanja na različitim molekulama koje se potencijalno mogu koristiti u liječenju mitohondrijskih bolesti, stoga je za očekivati značajan napredak u zbrinjavanju ovih pacijenata.

**Ključne riječi:** mitohondriji, miopatija, MELAS

## **Summary**

### **Mitochondrial myopathies**

**Author: Mašan Sredanović**

Mitochondrial myopathies are a group of rare disorders caused by mutations in mtDNA or nDNA and are inherited maternally or, less commonly, following Mendelian inheritance patterns. Since mitochondria are the main source of energy in the cell, their dysfunction typically presents in tissues with high energy demands, such as the nervous system, skeletal muscles, and heart. The number of affected organ systems and the degree of damage can vary widely and can mimic a broad range of other diseases, but patients generally present with a group of symptoms corresponding to a specific syndrome. The most common phenotypic syndromes seen in clinical practice are MELAS and LHON. The diagnostic workup of mitochondrial myopathies includes a medical history focusing on the family history of the disease, physical examination, laboratory tests, and a multisystem assessment to determine potential damage to individual organs. The definitive diagnosis is based on muscle biopsy and molecular genetic testing. The therapeutic approach to mitochondrial disorders is primarily symptomatic, involving adherence to a specific dietary regimen, physical activity, intake of vitamins and antioxidants, and avoidance of medications that impair mitochondrial metabolism. In addition to treatment, prevention plays a crucial role, which encompasses genetic counseling. This involves identifying families with a history of mitochondrial pathologies and providing guidance on reproductive options. Numerous studies are currently underway on different molecules that potentially can be used in the treatment of mitochondrial disease, therefore significant progress in the management of these patients can be expected.

**Key words:** mitochondria, myopathy, MELAS

## 1. Uvod

### 1.1. Mitochondriji

Mitochondriji su stanične organele koje imaju ključnu ulogu u stvaranju energije u eukariotskoj stanici. Odgovorni su za niz metaboličkih zbivanja u kojima se oslobođena energija pohranjuje u obliku ATP-a procesom oksidativne fosforilacije. Dio stvorene energije oslobađa se u obliku topline, što je nužno za regulaciju tjelesne temperature (1).

Dinamičnost funkcioniranja mitohondrija očituje se mogućnošću spajanja (fuzije), dijeljenja (fisije), stvaranja novih mitohondrija procesom biogeneze ili stvaranja mitohondrijske mreže s endoplazmatskom mrežicom. Fuzijom se spajaju dva mitohondrija. To je proces koji nastupa pri povećanju energetske potrebe stanice ili kada nastanu oštećenja lipida, proteina ili nukleinskih kiselina. U mitohondrijskim bolestima, stapanjem mitohondrija koji ima oštećenu mtDNA sa zdravim mitohondrijem, oštećenje će se kompenzirati te se time održati cjelokupna funkcija mitohondrijske mreže sve dok je količina mutirane mtDNA manja od 80-90% po stanici. Fisijom se mitohondriji dijele neposredno prije stanične diobe. Ona također ima bitnu ulogu i u održavanju funkcionalnih mitohondrija, a odbacivanju oštećenih. To se postiže na način da se oštećenja mitohondrija mogu odijeliti na jedan pol čime nastaje polarizirani mitohondrij. Tada dijeljenjem nastaje s jedne strane zdrav, a s druge strane oštećen mitohondrij koji se dalje usmjerava u autofagiju razgradnju. Procesom biogeneze stvaraju se novi mitohondriji koji su potrebni stanici pri povećanju energetske potrebe ili se mogu nadomjestiti oni koji su oštećeni ili razgrađeni autofagijom.

Mitochondriji su, uz energetski metabolizam, sastavni dio programirane stanične smrti, tj. apoptoze. Endogeni ili egzogeni proapoptogeni čimbenici koji djeluju na stanicu pokreću niz kaskadnih reakcija od kojih je središnja permeabilitetna tranzicija mitohondrija. Ona podrazumijeva formiranje membranskih pora, što rezultira otpuštanjem citokroma c i kalcija te gubitkom elektrokemijskog gradijenta. Rezultat

ovih zbivanja prelazak je točke bez povratka, tj. aktivacija izvršnih enzima u procesu apoptoze – kaspaza (2).

### **1.1.1. Evolucijsko podrijetlo**

Stjecanje pojedinih staničnih organela koje funkcioniraju kao zasebne jedinice bio je osnovni korak u razvoju složenih eukariotskih stanica kakve danas poznajemo. Pretpostavlja se da su organele nastale procesom endosimbioze, tj. iz prokariotskih stanica koje su nekada uspostavljale suživot s eukariotskim pretkom. Tako je suživot s aerobnim prokariotom omogućio anaerobnoj stanici provođenje oksidativnog metabolizma. Teoriji endosimbioze najviše u prilog govori činjenica da mitohondriji slične bakterijama veličinom, umnožavanjem diobom i posjedovanjem vlastite cirkularne mtDNA. Također, mitohondrijski ribosomi i ribosomska RNA srodniji su prokariotskim, nego onima koji su kodirani genomom eukariota (1).

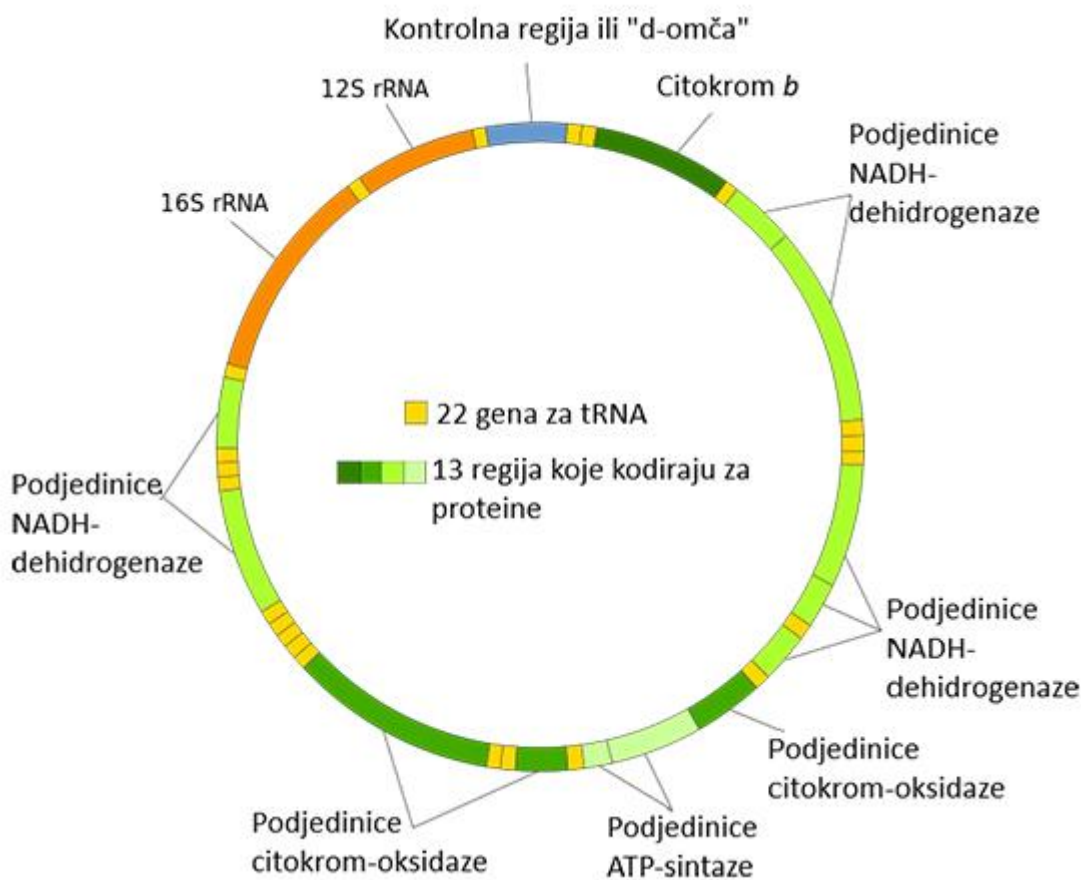
Ovakvu simbiozu između prokariota i eukariota susrećemo i danas u životnom ciklusu bakterije *Rickettsiae prowazekii*. Ovaj obligatni intracelularni parazit može se umnažati isključivo unutar eukariotske stanice, budući da unutar vlastita genoma ne sadrži gene potrebne za diobu. Komparativnim filogenetskim istraživanjima između proteina i DNA mitohondrija i *Rickettsiae prowazekii* potkrijepljena je hipoteza da mitohondriji potječu od alfa-proteobakterija reda *Rickettsiales* (3).

### **1.1.2. Građa**

#### **1.1.2.1. Genetički sustav**

Mitohondrijska DNA (mtDNA) dvolančana je cirkularna molekula veličine 16569 pb (parova baza) te je prisutna u nekoliko stotina kopija, ovisno o stanici. Sadržava 13 gena koji kodiraju proteine uključene u transportni lanac elektrona i proces oksidativne fosforilacije te 22 vrste tRNA, 12S i 16S rRNA (slika 1.). Usprkos

postojanju vlastitog genoma, za funkciju mitochondrija većim je dijelom zaslužna jezgra. Ovo potvrđuje činjenica da nuklearna DNA kodira većinu mitohondrijskih proteina (njih oko 99%), što uključuje strukturne i transportne proteine, enzime uključene u ciklus limunske kiseline i beta-oksidaciju masnih kiselina, proteine respiratornog lanca, te proteine potrebne za replikaciju DNA, transkripciju i translaciju (1).



**Slika 1.** Mitohondrijska DNA čovjeka (preuzeto od <https://www.genetika.biol.pmf.hr/docs/sadrzaj/17-poglavlje/genom-mitohondrija/>)

Poput jezgrine DNA, i mtDNA podložna je različitim stečenim mutacijama. Izmjene u slijedu nukleotida poglavito nastaju djelovanjem slobodnih kisikovih radikala kojih više nastaje u mitochondriju u odnosu na jezgru zbog oksidativnog metabolizma, te uzrokuju veća oštećenja, budući da mitochondriji ne posjeduju sustav koji popravlja

oštećenu mtDNA. Na nastanak slobodnih kisikovih radikala otpada oko 2-4% kisika koji se iskoristi u procesu oksidativne fosforilacije. Stvaranje radikala povećava se kad postoji poremećaj u funkciji proteina oksidativne fosforilacije uzrokovan oštećenjima mtDNA ili djelovanjem otrova. Iz navedenog vidi se mogućnost zatvaranja patogenetskog začaranog kruga (circulus vitiosus), tj. oštećenja mtDNA povećavaju stvaranje kisikovih radikala, a oni dodatno oštećuju mtDNA. Osim stečenih, postoje i nasljedna oštećenja mtDNA koja uzrokuju mitohondrijske bolesti. Njihova karakteristika je da se ne nasljeđuju po Mendelovim zakonima, već mutaciju nasljeđuju svi potomci po majčinoj liniji, budući da praktično svi mitohondriji oplodene jajne stanice potječu od oocite (2).

#### **1.1.2.2. Membranski sustav**

Mitohondrijski membranski sustav pod elektronskim mikroskopom pokazuje karakterističnu građu. Sastoji se od unutrašnje i vanjske membrane koje zatvaraju međumembranski prostor, dok unutrašnja membrana još omeđuje matriks mitohondrija. Unutrašnja membrana nabrana je u grebene ili kriste čime povećava površinu na kojoj se odvija transport elektrona i proces oksidativne fosforilacije. Broj grebena proporcionalan je metaboličkoj aktivnosti stanice u kojoj se mitohondrij nalazi, primjerice skeletne mišićne stanice imaju veći broj mitohondrija, ali i grebena u odnosu na hepatocite (4). Vanjska membrana sadržava proteine nazvane porini koji omogućavaju slobodnu difuziju molekula manjih od 1000 Da, za razliku od unutrašnje membrane koja je relativno nepropusna za većinu iona i molekula, što je osnova stvaranja elektrokemijskog gradijenta u oksidativnoj fosforilaciji (1).

Zbog dvostruke strukture membrane mitohondrija, transport proteina i masnih kiselina znatno je složeniji u odnosu na transport kroz fosfolipidni dvosloj stanične membrane.

Prvi korak u prijenosu proteina vezanje je specifičnog N-terminalnog slijeda (presekvencije) citosolnog prekursora na receptor u sklopu Tom-kompleksa (translokaza vanjske membrane, od engl. Translocase of the outer membrane). Kako bi ovo bilo moguće, prekursor mora biti u djelomično odmotanom obliku i prezentiran

translokazi uz pomoć proteina iz porodice šaperona - Hsp70 i Hsp90. Nakon prolaska kroz vanjsku membranu, slijedi vezanje proteina na jednu od dvije različite translokaze unutrašnje membrane, tj. Tim-kompleks (od engl. Translocase of the inner membrane). Završno, proslaskom kroz unutrašnju membranu, mitohondrijska procesuirajuća peptidaza (engl. Mitochondrial processing peptidase, MPP) uklanja presekvenciju i dolazi do ponovnog smatanja polipeptidnog lanca uz pomoć Hsp60 i Hsp70 šaperona. Naravno, samo dio proteina prolazi sve do matriksa mitohondrija, dok se ostali ugrađuju u strukturu membrane ili ostaju u međumembranskom prostoru (5).

Transport dugolančanih masnih kiselina kroz mitohondrijske membrane, tj. njihovih aktiviranih formi u obliku acil-CoA molekula, odvija se karnitinskim sustavom. Ovaj put prijenosa započinje na vanjskoj mitohondrijskoj membrani djelovanjem enzima karnitin-palmitoil transferaze tip I (engl. Carnitine palmytoiltransferase I, CPT-I), koji molekulu acil-CoA vezanjem slobodnog karnitina pretvara u acilkarnitin. Daljnji tijek odvija se djelovanjem karnitin acilkarnitin translokaze (engl. Carnitine acylcarnitine translocase, CACT), koja prenosi acilkarnitin kroz unutrašnju membranu u zamjenu za karnitin. Transport završava ponovnom pretvorbom acilkarnitina u acil-CoA djelovanjem enzima karnitin-palmitoil transferaze II (engl. Carnitine palmytoiltransferase II, CPT-II). Za razliku od dugolančanih, prijenos masnih kiselina kratkog i srednje dugog lanca neovisan je o ovome sustavu (6).

### **1.1.3. Metabolizam mitohondrija**

#### **1.1.3.1. Beta-oksidacija masnih kiselina**

Acil-CoA u procesu beta-oksidacije masnih kiselina prolazi kroz niz reakcija kataliziranih oksidazama masnih kiselina, od kojih su najvažnije acil-CoA-dehidrogenaza, enoil-CoA-dehidrogenaza, 3-hidroksiacil-CoA-dehidrogenaza i tiolaza. Rezultat svakog ciklusa je odcjepljivanje dva ugljika u obliku acetil-CoA, koji potom ulazi u ciklus limunske kiseline čime se postiže "potpuna oksidacija masnih kiselina." Osim acetil-CoA, dolazi do stvaranja po jedne molekule NADH i FADH<sub>2</sub> s

kojih se prenose elektroni u respiracijskom lancu. Navedeno vrijedi za metabolizam zasićenih masnih kiselina, dok je kod nezasićenih dodatno potrebna trans-enoil-CoA-izomeraza za izomerizaciju u trans-konfiguraciju (7).

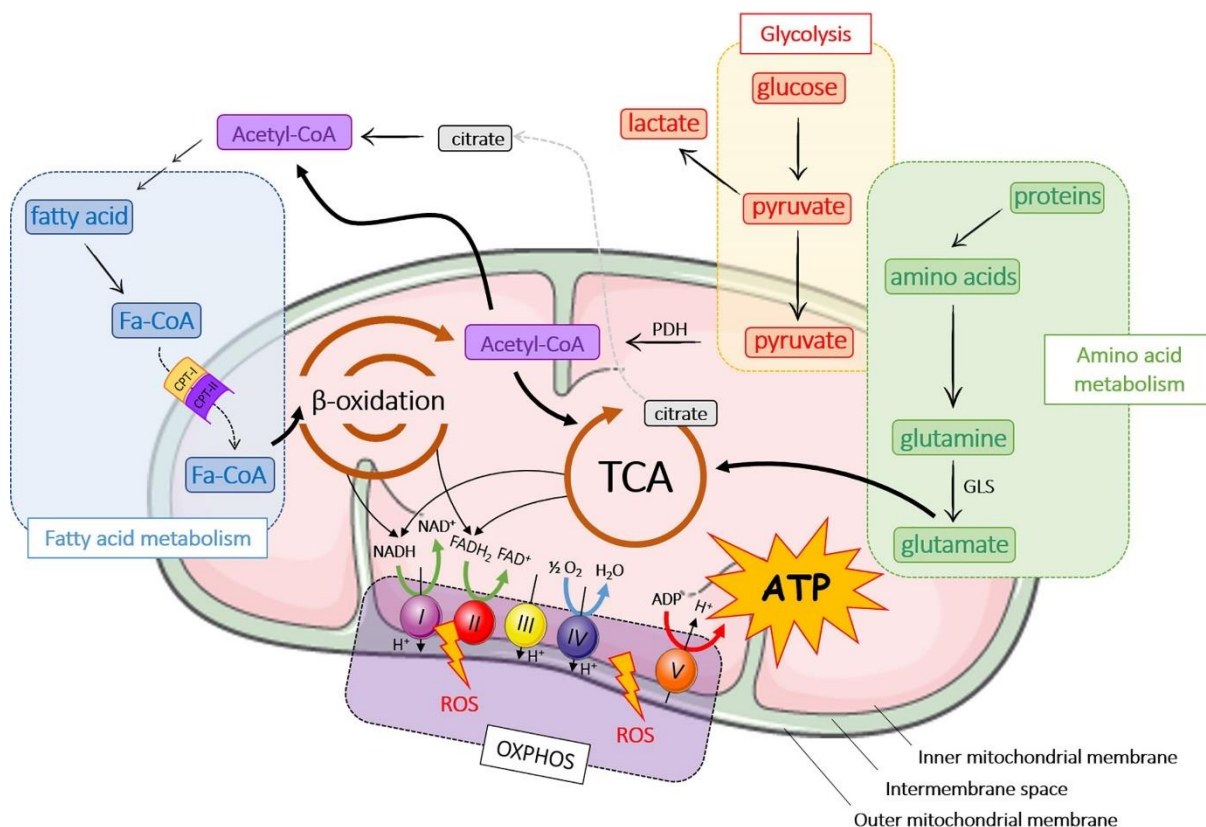
### **1.1.3.2. Ciklus limunske kiseline**

Ciklus limunske kiseline (Krebsov ciklus, ciklus trikarbonskih kiselina) konačni je put metabolizma ugljikohidrata, masti i bjelančevina zbog toga što se ove makromolekule razgrađuju do zajedničkog krajnjeg produkta i polazne molekule ciklusa – acetil-CoA. U prvom koraku acetil-CoA spaja se s oksaloacetatom tvoreći citrat, koji potom ulazi u niz reakcija dehidrogenacije (oksidacije) i dekarboksilacije, reducirajući pritom koenzime. Svakom molekulom acetil-CoA koja prođe kroz ciklus nastaju tri molekule NADH i jedna molekula FADH<sub>2</sub>, uz oslobađanje dvije molekule CO<sub>2</sub>. Reducirani koenzimi potom se oksidiraju u respiracijskom lancu uz stvaranje ATP-a (8).

### **1.1.3.3. Oksidativna fosforilacija**

Većina uporabljive energije dobivene metabolizmom ugljikohidrata i masti nastaje oksidativnom fosforilacijom u mitohondriju. Tijekom ovog procesa dolazi do prijenosa elektrona s NADH i FADH<sub>2</sub> preko sustava nosača koji čine transportni lanac elektrona do kisika s kojim se spajaju. Transportni lanac čine četiri proteinska kompleksa i ATP-sintaza (kompleks V). Transport elektrona kroz komplekse I, III i IV udružen je s prebacivanjem protona kroz unutrašnju membranu čime se oslobođena energija koristi za stvaranje elektrokemijskog gradijenta između matriksa (negativno nabijen) i međumembranskog prostora (pozitivno nabijen). Energija pohranjena u elektrokemijskom gradijentu potom se koristi za sintezu ATP-a iz ADP-a djelovanjem ATP-sintaze (slika 2.). Navedeni mehanizam “kemiosmotskog združivanja” prvi je pretpostavio Peter Mitchell, 1961. godine (9).





**Slika 2.** Shematski prikaz stvaranja energije u mitohondriju (preuzeto od <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2021.623973/full>)

## 1.2. Mitochondriopatije

Mitochondriopatije su heterogena skupina bolesti koje nastaju kao posljedica poremećaja neke od funkcionalnih cjelina mitohondrija. To može biti disfunkcija kompleksa piruvat-dehidrogenaze, beta-oksidacije masnih kiselina, ciklusa limunske kiseline i enzimatskih kompleksa respiratornog lanca. Osim navedenih cjelina, za normalno funkcioniranje mitohondrija potreban je i niz proteina koji sudjeluju u prijenosu metabolita do i kroz mitohondrijsku membranu, održavaju strukturni integritet mitohondrija, služe replikaciji mtDNA itd. Poremećaj bilo koje od ovih sastavnica rezultira smanjenim stvaranjem energije i posljedičnim mogućim razvojem bolesti. Brojnost navedenih komponenata koje su uključene u rad mitohondrija dovodi do logičnog zaključka kako je čitav proces podložan nasljednim

greškama, stoga se mitohondriopatije svrstavaju među najčešće nasljedne metaboličke bolesti s prevalencijom od 1 na 5000 stanovnika (10).

### **1.2.1. Etiologija**

Mitohondriopatije su uzrokovane mutacijama (točkaste, jednostruke ili multiple delecije i mtDNA delecije) mitohondrijskog ili nuklearnog genoma, stoga je od velikog kliničkog značaja poznavanje mitohondrijske i Mendelske genetike, koja je vezana uz nuklearnu DNA. Osnovne razlike su maternalno nasljeđivanje, poliplazmija, heteroplazmija i efekt praga.

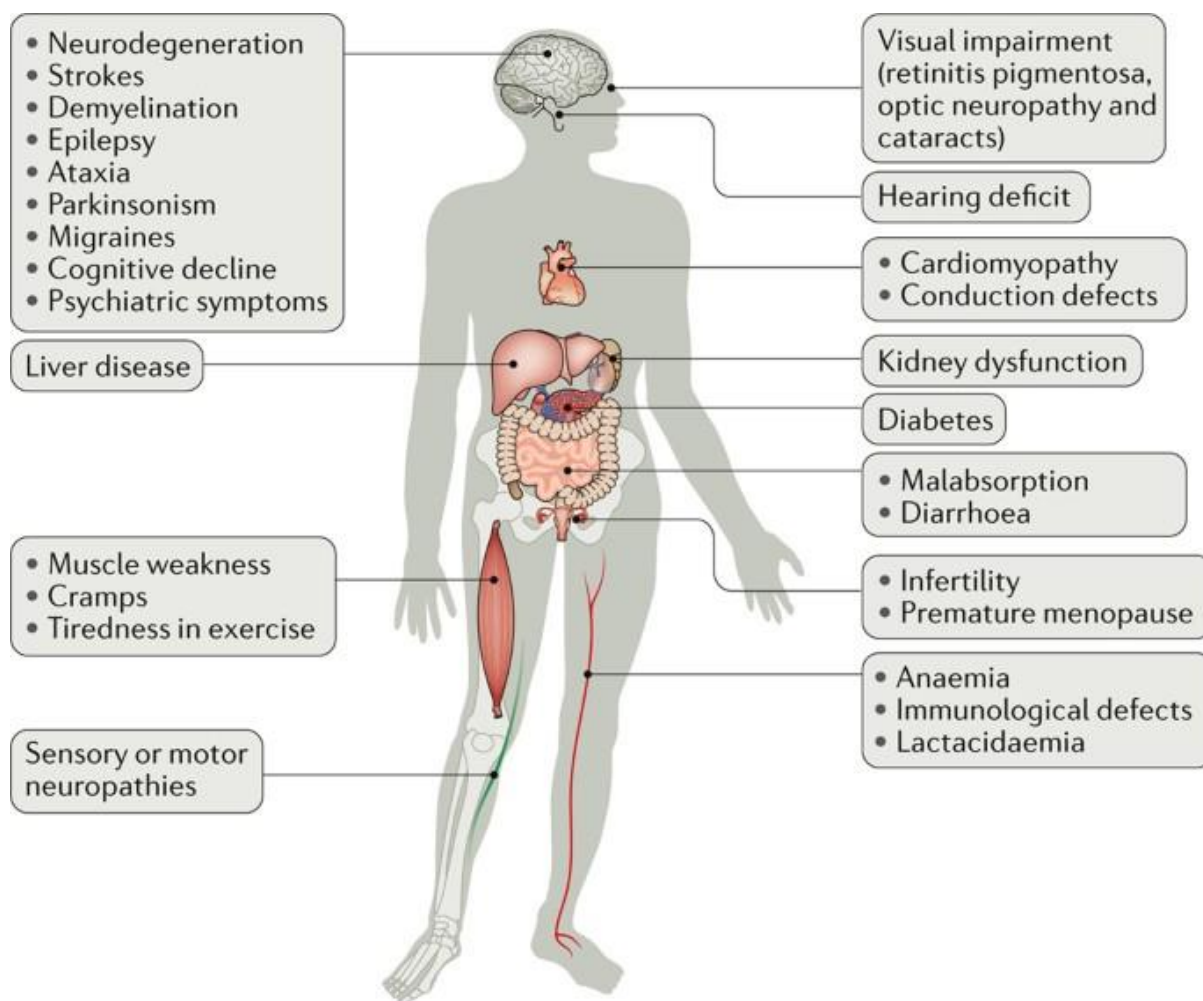
U normalnim okolnostima, genom mitohondrija nasljeđuje se isključivo majčinom linijom. Istraživanja na sisavcima ukazuju da je razlog tome što mitohondriji spermija (njih stotinjak), iako sudjeluju u oplodnji jajne stanice, kasnije budu selektivno eliminirani mitofagijom. Selektivno prepoznavanje mitohondrija očeva podrijetla objašnjava se uniparentalnom ubikvitinizacijom koja nastupa za vrijeme spermatogeneze i koja predodređuje "označene" mitohondrije na razgradnju u proteasomima i lizosomima embrija (11). Dodatna činjenica koja doprinosi objašnjavanju uniparentalnog nasljeđivanja jest jednostavno razrjeđenje, tj. spermij sadrži oko  $10^2$ , dok jajna stanica sadrži oko  $10^5$  mitohondrija u citoplazmi. Poliplazmija označava postojanje nekoliko stotina do tisuća mitohondrija u svakoj stanici, od kojih svaki ima 2-10 kopija mtDNA (12). Stanje kada dio tih genoma sadrži mutaciju (mutirani tip), a dio ne (divlji tip), naziva se heteroplazmija. Kada se kod postojanja heteroplazmije prijeđe određeni kritični broj mutiranih mtDNA, javlja se bolest (efekt praga). Razina heteroplazmije koja se nasljeđuje, a time i težina bolesti, nepredvidiva je i slučajna (13).

### **1.2.2. Klinička prezentacija**

Mitohondrijske bolesti klinički se mogu prezentirati u svakoj životnoj dobi, no u pravilu se teži fenotipovi javljaju u mlađih osoba. Kao primjer može se navesti

sindrom uzrokovan delecijom mtDNA koji se javlja kao spektar; najteži oblik javlja se u dojenčadi (Pearson sy), umjereni oblik u ranom djetinjstvu i adolescenciji (Kearns Sayre sy – KSS), te blagi oblik od kasnog djetinjstva do kasne odrasle dobi (progresivna eksterna oftalmoplegija – PEO) (14).

Mitohondrijske poremećaje karakterizira izrazita varijabilnost kliničke slike, brzine progresije bolesti, te odgovora na terapiju. Potencijalno može biti zahvaćen bilo koji organ u tijelu (slika 3.) te se bolest može prezentirati na samo jednom ili, što je češće, na više njih (primjer izoliranog zahvaćanja je organ oka kod oboljelih od Leberove hereditarne optičke neuropatije – LHON). Budući da su mitohondriji osnovni stanični izvor energije, oštećenja se tipično prezentiraju na tkivima koja imaju veće energetske potrebe. U prvom redu to je živčani sustav (središnji, periferni, autonomni, vidni živac i mrežnica), zatim skeletni mišić i srce, a nešto rjeđe stanice jetre, bubrega i Langerhansovih otočića gušterače. Obzirom na navedeno, kliničar mora posumnjati na mitohondrijsku bolest u slučaju pogoršanja bolesti i multisistemskih manifestacija (encefalopatija, epilepsija, epizode poput moždanog udara, miopatija, oštećenje vida, sensorineuralno oštećenje sluha, kardiomiopatija, gastrointestinalni dismotilitet, dijabetes...), posebice ako su one primarno funkcionalne, a ne strukturne (2, 15).



Nature Reviews | Molecular Cell Biology

**Slika 3.** Kliničke manifestacije mitohondrijskih bolesti (preuzeto od <https://www.nature.com/articles/nrm.2017.66>)

### 1.2.3. Sindromi mitohondrijskih bolesti

Pojedinci oboljeli od mitohondrijske bolesti mogu se prezentirati skupinom simptoma koji odgovaraju određenom sindromu. Neki od češćih, te njihove karakteristike navedeni su u tablici 1. Svrstavanje pacijenata u ove sindrome ograničenog je značaja u kliničkoj medicini, budući da većina oboljelih ne odgovara striktno pojedinom sindromskom profilu (16).

**Tablica 1.** Sindromi mitohondrijskih bolesti. Prilagođeno prema Gorman S et al.

Sindrom	Kliničke karakteristike	Genetika
<i>Nastup simptoma u dječjoj dobi</i>		
Leigh sindrom	Encefalopatija, epizode neurorazvojne regresije, hipotonija, disfagija, epilepsija	mtDNA ili nDNA mutacija
Alpers-Huttenlocher sindrom (AHS)	Epilepsija, psihomotorna regresija, bolest jetre Može imati karakteristike MEMSA-e	nDNA mutacija
Ataksija neuropatija spektar (ANS)	Senzorna neuropatija, cerebelarna ataksija	nDNA mutacija
Mioklona epilepsija, miopatija, senzorna ataksija (MEMSA)	Epilepsija, PEO, disartrija, demencija, spastičnost, miopatija	nDNA mutacija
Pearson sindrom	Sideroblastična anemija, pancitopenija, disfunkcija gušterače i renalna tubulopatija	Veće delecije ili preraspodjele mtDNA
Sengers sindrom	Katarakta, hipertrofična kardiomiopatija, skeletna miopatija, netolerancija tjelesne aktivnosti i laktacidoza	nDNA mutacija
Barth sindrom	Dilatativna kardiomiopatija, skeletna miopatija, zastoj u rastu i neutropenija	nDNA mutacija
Kongenitalna laktacidoza	Progresivna neuromuskularna slabost, nakupljanje laktata u krvi, urinu i SŽS-u	mtDNA ili nDNA mutacija

<b><i>Nastup simptoma u odrasloj dobi</i></b>		
Leberova hereditarna optička neuropatija (LHON)	Bezbolni obostrani gubitak vida Može biti prisutna distonija i WPW- sindrom	mtDNA mutacija
Kearns-Sayre sindrom (KSS)	PEO, ptoza, pigmentna retinopatija, miopatija, dijabetes, gluhoća, demencija, povišeni proteini u likvoru	Veće delecije mtDNA
Mitohondrijska miopatija, encefalopatija, laktacidoza, epizode poput moždanog udara (MELAS)	Epizode poput moždanog udara, encefalopatija, ataksija, konvulzije, miopatija, kardiomiopatija, laktacidoza, gluhoća, dijabetes, pigmentna retinopatija	mtDNA mutacija
Mioklonus, epilepsija, ragged red fibers (MERRF)	Progresivna mioklonalna epilepsija, ataksija, slabost Može biti prisutna laktacidoza, gluhoća, WPW-sindrom, pigmentna retinopatija	mtDNA mutacija
Neuropatija, ataksija, pigmentni retinitis (NARP)	Senzomotorna neuropatija, ataksija, pigmentna retinopatija Može biti prisutna demencija, konvulzije, mišićna slabost, gluhoća	mtDNA mutacija
Kronična progresivna eksterna oftalmoplegija (CPEO) i CPEO plus sindrom	Ptoza, oftalmoplegija, miopatija Može biti pridružen niz drugih kliničkih značajki	mtDNA ili nDNA mutacija

Mitohondrijska neurogastrointestinalna encefalopatija (MNGIE)	Gastrointestinalni dismotilitet, mišićna slabost i atrofija, PEO, neuropatija, retinopatija, gluhoća	nDNA mutacija
Maternalno naslijeđeni dijabetes i gluhoća (od engl. Maternally inherited diabetes and deafness, MIDD)	Dijabetes, sensorineuralno oštećenje sluha, mijalgije, mišićna slabost, makularna distrofija, konstipacija	mtDNA mutacija

#### 1.2.4. Dijagnostika

Postavljanje dijagnoze mitohondriopatija vrlo je izazovno zbog već navedene raznolikosti u kliničkoj prezentaciji. Dodatni problem predstavlja ne uvijek očekivani odnos između genotipa i kliničkog fenotipa, tj. ista mutacija mtDNA može rezultirati kliničkom slikom različitih sindroma. Kao primjer može se navesti mutacija m.3243A>G (u MT-TL1 genu) koja može uzrokovati PEO ili MELAS. Vrijedi i obrnuti slučaj, tj. isti sindrom može imati različitu genetsku podlogu, primjerice Leigh sindrom može biti uzrokovan nizom različitih mutacija mtDNA ili nDNA.

Dijagnostička obrada uključuje detaljan klinički pregled i uzimanje anamnestičkih podataka, s posebnim naglaskom na obiteljsku anamnezu, ne bi li se utvrdio specifičan obrazac nasljeđivanja mitohondrijskih bolesti. Ukoliko se na temelju anamneze i fizikalnog pregleda postavi sumnja da bi se moglo raditi o mitohondrijskoj bolesti, potrebne su laboratorijske pretrage, neurofiziološka ispitivanja poput EEG-a ili EMNG-a, evaluacija kardiovaskularnog sustava i radiološke pretrage živčanog sustava. Osnovni laboratorij čini određivanje laktata/piruvata u plazmi ili cerebrospinalnom likvoru (CSL), plazmatskog acilkarnitina, organskih kiselina u urinu i FGF21 i/ili GDF15 u serumu. Postavljanje definitivne dijagnoze temelji se na biopsiji i genetskoj analizi tkiva (16).

### 1.2.5. Liječenje i prevencija

Terapijski pristup mitohondrijskim bolestima još uvijek je dominantno simptomatski. Osnovni principi liječenja su povećanje proizvodnje energije u stanicama, smanjenje stvaranja slobodnih radikala kisika, izbjegavanje izlaganje mitohondrijskim toksinima i preveniranje epizoda akutne dekompenzacije uslijed stresa (dehidracija, infekcija, operativni zahvat). To se u pravilu postiže podvrgavanjem specifičnom dijetnom režimu i tjelesnoj aktivnosti, uzimanjem kombinacije vitamina i antioksidansa i izbjegavanjem lijekova koji remete mitohondrijski metabolizam (statini, valproat, acetilsalicilna kiselina..) (17). Danas postoji vrlo malo lijekova odobrenih od strane FDA/EMA-e za liječenje mitohondrijskih bolesti. Jedan od njih je idebenon, a koristi se kod akutnog gubitka vida u sklopu LHON-a. Ohrabrujuće je što se trenutno provodi više od 50 studija vezanih uz primjenu raznih molekula u liječenju mitohondriopatija, no za sad ostaje za vidjeti hoće li se dokazati njihova učinkovitost (18).

Budući da trenutno ne postoji mogućnost potpunog izlječenja mitohondrijskih bolesti, danas se sve više ide k sprječavanju njihova prenošenja na potomke. Osnova prevencije je genetsko savjetovanje, odnosno prepoznavanje obitelji s poviješću mitohondriopatija te savjetovanje o mogućnostima vezanima uz začecje. Oboljelima se može preporučiti prenatalno (ili čak preimplantacijsko) genetsko testiranje nakon čega se, ukoliko se utvrdi da zametak nosi mutaciju, može izvršiti terminacija trudnoće. Druga mogućnost je donor jajne stanice, što je za neke obitelji neprihvatljivo, budući da u tom slučaju plod nije genetski srodan majki. Treća mogućnost, kojom se nadilazi prethodno navedena mana donora jajne stanice, jest „dijete s tri roditelja“. Radi se o zametku koji se dobiva na način da se nuklearni genom, izvađen iz oocite ili zigote koja nosi mitohondrijsku mutaciju, implantira u anukleiranu jajnu stanicu donora. Rezultat je plod koji, uz gene majke i oca, nosi mitohondrijske gene donora. Konačno, dio obitelji se uslijed mitohondrijske bolesti odlučuje ne imati djecu (19,20).



## 2. Mitohondrijske miopatije

### 2.1. Epidemiologija

Poremećaji mitohondrijske funkcije zbog izrazite varijabilnosti genetske podloge i kliničke prezentacije predstavljaju veliki izazov u određivanju točne prevalencije i incidencije. Najdetaljnija procjena prevalencije u odrasle populacije proizlazi iz kohortne studije provedene u Engleskoj na većinski bijeloj populaciji s niskom razinom dokaza o konsangvinitetu. Ovom studijom utvrđeno je da u odraslih prevalencija mitohondriopatija uzrokovanih mutacijom u mtDNA iznosi 9.6 slučajeva na 100 000 pojedinaca, dok prevalencija onih koje su uzrokovane mutacijom u nDNA iznosi 2.9 slučajeva na 100 000 osoba. Osim toga, identificirano je 10.8 na 100 000 odraslih osoba koje su pod povišenim rizikom od razvoja mitohondrijske bolesti, zbog toga što imaju srodnika u prvom koljenu s mutacijom mtDNA (21). Prevalencija mutacije m.3243A>G, kao najzastupljenije točkaste mtDNA mutacije u sjeveroistočnoj Engleskoj, iznosi 7.8 na 100 000. Prevalencija LHON-a, najraširenijeg poremećaja mtDNA, iznosi 3.7 na 100 000. MERRF povezan s mutacijom m.8344A>G ostaje rijedak oblik mitohondrijske bolesti (0.7/100 000), dok mutacije u SPG7 (4/100 000), PEO1 (3/100 000), OPA1 (1/100 000) i RRM2B (0.9/100 000) predstavljaju vodeće uzroke mitohondrijskih bolesti u odrasle populacije sjeveroistočne Engleske (tablica 2.). Nakon LHON-a najprevalentniji fenotip uzrokovan poremećajem mtDNA je sindrom MELAS uzrokovan mutacijom u tRNA Leu genu (A3243G 80%), zatim slijede MERRF, NARP i KSS (22). Trenutno dostupni podaci ukazuju na to da će većina globalnih regija imati minimalno 20 novih slučajeva mitohondrijskih bolesti na 100 000 živorođenih, što bi moglo biti još značajno više u regijama s visokim konsangvinitetom ili efektom osnivača. Dodatno, mutacije mtDNA odgovorne su za oko 80% mitohondriopatija u odraslih, dok uzrokuju samo 20-25% onih s početkom u dječjoj dobi. Završno, većina mitohondrijskih bolesti s ranim početkom uzrokovano je autosomno recesivnom mutacijom nDNA (16).

**Tablica 2.** Procjena prevalencije mitohondrijskih bolesti. Prilagođeno prema Gorman S et al.

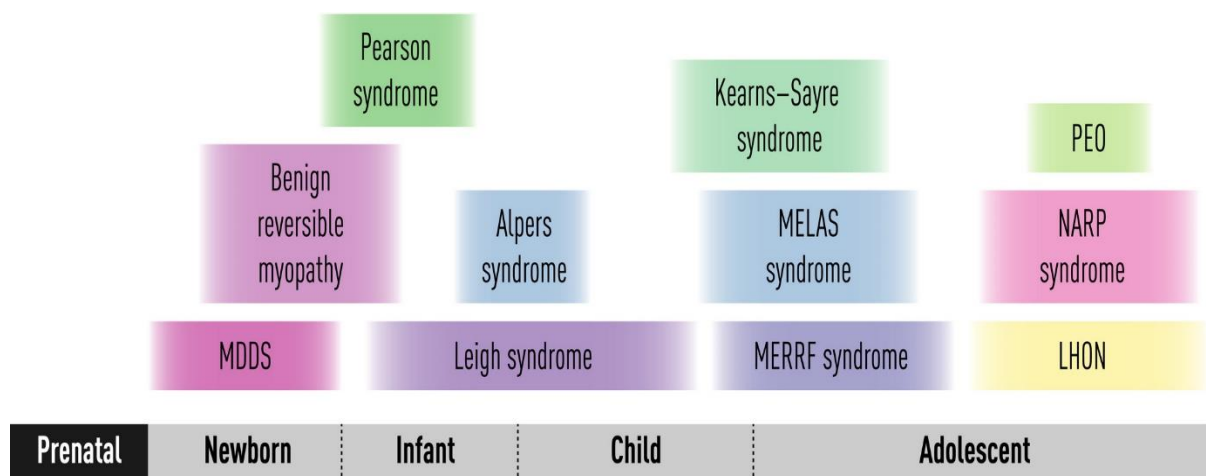
<b>Mutacija</b>	<b>Broj adultnih slučajeva na 100 000 osoba</b>	<b>Broj odraslih i djece s povećanim rizikom na 100 000 osoba</b>
Gena povezanih s LHON	3.7	4.4
MT-TL1 (m.3243A>G)	3.5	4.4
mtDNA delecija	1.5	0
MT-TK (m.8344A>G)	0.2	0.5
SPG7	0.8	1.3
PEO1	0.7	2.3
OPA1	0.4	0.7
POLG	0.3	0.3
RRM2B	0.2	0.7
nDNA	0.2	0.3

## 2.2. Klinička slika

Mišićno tkivo izrazito je metabolički aktivno zbog čega miopatija gotovo redovito čini sastavni dio kliničke slike mitohondrijskih poremećaja (iako je ponekad u sjeni simptoma vezanih uz središnji živčani sustav). Izolirano zahvaćanje mišića češće je kod bolesti s kasnim nastupom, ali može se vidjeti i u pedijatrijskih pacijenata kao početna ili jedina manifestacija, no mnogo češće kao dio multisistemskog poremećaja. Postoji predilekcija miopatije prema vanjskim očnim mišićima, dok je na ekstremitetima češće proksimalna (s iznimkom distalne miopatije u nekim slučajevima POLG mutacije). Najčešće se zahvaćanje mišića prezentira u obliku umora, slabosti, mijalgija (često provociranih mišićnim radom) i nepodnošenja fizičkog napora. Valja napomenuti da zamor u pravilu značajno nadmašuje mišićnu slabost (23). Blaga bulbarna slabost također nije neuobičajena te se u sklopu nje ponekad može razviti teška disfagija s rizikom od ponavljanih aspiracija. Iako je povišena razina kreatin kinaze u krvi tipičan laboratorijski nalaz kod mitohondrijske miopatije (obično >1000 IU/L), rabdomioliza i mioglobinurija vrlo su rijetke. Teška neuromuskularna slabost (uključujući slabost dijafragme) koja zahtjeva ventilacijsku

potporu je iznimka i obično je povezana sa specifičnim genetskim poremećajima poput nedostatka timidin kinaze 2 ili m.8344A>G mutacijom (24).

Budući da su mitohondriji sveprisutni te njihova disfunkcija može narušiti homeostazu bilo kojeg organa, kliničar bi trebao posumnjati na mitohondrijsku miopatiju u slučaju postojanja miopatije s pridruženim kliničkim značajkama multiorganske disfunkcije. U novorođenčadi i dojenčadi znakovi ovog tipa su generalizirana hipotonija, slabo sisanje i nenapredovanje u tjelesnoj masi, nepravilno i plitko disanje, zaostajanje u psihomotoričkom razvoju, često i konvulzije. Najtežim oblicima uz respiratornu insuficijenciju i izraženu slabost svojstvena je katkad nesavladiva laktacidoza i smrt u prvim danima života. Iznimno djeca doživljavaju nagla pogoršanja stanja u obliku subakutne nekrotizirajuće encefalopatije. Vrijedi naglasiti da najčešći sindromski fenotipovi pedijatrijskih mitohondriopatija pokazuju određenu pravilnost pojavnosti prema dobi, što kliničaru značajno olakšava diferencijalnu dijagnostiku (slika 4.).



**Slika 4.** Pedijatrijske mitohondrijske bolesti razvrstane prema dobi početka (preuzeto od <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/joim.13054>)

U starije djece i odraslih prevladava neuromuskularna simptomatologija u obliku nepodnošenja fizičkog napora, hipotonije i grčeva. Uz to su česti različiti znakovi zahvaćenosti središnjeg živčanog sustava (miokloni epileptički napadaji, psihomotorička regresija, cerebelarna ataksija, periferna neuropatija), srca (srčani

blokovi) i endokrinih žlijezda (dijabetes melitus, manjak hormona štitne žlijezde, hiperaldosteronizam) . Bolesnici svih dobnih skupina mogu imati kardiomiopatiju, koja se u težih oblika bolesti nerijetko može uočiti već prenatalno (10).

## **2.3. Najčešći fenotipski sindromi**

### **2.3.1. Sindromi s početkom u dječjoj dobi**

Sengers i Barth sindrom dvije su sindromske kardiomiopatije koje prati skeletna miopatija (uglavnom proksimalna). Barthov sindrom je X-vezani poremećaj uzrokovan mutacijom TAZ (tafazzin) gena koja dovodi do 3-metilglutakonske acidurije i smanjenog stvaranja kardiolipina na unutarnjoj membrani mitohondrija. Prezentira se dilatativnom kardiomiopatijom, neprogresivnom skeletnom miopatijom, cikličkom neutropenijom te poremećajem u rastu i razvoju. U nekih pacijenata može se razviti i hipertrofična kardiomiopatija s endokardijalnom fibroelastozom. Sengersov sindrom rijedak je autosomno recesivni poremećaj uzrokovan mutacijom AGK gena koji kodira enzim acilglicerol kinazu. Zahvaćena dojenčad razvija hipertrofičnu kardiomiopatiju i kongenitalnu kataraktu, dok su rjeđe kliničke značajke nepodnošenje fizičkog napora, skeletna miopatija i laktacidoza. Progresivno zatajenje srca u oba sindroma nerijetko dovodi do smrti u ranoj dojenačkoj dobi, no postoje prijavljeni slučajevi dugoročnog preživljenja nekih pacijenata (25,26).

AHS je sindrom najčešće uzrokovan mutacijom nuklearnog gena POLG koji kodira katalitičku podjedinicu DNA polimeraze  $\gamma$  (poly) ključnu za pravilnu replikaciju mtDNA. Jedna je od najtežih fenotipskih manifestacija iz spektra POLG-vezanih poremećaja, a klinički se prezentira teškom progresivnom encefalopatijom s farmakorezistentnom epilepsijom, neuropatijom, skeletnom miopatijom, mioklonusom i zatajenjem jetre. Djeca s ovim sindromom izgledaju zdravo pri rođenju i mogu imati uredan razvoj u prvim tjednima ili čak godinama života do uobičajenog nastupa bolesti koji je između druge i četvrte godine. Žarišni ili generalizirani epileptički napadaji prvi su znak bolesti u polovice zahvaćene djece te s vremenom mogu progredirati u složene epileptičke poremećaje poput žarišnog

epileptičkog statusa, epilepsije partialis continua i multifokalne mioklone epilepsije. Inicijalno se u neke djece mogu kontrolirati antikonvulzivnom terapijom, no s vremenom napadaji postaju otporniji na liječenje ili se, u gorem slučaju, radi o farmakorezistentnoj epilepsiji od samog početka bolesti. Miopatija se prezentira u ranim fazama bolesti mišićnom slabošću izraženijom proksimalno, zamorom, nepodnošenjem fizičkog napora i hipotonijom (vjerojatno posljedica generalizirane slabosti). Oštećenje jetrene funkcije vrlo je varijabilno, što se vidi u tome da u neke djece može progredirati do završnog stadija jetrenog zatajenja u svega nekoliko mjeseci, dok se u druge nikad klinički ne manifestira. Ono što kliničar mora imati na umu jest da valproična kiselina, natrijev divalproat i fenitoin mogu dovesti do akutnog zatajenja jetre u ovih pacijenata, stoga se trebaju izbjegavati.

Ranije poznat kao spinocerebelarna ataksija s epilepsijom (SCAE), MEMSA je sindrom uzrokovan mutacijom POLG gena kojeg karakterizira miopatija, epilepsija i ataksija bez oftalmoplegije. Cerebelarna ataksija, najčešće prvi znak bolesti, javlja se u srednjoškolskoj ili mladoj odrasloj dobi kao subklinička senzorna polineuropatija. Epilepsija se razvija u kasnijim godinama, često fokalno zahvaćajući desnu ruku, a potom se širi te postaje generalizirana. Ponavljajući napadaji epileptičke aktivnosti praćeni su progresivnom interiktalnom encefalopatijom te mogu biti refraktorni na konvencionalnu antiepileptičku terapiju, uključujući anesteziju. Miopatija može biti distalna ili proksimalna te kao i u drugim POLG vezanim poremećajima, može se prezentirati u obliku netolerancije tjelesne aktivnosti i zamora (27).

Leigh sindrom (subakutna nekrotizirajuća encefalomijelopatija) najčešća je klinička manifestacija mitohondrijske bolesti u dječjoj dobi s više od 75 različitih mutacija koje mogu biti u podlozi (većinom one koje zahvaćaju kompleks I respiracijskog lanca ili piruvat dehidrogenazu). Prvi simptomi bolesti nerijetko se eksponiraju u sklopu dječjih infektivnih ili drugih bolesti, gotovo uvijek do navršene druge godine života. U kliničkoj slici prevladavaju znakovi oštećenja središnjeg živčanog sustava: distonija, ataksija, hipotonija, usporeni psihomotorički razvoj ili regresija i oftalmološki poremećaji poput oftalmoplegije, nistagmusa i optičke atrofije. Neki pacijenti također imaju znakove oštećenja perifernog živčanog sustava (miopatiju ili polineuropatiju) ili neneurološke manifestacije poput dijabetesa, niskog rasta, anemije, kardiomiopatije i zatajenja bubrega (engl. Leigh-like syndrome). Napredovanje bolesti je epizodično i obično rezultira smrtnim ishodom do treće godine života (28, 29).

Pearson sindrom je vrlo rijedak poremećaj s manje od 150 prijavljenih slučajeva u cijelome svijetu. Uzrokovan je jednostrukom velikom delecijom mtDNA koja zahvaća gene za ATP-aze, citokrom c oksidazu i NADH dehidrogenazu. Glavne karakteristike sindroma su izolirana hipoplastična makrocitna anemija ili udružena s trombocitopenijom i granulocitopenijom, zatajenje bubrega, insuficijencija endokrinog i egzokrinog pankreasa i laktacidoza. Nešto rjeđe se u takvih pacijenata javljaju neurološki znakovi poput hipotonije, ataksije, epileptičkih napadaja i mišićne slabosti (ptoza, oftalmoplegija, slabost distalne muskulature). Prognoza je loša te smrt nastupa u dojenačkoj ili ranoj dječjoj dobi zbog metaboličkih poremećaja ili teške infektivne bolesti uslijed granulocitopenije (30).

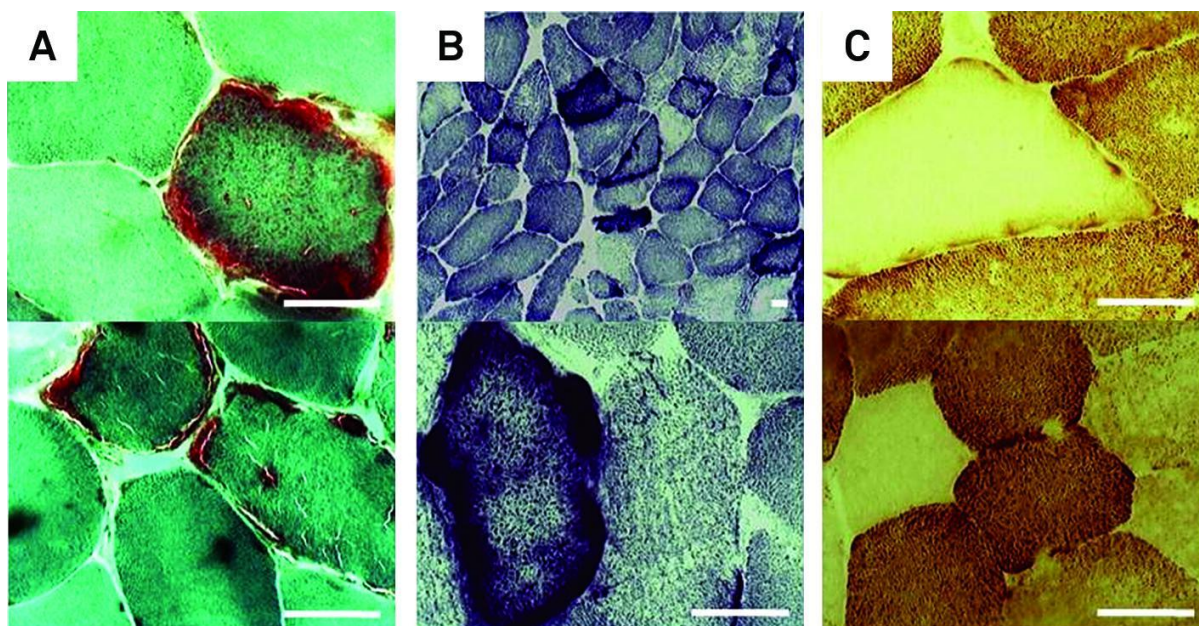
### **2.3.2. Sindromi s početkom u odrasloj dobi**

Sindrom MELAS jedan je od najučestalijih mitohondrijskih poremećaja s maternalnim nasljeđivanjem, a u oko 80% slučajeva uzrokovan je m.3243A>G mutacijom u MT-TL1 genu koji kodira mitohondrijsku tRNA. Može se prezentirati vrlo širokim dijapazonom kliničkih znakova (tablica 3.). Epizode poput moždanog udara osnovna su značajka sindroma javljajući se u 84-99% oboljelih. Očituju se motoričkom slabošću, gubitkom kortikalnog vida, djelomično reverzibilnom afazijom, promjenom mentalnog statusa i epileptičkim napadajima s progresivnim razvojem neurološkog deficita. Budući da su zahvaćena područja u neuroimagingu asimetrična i ne odgovaraju klasičnoj vaskularnoj distribuciji, otuda naziv „poput moždanog udara“. Demencija se javlja u 40-90% oboljelih pojedinaca, primarno zahvaćajući kognitivne domene poput pamćenja, pažnje i izvršnih funkcija. Podležeća neurološka disfunkcija i akumulacija kortikalnih oštećenja uslijed epizoda nalik moždanog udara dodatno doprinose progresiji demencije. Ostale neurološke manifestacije su epilepsija, zamjedbeno oštećenje sluha, rekurentne glavobolje, ataksija i senzomotorna neuropatija (distalnog tipa). Druga ključna značajka sindroma je miopatija koja se vidi u preko 70% pacijenata u obliku nepodnošenja tjelesne aktivnosti i mišićne slabosti. U 23% djece s ovim poremećajem dolazi do značajno usporenog motoričkog razvoja. Histološki se u skeletnim mišićnim vlaknima mogu vidjeti iskidana crvena vlakna kao u MERRF sindromu (31).

**Tablica 3.** Kliničke manifestacije MELAS sindroma. Prilagođeno prema El-Hattab AW et al.

Učestalost	Klinička manifestacija
≥90%	Epizode poput moždanog udara, demecija, epilepsija, laktacidoza, nepodnošenje napora
75–89%	Hemipareza, gubitak kortikalnog vida, rekurentne glavobolje, oštećenje sluha, mišićna slabost
50–74%	Periferna neuropatija, oštećenje pamćenja, nizak rast
25–49%	Mioklonus, ataksija, depresija, promjene stanja svijesti, anksioznost, dijabetes
<25%	Optička atrofija, pigmentna retinopatija, PEO, kardiomiopatija, usporen motorički razvoj, nefropatija, vitiligo

MERRF je multisistemski poremećaj karakteriziran mioklonusom (koji je često prvi simptom), epilepsijom, miopatijom i tipičnim patohistološkim nalazom iskidanih crvenih mišićnih vlakana (slika 5.). U više od 80% oboljelih osoba genetskim testiranjem pronalazi se m.8344A>G mutacija u MT-TK genu za mitohondrijsku tRNA. Najčešći oblik epileptičke aktivnosti koji se viđa u ovih pacijenata su generalizirani mioklonički epileptički napadaji, dok je pojava žarišnih miokloničkih, atoničkih, generaliziranih toničko-kloničkih i apsans epileptičkih napadaja nešto rjeđa. Miopatija se prezentira mišićnom slabošću i grčevima, nepodnošenjem fizičkog napora te povišenom vrijednosti kreatin kinaze u krvi. Osim neuroloških manifestacija, nerijetko je zahvaćeno i srce u obliku hipertrofične ili dilatativne kardiomiopatije s poremećajem provođenja impulsa (32).



**Slika 5.** Karakterističan nalaz biopsije skeletnog mišića u pacijenata s MERRF. (A) iskidana crvena mišićna vlakna – modificirano trikrom-Gomori bojenje; (B) iskidana crvena mišićna vlakna – bojenje sukcinat dehidrogenazom; (C) smanjena aktivnost mišićnih vlakana prikazana bojenjem citokrom c oksidazom (preuzeto od <https://www.scielo.br/j/anp/a/TvRC6c57WYMqqFXw57cRXJP/?lang=en>)

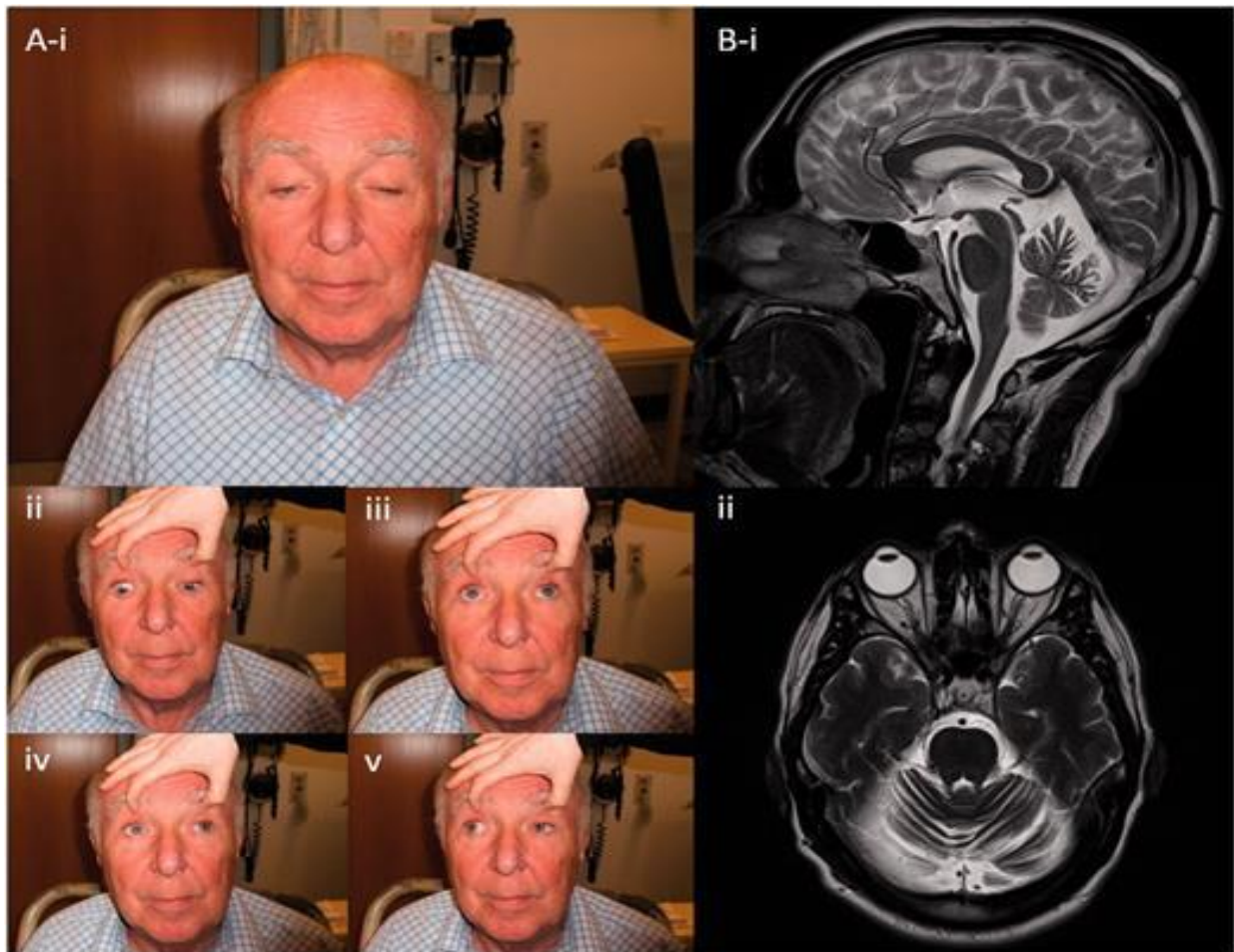
KSS je rijetka mitohondriopatija najčešće uzrokovana jednostrukom velikom delecijom mtDNA čime se gubi niz enzima ključnih za normalnu funkciju mitohondrija. Klinički se prezentira se miopatijom, pigmentnom retinopatijom, poremećajima provođenja srčanog impulsa te endokrinim poremećajima. Miopatija je najizraženija manifestacija bolesti te se očituje ptozom, oftalmoplegijom i zahvaćenošću mišića lica. Oslabljena funkcija mišića orbicularis oculi utječe na sposobnost čvrstog zatvaranja oka, dok slabost frontalisa otežava otvaranje već ptotičnih kapaka. Progresijom bolesti može se razviti slabost mišića vrata i ramenog obruča, blaga slabost mišića ekstremiteta, rijetko i disfagija (33).

LHON se smatra najčešćim primarnim mitohondrijskim poremećajem s prevalencijom od oko 1:30 000 te je u većini slučajeva (>90%) uzrokovan trima različitim mutacijama gena (m.3460G>A, m.11778G>A, m.14484T>C) koji kodiraju proteine kompleksa I respiracijskog lanca. Iako se može razviti u bilo kojoj životnoj dobi, najčešće se javlja u adolescenciji ili ranoj odrasloj dobi te su muškarci značajno češće pogođeni u odnosu na žene (smatra se da estrogen ima protektivan učinak). Nakon subakutnog početka, dolazi do teškog i brzoprogresivnog oštećenja



centralnog vida i to na način da je u početku pogođeno samo jedno oko, a zatim drugo nekoliko tjedana kasnije. Rjeđa varijanta je da se simptomi jave na oba oka istovremeno (34). Kroničnu fazu bolesti karakterizira optička atrofija (obično se razvija unutar šest tjedana od nastupa simptoma) i gusti centralni ili centrocekalni skotom. Većina oboljelih ostaje s teškim ireverzibilnim oštećenjem vida te ispunjava pravne uvjete za prijavu kao slijepa osoba. Osim oštećenja vidnog živca, pokazalo se da su i drugi neurološki poremećaji česti u pacijenata s LHON-om, primjerice posturalni tremor, nespecifična miopatija, periferna neuropatija i poremećaji pokreta. Miopatija, koja se rijetko viđa u ovih bolesnika, je blaga i sporoprogresivna te u pravilu simetrično zahvaća proksimalnu muskulaturu. Ukoliko se bolest prepozna na vrijeme, primjena idebenona unutar prve godine od nastupa simptoma pospješuje oporavak i sprječava daljnje pogoršanje vida reaktivacijom inaktivnih retinalnih ganglijskih stanica (35).

Progresivna eksterna oftalmoplegija (PEO) koja se očituje bilateralnom ptozom i difuznom simetričnom oftalmoparezom predstavlja klinički nalaz, a ne dijagnozu (slika 6.). Kada se javi izolirano, često se naziva kronična progresivna eksterna oftalmoplegija (CPEO). Budući da je oftalmopareza u pravilu simetrična, pacijenti rijetko imaju diplopiju. PEO se vrlo često javlja u kombinaciji s drugim simptomima mitohondrijske disfunkcije što se onda naziva CPEO plus sindrom. Osnovna značajka sindroma su već navedene okularne manifestacije, a uz njih može biti zahvaćen bilo koji organski sustav ovisno o podležućoj mutaciji. Najčešće su mutacije u genima POLG1, POLG2 i SPG7 te se takvi pacijenti prezentiraju ataksijom, senzornom neuropatijom, proksimalnom miopatijom i mišićnom distrofijom, epilepsijom i gastrointestinalnim dismotilitetom (16,36).



**Slika 6.** Pacijent s PEO uslijed mutacije SPG7 gena. (A) blago asimetrična ptoza s ograničenjem pokreta očiju, posebice prema gore (iii); (B) T2 snimka magnetske rezonance koja prikazuje difuznu atrofiju malog mozga (preuzeto od <https://academic.oup.com/brain/article/137/5/1323/335381>)

## 2.4. Dijagnostička obrada

### 2.4.1. Diferencijalna dijagnoza

Budući da se kliničke značajke mitohondrijskih poremećaja preklapaju s nizom neuroloških i neneuroloških bolesti, što predstavlja dijagnostički izazov, ovdje će biti spomenute one najbitnije i bolesti od kojih ih trebamo razlikovati.

Neuropatija se u mitohondrijskim bolestima najčešće prezentira kao predominantno distalna i aksonalna (primjerice NARP sindrom) što može nalikovati na Charcot-Marie-Toothovu bolest tip 2 (37). Patogene mutacije POLG gena mogu biti povezane s teškom aksonalnom senzornom neuropatijom ili gangliopatijom dorzalnog korijena, a time i uzrokovati senzornu ataksiju koja podsjeća na upalni ili autoimuni poremećaj (posebice Sjögrenov sindrom) (38).

PEO treba razlikovati od ostalih uzroka ptoze ili difuznog smanjenja pokreta oka, primarno miastenije gravis (MG). Prisutnost dvoslika govori u prilog MG, dok ju odsutnost značajne umorljivosti čini manje vjerojatnom. Simptomi eksterne oftalmoplegije mogu nalikovati i na okulofaringealnu mišićnu distrofiju, ali odsutnost dugotrajne disfagije u PEO olakšava razlikovanje ova dva poremećaja. Izolirana mitohondrijska miopatija rijetka je, no može sličiti Dok-7 kongenitalnoj miasteniji ili distrofijama ramenog i zdjeličnog područja (limb-girdle distrofije). U razlikovanju mitohondrijskih miopatija od onih druge etiologije pomažu nam vrijednosti serumskog kreatina i nalaz elektromiografije (u pravilu uredni) te biopsija mišića (39).

Epizode poput moždanog udara, u usporedbi s ishemijskim moždanim udarom, karakterizira sporiji nastup i tijek simptoma. Migrenozna glavobolja i ispadi vidnog polja često prethode ili prate bilo kakva senzorna i motorička oštećenja. Također, nerijetko se javljaju konvulzije (40). Epizode poput moždanog udara potrebno je razlikovati i od cerebralne autosomno dominantne arteriopatijske subkortikalnim infarktima i leukoencefalopatijom (CADASIL). U CADASIL-u, za razliku od mitohondrijskih poremećaja, vrlo je česta migrena s aurom, kognitivna deterioracija i demencija u uznapredovalim fazama bolesti. Osim toga, MR mozga obično pokazuje opsežne ishemijske lezije bijele tvari te su u pravilu pogođeni temporalni režnjevi (41).

Budući da je izolirana cerebelarna ataksija neuobičajena u mitohondrijskim bolestima, važno je isključiti najčešće toksične, metaboličke, upalne i degenerativne uzroke prije nego što se postavi dijagnoza mitohondriopatije. Ipak, mutacije mtDNA mogu uzrokovati poremećaje koji nalikuju na nasljedne spinocerebelarne sindrome i Friedrichovu ataksiju, a koje možemo razlikovati po prisutnosti, odnosno odsutnosti akcijskog tremora (42).

Epilepsija kod mitohondriopatija obično je praćena dodatnim kliničkim značajkama ili je dio epileptičke encefalopatije. U akutnim okolnostima važno je isključiti encefalitis. Ostale oblike epileptičke encefalopatije treba razmotriti ukoliko se radi o subakutnom nastupu simptoma, posebice ako su napadaji otporni na liječenje (primjerice epileptički sindromi povezani s mutacijama SCN4 gena ili metabolički poremećaji poput glutarne acidemije tip I). Ostali mogući uzroci mioklone epilepsije s/bez ataksije uključuju glutensku encefalopatiju i ceroidnu lipofuscinozu.

U pacijenata sa subakutnim bezbolnim gubitkom vida (tipičan za LHON) potrebno je isključiti upalne, strukturne i druge genetske uzroke poput Wolframovog sindroma kojeg dodatno karakteriziraju dijabetes insipidus, dijabetes melitus i gluhoća (43).

#### **2.4.2. Osnovni principi**

U slučaju sumnje na mitohondrijsku miopatiju, temeljita anamneza, klinički pregled, laboratorijske pretrage, elektrofiziološka ispitivanja i radiološka obrada usmjeriti će nas prema određenoj vrsti mitohondrijske bolesti te identifikaciji genetskog poremećaja koji joj leži u podlozi. Ovaj pristup omogućuje nam procjenu multisistemskih dimenzija bolesti i u konačnici nam pomaže u odabiru optimalnog načina liječenja (14). Dijagnostički testovi mogu se podijeliti u dvije velike kategorije. Prva kategorija testova utvrđuje prisutnost oštećenja u različitim organskim sustavima (sažeto u tablici 4.) što samo po sebi ne potvrđuje dijagnozu, međutim ovi testovi su važni kako bi se odredio opseg fenotipa, isključili drugi poremećaji te povećala ili smanjila klinička sumnja na mitohondriopatiju. Neke od ovih pretraga potrebno je posebno spomenuti zbog njihovog potencijala da promjene pristup liječenju. Kardiološke pretrage osobito su važne jer poremećaji provođenja srčanog impulsa mogu biti fatalni ukoliko se ne otkriju, a relativno jednostavno se liječe ugradnjom elektrostimulatora srca. Nadalje, endokrinološke pretrage mogu otkriti dijabetes melitus, hipotireozu ili nedostatak hormona rasta, koji su svi izlječivi hormonskom nadomjesnom terapijom. Završno, u ovih pacijenata potrebno je ispitivanje vida i sluha kako bi se pravovremeno utvrdilo oštećenje i primjenila odgovarajuća pomagala.

**Tablica 4.** Multisustavna procjena i primjeri specifičnog potpornog liječenja. Prilagođeno prema Davison JR et al. i Pfeffer G et al.

Sustav	Pretraga	Poremećaj	Liječenje
Središnji živčani sustav	MR, CT, EEG	Konvulzije Epizode poput moždanog udara	Antikonvulzivi L-arginin
Vidni sustav	Oftalmološki pregled, VEP	Ptoza Oštećenje vida	Suspenzija obrva Oftalmološko liječenje
Slušni sustav	Audiološki pregled, procjena govora	Oštećenje sluha	Slušna pomagala, kohlearni implantati
Endokrini sustav	TSH, kalcij, PTH, kortizol, sinaktenski test	Manjak hormona	Hormonsko nadomjesno liječenje
Gušterača	GUK, HbA1c, OGTT, fekalna elastaza, amilaza, lipaza	Dijabetes Egzokrina disfunkcija	Peroralni antidijabetici i/ili inzulin Nadomjesno liječenje
Jetra	Ultrazvuk, hepatogram	Disfunkcija, zatajenje	Transplantacija
Gastrointestinalni sustav	Procjena gutanja, procjena rasta	Dismotilitet, disfagija	Gastrostoma, parenteralna prehrana
Skeletni mišići	EMG, CK, fizioterapijska procjena	Miopatija	Fizioterapija, pomagala za kretanje
Hematološki sustav	KKS, razmaz periferne krvi	Anemija	Krvni pripravci, željezo
Bubrezi	Testovi renalne funkcije	Disfunkcija tubula	Dijaliza
Respiratorni sustav	Testovi plućne funkcije,	Apneja u spavanju Respiratorna	CPAP, BiPAP

	somnografija	insuficijencija	
Srce	EKG, ultrazvuk	Kardiomiopatija Poremećaji provođenja	Transplantacija, elektrostimulator srca, ICD, beta blokatori

Drugom kategorijom testova definitivno se utvrđuje postojanje mitohondrijske bolesti kod pacijenta, a ona uključuje mišićnu biopsiju i molekularno genetsko testiranje. Navedene pretrage provode se zajedno (iz iste vrste uzorka) obzirom da je molekularno testiranje mtDNA najučinkovitije ukoliko je ekstrahirana iz mišićne stanice (mnoge mtDNA mutacije nisu detektibilne u krvi radi visoke stope replikacije krvnih stanica koja negativno selektira mtDNA mutacije) (44).

### 2.4.3. Neinvazivne pretrage

Većina dijagnostičkih algoritama preporučuje procjenu specifičnih mitohondrijskih biomarkera u krvi, urinu i likvoru. To uključuje mjerenje laktata i piruvata u plazmi i likvoru, aminokiselina u plazmi, likvoru i urinu, acilkarnitina u plazmi te organskih kiselina u urinu. Značajno povišena vrijednost plazmatskog laktata (>3mmol/L) u pravilno uzetom uzorku ukazuje na primarnu ili sekundarnu mitohondrijsku disfunkciju. Nekoliko studija pokazalo je da osjetljivost ove pretrage iznosi između 34 i 62%, dok je specifičnost od 83 do 100%. Omjer laktata/piruvata u krvi najpouzdaniji je parametar u razlikovanju poremećaja respiracijskog lanca od poremećaja metabolizma piruvata (samo u slučaju kada su razine laktata visoke), a povišeni laktat u cerebrospinalnoj tekućini može biti koristan marker kod pacijenata s neurološkim simptomima. Povišene vrijednosti piruvata ukazuju na poremećaj u funkciji enzima koji su usko povezani s metabolizmom piruvata, primarno piruvat dehidrogenaze i piruvat karboksilaze. Osjetljivost i specifičnost ove pretrage su oko 75% (45). Nadalje, kvantitativna analiza aminokiselina u krvi ili likvoru redovita je pretraga u pacijenata s mogućim mitohondrijskim poremećajem. Najčešće dolazi do povećanja alanina, glicina, prolina i treonina, a uzrok tome je poremećaj redoks stanja koji nastaje zbog disfunkcije respiracijskog lanca. Aminokiseline u urinu rjeđe

se određuju, uglavnom za procjenu tubulopatije (46). Organske kiseline u urinu nerijetko pokazuju promjene u pacijenata s mitohondriopatijom, a u jednoj retrospektivnoj analizi pokazalo se da povišene vrijednosti fumarata i malata najbolje koreliraju s mitohondrijskom disfunkcijom. U određenim primarnim mitohondrijskim bolestima mogu postojati blaga do umjerena povišenja 3-metilglutakonske, 2-oksoadipinske, 2-aminoadipinske i dikarboksilne kiseline u urinu (45). Kvantifikacija ukupnog i slobodnog karnitina u krvi, zajedno s profiliranjem acilkarnitina, omogućuje identifikaciju primarnih i sekundarnih poremećaja oksidacije masnih kiselina, kao i nekih primarnih aminoacidemija i organskih acidemija. Ova testiranja obično se preporučuju zbog povezanosti mogućeg sekundarnog poremećaja oksidacije masnih kiselina kod pacijenata s mitohondrijskom bolesti i određenih mitohondrijskih fenotipova koji se preklapaju s drugim urođenim greškama metabolizma (kod kojih se analiza acilkarnitina koristi u dijagnostici) (46). FGF21 i GDF15 su glasnici mitohondrijskog stresnog odgovora koji zajedno analizirani (iz uzorka krvi) nadmašuju prethodno navedene biomarkere u specifičnosti i osjetljivosti kod mitohondrijskih miopatija (47). Važno je napomenuti kako ovi markeri mogu biti povišeni i u stanjima poput pretilosti, dijabetesa, metaboličkog sindroma te kardijalne i renalne insuficijencije (16).

Elektromiografijom (EMG) mogu se identificirati miopatski uzorak i rano regrutiranje kao nespecifični znakovi miopatije, dok se elektroneurografijom (ENG) može detektirati subklinička periferna neuropatija što upućuje na multisistemsku bolest ili indirektno implicira na mitohondrijsku bolest. EMG može biti i uredan u mitohondrijskim miopatijama, posebice ukoliko je disfunkcija ograničena na ekstraokularne mišiće.

Testom vježbanja može se utvrditi smanjena mogućnost iskorištavanja kisika iz krvi pri pojačanim zahtjevima tkiva što je značajka miopatija s poremećajem u oksidativnoj fosforilaciji – već blago vježbanje dovodi do tahikardije i dispneje (osjetljivost i specifičnost ovog testa su niske) (48). Test mjerenja parcijalnog tlaka kisika u venskoj krvi tijekom stiskanja šake visoko je specifičan te se može upotrebljavati kao jedan od inicijalnih testova kod sumnje na mitohondrijsku miopatiju (44).

(31)fosfor MR spektroskopija je pretraga kojom se ispituje mitohondrijska funkcija in vivo mjerenjem kinetike fosfokreatina (PCr), ATP-a i anorganskog fosfata (Pi) u mišićnom energetske metabolizmu. <sup>31</sup>P-MRS pokazuje niži omjer PCr/Pi u mirovanju i sporiji oporavak Pi u mišićima nogu kod pacijenata s mitohondrijskom miopatijom u odnosu na zdrave kontrole. Međutim, dok specifičnost ove pretrage može biti i do 100%, osjetljivost je niska što rezultira ograničenjem u njenoj primjeni (49).

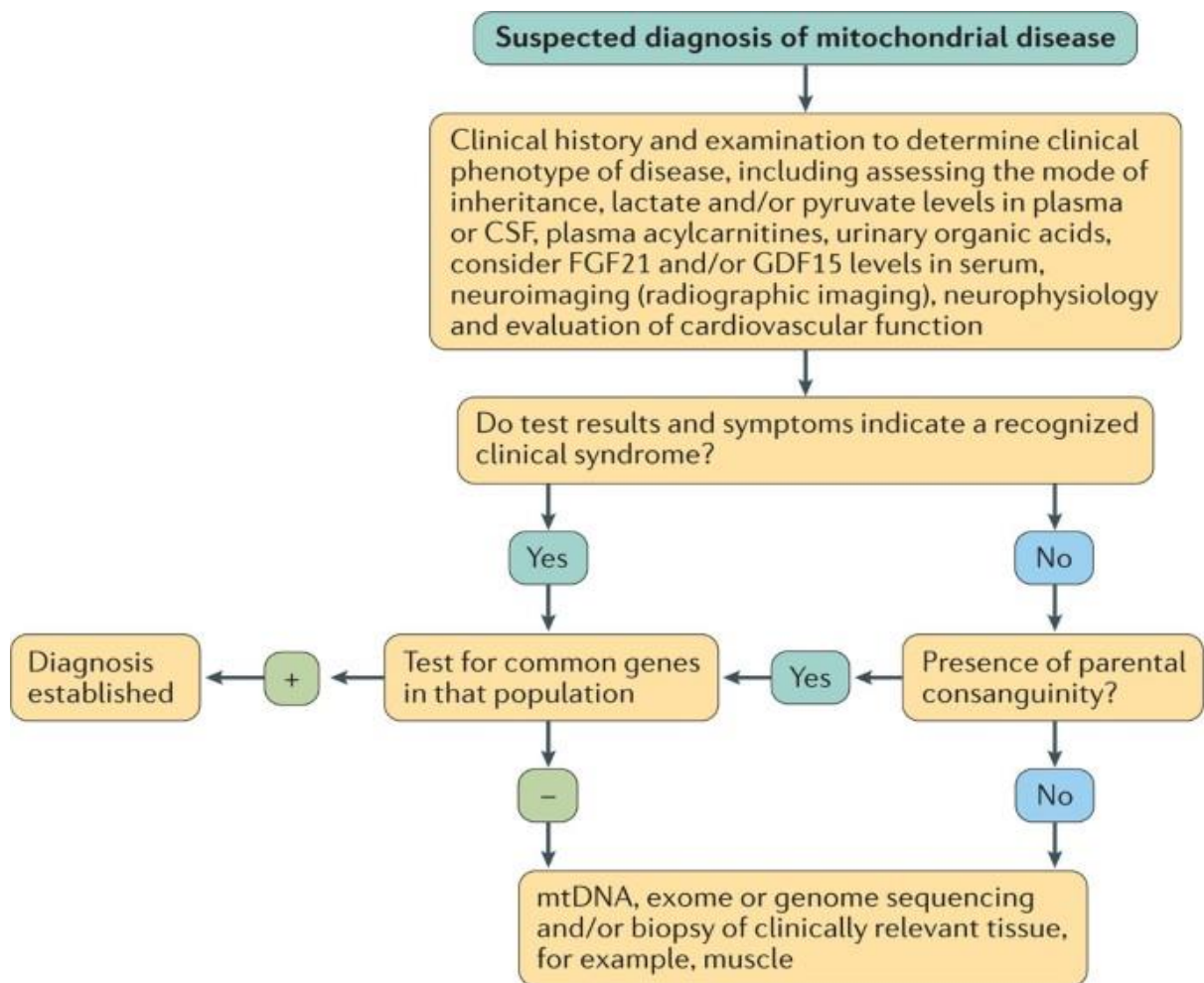
#### **2.4.4. Invazivne pretrage**

Biopsija mišića omogućava morfološku, biokemijsku i molekularnu analizu u pacijenata s mitohondrijskim miopatijama. Uzorak tkiva najčešće se uzima iz m. quadriceps femoris ili m. deltoideus, a rjeđe m. levator palpebrae ili m. orbicularis oculi koji su dostupni biopsiji prilikom korektivnih zahvata na vjeđama u sklopu PEO. Histološki znakovi mitohondrijske disfunkcije uključuju iskidana crvena vlakna s trikrom-Gomori bojenjem, iskidana plava vlakna sa sukcinat dehidrogenaznim bojenjem i manjak citokrom c oksidaze (vidi sliku 5.). Općenito se uzima da je  $\geq 2\%$  iskidanih crvenih vlakana u skeletnom mišiću jedan od dijagnostičkih kriterija mitohondrijske miopatije u odraslih, no takav nalaz može izostati u pedijatrijskih pacijenata. Vrijedi napomenuti da ove histološke karakteristike nisu specifične za nasljedne mitohondrijske bolesti, stoga se moraju staviti u kontekst zajedno s ostalim nalazima. U slučaju CoQ10 deficijencije biopstat će sadržavati veću količinu kapljica masti. Budući da je glavna funkcija mitohondrija stvaranje energije kroz respiracijski lanac i oksidativnu fosforilaciju, mjerenje ovih funkcija u mišićnom tkivu daje vrijednu informaciju o stanju mitohondrija. Svaki kompleks može se testirati pomoću specifičnih supstrata, što usmjerava daljnju molekularnu dijagnostiku (48). U pravilu ujednačeno snižena aktivnost citokrom oksidaze upućuje na nDNA mutaciju, dok mozaična slika upućuje na mtDNA mutaciju. Ako samo jedan kompleks enzima respiracijskog lanca ima smanjenu aktivnost to upućuje na mutaciju gena koji kodira taj kompleks (može biti u mtDNA ili nDNA) (14).

Genetsko testiranje radi se na temelju kliničke slike, laboratorijskih pretraga, nalaza biopsije i načina nasljeđivanja (ukoliko se može odrediti) te je ono glavna i jedina



metoda postavljanja definitivne dijagnoze mitohondrijske bolesti (slika 7). Molekularna dijagnostika kod ovih poremećaja sama je po sebi izazovna, budući da treba u obzir uzeti ne samo nuklearni i mitohondrijski genom, već i otkrivanje različitih vrsta mutacija, uključujući točkaste mutacije i velike delecije. Osim toga, za heteroplazmične mtDNA mutacije treba kvantificirati stupanj heteroplazmije, a delecije treba sagledati ovisno o točki prekida. Točkaste mutacije identificiraju se Sangerovim sekvenciranjem, dok se velike delecije otkrivaju Southern blotom ili metodama hibridizacije (48). Danas postoje napredne metode poput sekvenciranja cijelog egzoma (WES) i sekvenciranja cijelog genoma (WGS) koje omogućuju istovremenu analizu čitave mtDNA i nDNA u kombinaciji s transkriptomikom. Uključivanjem svih gena u analizu, ove metode ne samo da povećavaju vjerojatnost otkrivanja bolesti kod izrazito heterogenih pacijenata, već i ubrzavaju otkrivanje mitohondrijskih bolesti s novom genetskom podlogom. Iz navedenih razloga, radi se o vrlo vrijednim metodama kojima se izbjegava rizik propuštanja neočekivanih, pa čak i liječivih genetskih bolesti (50).



Nature Reviews | Disease Primers

**Slika 7.** Dijagnostički algoritam kod sumnje na mitohondrijsku bolest (preuzeto od <http://www.nature.com/articles/nrdp201680>)

## 2.5. Mogućnosti liječenja

### 2.5.1. Tjelesna aktivnost

Vježbanje je jedna od malobrojnih metoda s dokazano pozitivnim učinkom na mitohondrijsku funkciju i oksidativni kapacitet, posebice aerobna aktivnost. Ona povećava ukupnu mitohondrijsku masu u stanicama stimuliranjem biogeneze, povećava aktivnost mitohondrijskih enzima u mišićima, smanjuje oksidativni stres sprječavanjem lipidne peroksidacije te mijenja omjer mutiranih gena i gena divljeg

tipa. Zbog navedenog svim pacijentima s mitohondrijskom bolešću preporučuje se redovita umjerena aerobna aktivnost poput šetanja, trčanja, plivanja, vožnje biciklom i sl. (51). Bolesnici bi trebali započeti s kratkim trajanjem vježbi vrlo niskog intenziteta te ga postupno povećavati kroz više mjeseci, ovisno o individualnoj izdržljivosti. Prije početka režima vježbanja potrebno je u svih pacijenata napraviti 12-kanalni elektrokardiogram kako bi se isključila kardijalna patologija na koju određena tjelesna aktivnost može nepovoljno utjecati. Ukoliko je moguće, režimi vježbanja trebali bi biti nadzirani od strane stručne osobe, tj. kineziologa ili liječnika. Također, oboljeloj osobi treba se napomenuti da prilagodi ili prekine s tjelesnom aktivnošću u slučaju bolesti ili dugotrajnijeg posta (17).

### **2.5.2. Ketogena dijeta**

Dijeta s niskim udjelom ugljikohidrata te visokim udjelom masti (barem 65% kalorijskog unosa iz masti) koja usmjerava metabolizam prema beta-oksidaciji masnih kiselina i stvaranju ketonskih tijela pokazuje niz povoljnih učinaka u pacijenata s mitohondrijskim poremećajem. Smatra se da je to posljedica smanjenja produkcije kisikovih radikala, poboljšanja mitohondrijske funkcije te stimuliranja biogeneze. Usprkos pozitivnim učincima, u pacijenata se nerijetko javljaju glavobolje, letargija, gastrointestinalne tegobe, ali i teže nuspojave poput laktacidoze i rabdomiolize. Obzirom na navedeni rizik, ketogenu dijetu bi trebao započeti i individualno prilagoditi iskusni tim s naglaskom na redovite kliničke i laboratorijske kontrole, osobito u prvim tjednima dijetе. Zbog svega navedenog trenutne smjernice preporučuju primjenu ketogene dijetе samo u pacijenata s deficijencijom kompleksa I i onih s farmakorezistentnom epilepsijom. Korist u poremećaju kompleksa I objašnjava se time da masne kiseline u odnosu na ugljikohidrate proizvode više FADH koji ulazi u kompleks II te se time djelomično zaobilazi kompleks I. Međutim, NADH se i dalje stvara iz svih supstrata te kompleks I nikada nije u potpunosti zaobidjen. Ketogena dijeta kontraindicirana je u miopatija uzrokovanih delecijom mtDNA zbog visoke učestalosti rabdomiolize i kod poremećaja piruvat karboksilaze, budući da je narušena glukoneogeneza te pacijenti ovise o nutritivnoj glukozі (52).

### 2.5.3. Nespecifično liječenje

Koenzim Q10 (CoQ10) ili ubikinon sastavni je dio respiracijskog lanca mitohondrija te ima ključnu ulogu u prijenosu elektrona s kompleksa I i II. Koristi se kao nadomjesna terapija u bolesnika s poremećajem biosinteze CoQ10. Preporučene doze su 5 do 30mg/kg dnevno (podijeljeno u tri doze) za pedijatrijsku populaciju te 300 do 1500mg dnevno (do max 2400mg) za odrasle. Budući da CoQ10 utječe na smanjenje simptoma i u bolesnika s urednom endogenom biosintezom, odobren je u liječenju svih mitohondrijskih bolesti. Važno je napomenuti da točne razine CoQ10 potrebne skeletnim mišićima nisu poznate, da se apsorpcija CoQ10 u crijevu fiziološki smanjuje nakon 25. godine života te da statini gotovo u potpunosti blokiraju apsorpciju u tankom crijevu (53).

Vitamini B kompleksa indicirani su u određenim slučajevima. Riboflavin (vitamin B2) flavoproteinski je prekursor koji djeluje kao sastavni dio kompleksa I i II te je ključan kofaktor u nizu mitohondrijskih enzimatskih reakcija. Koristi se kao nadomjesna terapija kod manjka flavoproteina i njegove dehidrogenaze, tj. kod multiplog manjka acil-CoA-dehidrogenaze (engl. Multiple acyl CoA dehidrogenase deficiency, MADD). Koristan je i u liječenju drugih mitohondrijskih poremećaja, posebice oštećenja kompleksa respiracijskog lanca. Preporučena doza je 50 do 400mg dnevno. Tiamin (vitamin B1) koristi se kod sumnje na poremećaj kompleksa piruvat dehidrogenaze, obzirom da neke vrste poremećaja reagiraju na tiamin. Folna kiselina (vitamin B9) učinkovita je kod poremećaja 5-metiltetrahidrofolata (transportni oblik folne kiseline) kojeg najčešće nalazimo u pacijenata s KSS-om. Preporučene doze su 0.5 do 2.5mg/kg dnevno za djecu te 2.5 do 25mg/kg dnevno za odrasle. Biotin (vitamin B7) koristi se kao nadomjesno liječenje u deficijenciji biotinidaze.

L-kreatin, u obliku fosfokreatina, izvor je visokoenergetskog fosfata koji se oslobađa tijekom anaerobnog metabolizma. Njegova razina značajno je snižena u mišićnom tkivu kod miopatija, odnosno moždanom tkivu kod encefalomiopatija, zbog čega se koristi kao nadomjesna terapija u tim bolestima. Preporučene doze su 0.1g/kg dnevno (podijeljeno u dvije doze) za djecu te 10g dnevno (podijeljeno u dvije doze) za odrasle.

L-karnitin kao nadomjesna terapija uobičajena je praksa usmjerena na obnovu slobodnog karnitina i uklanjanje nakupljenih toksičnih acilnih spojeva. Posebno je učinkovit kod poremećaja sinteze ili transporta karnitina, no koristi se i kod ostalih mitohondrijskih bolesti. Preporučene doze su 20 do 100mg/kg dnevno (podijeljeno u dvije ili tri doze) za djecu te 300 do 990mg dva ili tri puta dnevno za odrasle (do max 3000mg dnevno). Ovdje vrijedi spomenuti i mitohondrijski koktel, tj. kombinaciju L-karnitina, kreatina i folata koja se nerijetko primjenjuje u pacijenata sa sumnjom ili postavljenom dijagnozom mitohondrijske bolesti. Preporučuje se svakodnevno uzimati 1000mg L-karnitina ujutro, 4.5mg kreatina raspodijeljenog u tri doze sa postupnim povećavanjem do maksimalne dnevne doze od 10mg, te 0.5 do 8mg/kg folata (14,17)

Sukcinat, askorbinska kiselina (vitamin C) i menadion (vitamin K) koriste se kod poremećaja koji zahvaćaju respiracijski lanac. Sukcinat je međuprodukt ciklusa limunske kiseline i prenosi elektrone izravno na FAD čime se djelomično zaobilazi kompleks I, dok askorbat i menadion povećavaju sintezu ATP-a kod oštećenja funkcije kompleksa III.

Dikloroacetat (engl. Dichloroacetate, DCA) pokazuje potencijalno koristan učinak u pacijenata s mitohondrijskim bolestima povezanim s laktacidozom. DCA smanjuje akumulaciju mliječne kiseline inhibirajući kinazu piruvat dehidrogenaze, čime se povećava aktivnost kompleksa piruvat-dehidrogenaze. Preporučena doza je 25mg/kg dnevno (podijeljeno u dvije doze).

Antioksidansi su standardna dopuna liječenju mitohondriopatija, a usmjereni su na smanjenje stvaranja slobodnih radikala u disfunkcionalnim mitohondrijima. Najčešće se koriste cistein i N-acetilcistein (NAC), vitamin E, dihidrolipoat i magnezij. Cistein i NAC ostvaruju učinak povećanjem razine glutationa, značajnog unutarstaničnog antioksidansa. Jedna studija na pacijentima s ETHE1 mutacijom pokazala je kliničko, biokemijsko i radiološko poboljšanje nakon primjene NAC-a tijekom tri mjeseca, dok za cistein nema dokaza o povoljnom učinku. Vitamin E i dihidrolipoat kao potentni antioksidansi dovode do poboljšanja simptoma u nekim slučajevima, no bez znanstvenih dokaza o koristi (54). Magnezij se pokazao učinkovitim u prekidu refraktornog epileptičkog statusa u dva bolesnika s Alpersovim sindromom uzrokovanim POLG1 mutacijom (55).

Kod nespecifičnih metoda liječenja bitno je naglasiti da pacijenti s mitohondriopatijama moraju izbjegavati ili koristiti s oprezom potencijalno štetne lijekove. To su u pravilu lijekovi koji su strukturno masne kiseline te na taj način konkuriraju karnitinu za ulazak u mitohondrij putem karnitinskog nosača. Valproat se mora izbjegavati zbog rizika od zatajenja jetre i epileptičkog statusa, posebice u osoba s POLG1 mutacijom. Nadalje, mitohondriji su osjetljivi na antibiotike koji ciljano djeluju na bakterijske ribosome, zbog čega su aminoglikozidi strogo kontraindicirani. Kloramfenikol, tetraciklini, barbiturati i propofol mogu ometati funkciju respiracijskog lanca. Poznata komplikacija metformina je laktacidoza (u podlozi vjerojatno mitohondrijska disfunkcija), stoga ukoliko je on neophodan, potrebno je kontrolirati razine laktata u krvi. Naravno, potrebno je izbjegavati i miotoksične lijekove (kortikosteroidi, amiodaron, klorokin/hidroklorokin, kolhicin, ciklosporin...) i lijekove koji mogu uzrokovati metaboličku acidozu (spironolakton, amilorid, triamteren, trimetoprim...) (56).

#### **2.5.4. Specifično liječenje**

Idebenon, kratkolančani vodotopljivi sintetski analog CoQ10, odobren je od EMA-e za liječenje LHON-a na temelju studije provedene na 85 pacijenata koja je pokazala da ova molekula sprječava pogoršanje vida, osobito u bolesnika s neposrednim rizikom. Preporučena doza je 900mg dnevno (podijeljeno u tri doze) koja se uzima kroz 24 tjedna.

L-arginin poluesencijalna je aminokiselina uključena u detoksikaciju uree i produkciju dušikova oksida. Može se koristiti kod MELAS sindroma za liječenje epizoda poput moždanog udara (pretpostavlja se da je vazodisregulacija u podlozi navedenih epizoda). U akutnom liječenju primjenjuje se doza od 500mg/kg i.v. kroz jedan do tri dana zajedno s infuzijama fiziološke otopine radi održavanja perfuzije i glukoze radi unošenja anaboličkog supstrata. Nakon toga primjenjuje se doza održavanja od 150 do 300mg/kg dnevno (podijeljeno u dvije ili tri doze). Osim L-arginina, u sprječavanju epizoda poput moždanog udara povoljan učinak pokazuje i primjena taurina (54).

Vatikinon je para-benzokinonski analog CoQ10 s 10000 puta jačim antioksidativnim djelovanjem. Nedavno je odobren za liječenje MELAS sindroma. Preporučena doza je 15mg/kg (do max 200mg) (57).

Elamipretid (MTP-131) je lijek odobren od strane EMA-e za liječenje sindroma nedostatka mtDNA. To je mala molekula koja ciljano djeluje na unutrašnjoj membrani mitohondrija korigirajući prekomjerno stvaranje kisikovih radikala i povećavajući sintezu ATP-a.

Nadomjesna enzimska terapija pokazala se učinkovitom u pacijenata s MNGIE. Temelji se na dopremi nedostatnog enzima (timidin fosforilaze) inkapsuliranog u eritrocite. Osim toga, zbog patološkog nakupljanja timidina i deoksiuridina mogu se primjeniti hemodijaliza i infuzija trombocita ili kontinuirana peritonealna dijaliza kojima se smanjuje cirkulirajuća toksična razina navedenih spojeva. Dodatne mogućnosti liječenja ove bolesti su alogena transplantacija hematopoetskih matičnih stanica i transplantacija jetre kao sigurnija alternativa. Transplantacijom se postiže normalizacija aktivnosti timidin fosforilaze i kliničko poboljšanje (51).

Specifično potporno liječenje treba biti prilagođeno prema problemima svakog pacijenta i može obuhvaćati različita medicinska područja, stoga je ključan multidisciplinarni pristup (vidi tablicu 4.). Neki invazivni zahvati, primjerice transplantacija solidnih organa, možda neće biti prikladni u kontekstu progresivne multisistemske bolesti, no moraju se uzeti u obzir ukoliko postoji izolirana disfunkcija organa (58).

### **2.5.5. Genska terapija**

Sve brži razvoj i razumijevanje genske terapije posljednjih godina omogućio je i primjenu iste kod mitohondrijskih bolesti. Osnovni pristup kojim se nastoji korigirati poremećaj nDNA jest doprema funkcionalnog gena pomoću virusnog vektora. Najčešće se koriste adeno asocirani virusi, budući da dugo perzistiraju u stanici te postoji nizak rizik insercijske mutageneze. Ovaj oblik liječenja pokazao se učinkovitim u prekliničkim istraživanjima na miševima s ETHE1 mutacijom i MNGIE. Drugi pristup je uređivanje jezgrenog genoma pomoću CRISPR/Cas9

endonukleaznog sustava koji je pokazao zadovoljavajuće rezultate kod CoQ4 mutacije. Značajno veći izazov, u odnosu na oštećenja nDNA, predstavljaju mitohondriopatije uzrokovane poremećajima mtDNA zbog heteroplazmije i postojanja multiplih genoma unutar jedne stanice. Jedan pristup ovome problemu je alotopska ekspresija proteina kodiranih mitohondrijskim genomom u jezgri. Trenutno postoje tri kliničke studije na pacijentima s LHON-om u kojima se primjenjuje ovaj mehanizam. Druga mogućnost je manipuliranje heteroplazmijom (engl. Shifting mtDNA mutation heteroplasmy), tj. smanjenje količine mutirane mtDNA ispod kritične razine kod koje se javlja bolest. To se postiže različitim tehnikama: restrikcijskim endonukleazama usmjerenim na mitohondrije, endonukleazama cinkovog prsta, efektorskim nukleazama sličnim transkripcijskim aktivatorima i CRISPR/Cas9 sustavom. Treća mogućnost je stabilizacija poremećene mitohondrijske tRNA. Većina mutacija mtDNA zahvaća gene koji kodiraju tRNA, stoga niz novih terapija cilja upravo taj mehanizam. Mnoga istraživanja pokazala su da bi prekomjerna ekspresija srodnih i nesrodnih aminoacil mt-tRNA sintetaza, ili njihovih fragmenata, mogla stabilizirati mt-tRNA i ublažiti štetan učinak (59)

### **2.5.6. Pretkliničke i kliničke studije**

Trenutno se provode brojna pretklinička i klinička ispitivanja kojima je cilj utvrditi učinak niza različitih molekula na funkciju mitohondrija u pacijenata s mitohondrijskim bolestima te će ovdje biti spomenute samo one koje pokazuju obećavajuće rezultate. Jedna od takvih molekula je bezafibrat koji se koristi u liječenju dislipidemije, a na razini stanice inducira mitohondrijsku biogenezu i regulira ekspresiju antioksidativnih enzima. Pokazalo se na animalnim i ljudskim modelima da ovaj lijek ima povoljan učinak na motoričku i kognitivnu funkciju kod mitohondriopatija. Resveratrol je prirodna molekula najprisutnija u kožici crvenog grožđa dobro poznata po sposobnosti da aktivira sirtuine u sisavaca, uključujući sirtuin 1 (SIRT1). Budući da sirtuini imaju ključnu ulogu u mitohondrijskoj proliferaciji, resveratrol predstavlja potencijalno vrlo učinkovit lijek kod manjka funkcionalnih mitohondrija (51). Rapamicin, mTOR inhibitor koji se najčešće koristi u liječenju autoimunih bolesti i maligniteta, ima sposobnost stimulacije selektivne mitofagije te



na taj način uklanjanja disfunkcionalnih mitohondrija. Osim toga, povećava katabolizam aminokiselina smanjujući time stvaranje međuprodukata glikolize, što poboljšava oksidativnu fosforilaciju zasad još nepoznatim mehanizmom. Trenutno se provodi studija koja ispituje učinak nab-sirolimusa (rapamicin vezan na albumin) kod pacijenata s Leigh sindromom.. KL1333 je nova molekula koja djeluje kao supstrat NAD(P)H dehidrogenaze i prenosi elektrone na respiracijski lanac izravno potičući stvaranje ATP-a. Povišene razine NAD<sup>+</sup> zatim aktiviraju puteve biogeneze SIRT1, AMPK (engl. 5'-adenosine monophosphate-activated protein kinase) i PGC-1 $\alpha$ , (engl. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha), poboljšavajući time mitohondrijsku funkciju. Obzirom na navedene korisne učinke, nedavno je pokrenuta dvostruko slijepa randomizirana kontrolirana studija za procjenu farmakodinamike i farmakokinetike ovog spoja u pacijenata s mitohondriopatijom. REN001 je oralni agonist peroksisomskog proliferatorom aktiviranog receptora  $\delta$  (PPAR $\delta$ ) koji se trenutno ispituje kao terapija za bolesnike s mitohondrijskim miopatijama. Pretpostavka korisnog učinka u ovih pacijenata je da ovaj selektivni agonist PPAR $\delta$  može ublažiti manjak stanične energije povećanjem udjela mtDNA divljeg tipa. Ostale potencijalne dobrobiti uključuju povećanje aktivnosti sustava oksidacije masnih kiselina i oksidativne fosforilacije, čime se povećava mitohondrijska sposobnost stvaranja ATP-a i potiče mitohondrijska biogeneza (57).

### 3. Zaključak

Mitochondrijske miopatije skupina su rijetkih poremećaja koji se klinički mogu prezentirati na gotovo svim organskim sustavima, stoga ih kliničar mora uvijek imati na umu kod pacijenata s naizled nepovezanim simptomima i nejasnom dijagnozom. Poznavanje pojedinih sindroma mitochondrijskih bolesti korisno je budući da se na temelju određenih skupina simptoma lakše može posumnjati da se radi o mitochondrijskoj miopatiji. Pravovremeno postavljanje definitivne dijagnoze i utvrđivanje genetske podloge omogućava rani početak liječenja i provođenje daljnjih dijagnostičkih postupaka usmjerenih na oštećenja organa koja se još nisu klinički manifestirala. Danas dostupni oblici liječenja mitochondrijskih miopatija vrlo su ograničeni, te se primarno temelje na simptomatskom pristupu koji još uvijek nije idealan za sve pacijente. Budući da se trenutno provodi niz studija vezanih uz bolje razumijevanje mitochondrijskih bolesti i liječenje istih, za očekivati je značajno unaprjeđenje kvalitete života ovih pacijenata.

#### **4. Zahvale**

Zahvaljujem se svojoj mentorici, prof.dr.sc. Ervini Bilić na iskazanom povjerenju, strpljenju i pomoći u izradi ovog diplomskog rada.

Posebno se zahvaljujem svojoj obitelji, prijateljima i djevojci na bezuvjetnoj podršci i pokazanom razumijevanju za vrijeme studija.

## 5. Literatura

1. Cooper GM and Hausman RE. The cell: A Molecular Approach, 5<sup>th</sup> ed, Sinauer Associates, Inc.; 2009.
2. Gamulin S, Marušić M, Kovač Z i sur. Patofiziologija. Osmo izdanje. Zagreb: Medicinska Naklada; 2018. Str. 135-158.
3. Emelyanov VV, Evolutionary relationship of Rickettsiae and mitochondria. FEBS letters. 2001; 501(1): str. 11-18. DOI: 10.1016/s0014-5793(01)02618-7
4. Junqueira LC and Carneiro J. Osnove histologije. Deseto izdanje. Zagreb: Školska knjiga; 2005. Str. 23-52.
5. Neupert W and Herrmann JM. Translocation of proteins into mitochondria. Ann. Rev. Biochem. 2007; 76: 723-749. DOI: 10.1146/annurev.biochem.76.052705.163409
6. Kerner J and Hoppel C. Fatty acid import into mitochondria. BBA. 2000; 1486(1): 1-17. DOI: 10.1016/s1388-1981(00)00044-5
7. Talley JT and Mohiuddin SS. Biochemistry: fatty acid oxidation. Statpearls (internet): National Library of Medicine; 2021 – (ažurirano 24.01.2022.; pristupljeno 28.11.2022.). Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK556002/>
8. Murray RK, Bender DA, Botham KM, Kennelly PJ, Rodwell VW, Weil PA. Harperova ilustrirana biokemija. Dvadeset osmo izdanje. Zagreb: Medicinska Naklada; 2011. Str. 143-148.
9. Hroudová J and Fišar Z. Control mechanisms in mitochondrial oxidative phosphorylation. Neural Regen Res. 2013; 8(4): 363-375. DOI: 10.3969/j.issn.1673-5374.2013.04.009
10. Mardešić D i sur. Pedijatrija. Osmo izdanje. Zagreb: Školska Knjiga; 2016. Str. 127-192.
11. Sutovsky P, Moreno RD, Ramalho-Santos J, Dominko T, Simerly C, Schatten G. Ubiquitin tag for sperm mitochondria. Nature. 1999; 402(6760): 371-2. DOI: 10.1038/46466
12. Smeitink J, van den Heuvel L, DiMauro S. The genetics and pathology of oxidative phosphorylation. Nature. 2001; 2(5): 342-352. DOI: 10.1038/35072063

13. DiMauro S. A brief history of mitochondrial pathologies. *Int J Mol Sci.* 2019; 20(22): 5643. DOI: 10.3390/ijms20225643
14. Bilić E ur. Smjernice za liječenje neuromuskularnih bolesti – 2. dio. Zagreb: Medicinska Naklada; 2022. Str. 169-192.
15. Muraresku CC, McCormick EM, Falk MJ. Mitochondrial disease: Advances in clinical diagnosis, management, therapeutic development, and preventive strategies. *Curr Genet Med Rep.* 2018; 6(2): 62-72. DOI: 10.1007/s40142-018-0138-9
16. Gorman GS, Chinnery PF, DiMauro S, Hirano M, Koga Y, McFarland R., et al. Mitochondrial diseases. *Nature.* 2016; 2(1): 16080. DOI: 10.1038/nrdp.2016.80
17. Parikh S, Saneto R, Falk MJ, Anselm I, Cohen BH, Haas R. A modern approach to the treatment of mitochondrial disease. *Curr Treat Options Neurol.* 2009; 11(6): 414-430. DOI: 10.1007/s11940-009-0046-0
18. Russel OM, Gorman GS, Lightowlers RN, Turnbull DM. Mitochondrial diseases: Hope for the future. *Cell.* 2020; 181(1): 168-188. DOI: 10.1016/j.cell.2020.02.051
19. Greenfield A, Braude P, Flinter , Lovell-Badge R, Ogilvie C, Perry ACF. Assisted reproductive technologies to prevent human mitochondrial disease transmission. *Nat biotechnol.* 2017; 35(11): 1059-1068. DOI: 10.1038/nbt.3997
20. Farnezi HCM, Goulart ACX, Santos A, Ramos MG, Penna MLF. Three-parent babies: Mitochondrial replacement therapies. *JBRA Assist Reprod.* 2020; 24(2): 189-196. DOI: 10.5935/1518-0557.20190086
21. Gorman GS, Schaefer AM, Ng Y, Gomez N, Blakely EL, Alston CL, et al. Prevalence of nuclear and mitochondrial DNA mutations related to adult mitochondrial disease. *Ann Neurol.* 2015;77(5):753-9. DOI: 10.1002/ana.24362
22. Molnar MJ, Kovacs GG. Mitochondrial diseases. *Handb Clin Neurol.* 2017;145:147-155. DOI: 10.1016/B978-0-12-802395-2.00010-9
23. Rahman S. Mitochondrial disease in children. *J Intern Med.* 2020;287(6):609-633. DOI: 10.1111/joim.13054

24. Ng YS, Bindoff LA, Gorman GS, Klopstock T, Kornblum C, Mancuso M, et al. Mitochondrial disease in adults: recent advances and future promise. *Lancet Neurol.* 2021;20(7):573-584. DOI: 10.1016/S1474-4422(21)00098-3
25. Clarke SL, Bowron A, Gonzalez IL, Groves SJ, Newbury-Ecob R, Clayton N, et al. Barth syndrome. *Orphanet J Rare Dis.* 2013;8:23. DOI: 10.1186/1750-1172-8-23
26. Haghghi A, Haack TB, Atiq M, Mottaghi H, Haghghi-Kakhki H, Bashir RA, et al. Sengers syndrome: six novel AGK mutations in seven new families and review of the phenotypic and mutational spectrum of 29 patients. *Orphanet J Rare Dis.* 2014;9:119. DOI: 10.1186/s13023-014-0119-3
27. Cohen BH, Chinnery PF, Copeland WC. POLG-Related Disorders. GeneReviews [Internet]. National library of medicine (US); Seattle (WA): University of Washington, Seattle;2010 - [ažurirano 01.03.2018.; pristupljeno 30.04.2023.]. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26471/>
28. Lake NJ, Compton AG, Rahman S, Thorburn DR. Leigh syndrome: One disorder, more than 75 monogenic causes. *Ann Neurol.* 2016;79(2):190-203. DOI: 10.1002/ana.24551
29. Finsterer J. Leigh and Leigh-like syndrome in children and adults. *Pediatr Neurol.* 2008;39(4):223-35. DOI: 10.1016/j.pediatrneurol.2008.07.013
30. Farruggia P, Di Marco F, Dufour C. Pearson syndrome. *Expert Rev Hematol.* 2018;11(3):239-246. DOI: 10.1080/17474086.2018.1426454
31. El-Hattab AW, Adesina AM, Jones J, Scaglia F. MELAS syndrome: Clinical manifestations, pathogenesis, and treatment options. *Mol Genet Metab.* 2015;116(1-2):4-12. DOI: 10.1016/j.ymgme.2015.06.004
32. Velez-Bartolomei F, Lee C, Enns G. MERRF. GeneReviews [Internet]. National library of medicine (US); Seattle (WA): University of Washington, Seattle;2003 - [ažurirano 07.01.2021.; pristupljeno 01.05.2023.]. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1520/>
33. Shemesh A, Margolin E. Kearns Sayre Syndrome. Statpearls [Internet]. National library of medicine(US); Treasure Island (FL): StatPearls Publishing;2023 - [ažurirano 19.07.2022.; pristupljeno 01.05.2023.]. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK482341/>

34. Klopstock T, Priglinger C, Yilmaz A, Kornblum C, Distelmaier F, Prokisch H. Mitochondrial Disorders. *Dtsch Arztebl Int.* 2021;118(44):741-748. DOI: 10.3238/arztebl.m2021.0251
35. Yu-Wai-Man P, Chinnery PF. Leber Hereditary Optic Neuropathy. GeneReviews® [Internet]. National library of medicine(US); Seattle (WA): University of Washington, Seattle;2000 - [ažurirano 11.03.2021.; pristupljeno 01.05.2023.]. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1174/>
36. McClelland C, Manousakis G, Lee MS. Progressive External Ophthalmoplegia. *Curr Neurol Neurosci Rep.* 2016;16(6):53. DOI: 10.1007/s11910-016-0652-7
37. Harrower T, Stewart JD, Hudson G, Houlden H, Warner G, O'Donovan DG, et al. POLG1 mutations manifesting as autosomal recessive axonal Charcot-Marie-Tooth disease. *Arch Neurol.* 2008;65(1):133-6. DOI: 10.1001/archneurol.2007.4
38. Synofzik M, Srulijes K, Godau J, Berg D, Schöls L. Characterizing POLG ataxia: clinics, electrophysiology and imaging. *Cerebellum.* 2012;11(4):1002-11. DOI: 10.1007/s12311-012-0378-2
39. Schoser BG, Pongratz D. Extraocular mitochondrial myopathies and their differential diagnoses. *Strabismus.* 2006;14(2):107-13. DOI: 10.1080/09273970600701218
40. Engelsens BA, Tzoulis C, Karlsen B, Lillebø A, Laegreid LM, Aasly J, et al. POLG1 mutations cause a syndromic epilepsy with occipital lobe predilection. *Brain.* 2008;131(Pt 3):818-28. DOI: 10.1093/brain/awn007
41. Chabriat H, Joutel A, Dichgans M, Tournier-Lasserre E, Bousser MG. Cadasil. *Lancet Neurol.* 2009;8(7):643-53. DOI: 10.1016/S1474-4422(09)70127-9
42. Pfeffer G, Blakely EL, Alston CL, Hassani A, Boggild M, Horvath R, et al. Adult-onset spinocerebellar ataxia syndromes due to MTATP6 mutations. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2012;83(9):883-6. DOI: 10.1136/jnnp-2012-302568
43. Martikainen MH, Chinnery PF. Mitochondrial disease: mimics and chameleons. *Pract Neurol.* 2015;15(6):424-35. DOI: 10.1136/practneurol-2015-001191

44. Pfeffer G, Chinnery PF. Diagnosis and treatment of mitochondrial myopathies. *Ann Med.* 2013;45(1):4-16. DOI: 10.3109/07853890.2011.605389
45. Parikh S, Goldstein A, Koenig MK, Scaglia F, Enns GM, Saneto R, et al. Diagnosis and management of mitochondrial disease: a consensus statement from the Mitochondrial Medicine Society. *Genet Med.* 2015;17(9):689-701. DOI: 10.1038/gim.2014.177
46. Haas RH, Parikh S, Falk MJ, Saneto RP, Wolf NI, Darin N, et al. The in-depth evaluation of suspected mitochondrial disease. *Mol Genet Metab.* 2008;94(1):16-37. DOI: 10.1016/j.ymgme.2007.11.018
47. Suomalainen A. Blood biomarkers of mitochondrial disease-One for all or all for one? *Handb Clin Neurol.* 2023;194:251-257. DOI: 10.1016/B978-0-12-821751-1.00006-3
48. Milone M, Wong LJ. Diagnosis of mitochondrial myopathies. *Mol Genet Metab.* 2013 ;110(1-2):35-41. DOI: 10.1016/j.ymgme.2013.07.007
49. Jeppesen TD, Quistorff B, Wibrand F, Vissing J. 31P-MRS of skeletal muscle is not a sensitive diagnostic test for mitochondrial myopathy. *J Neurol.* 2007;254(1):29-37. DOI: 10.1007/s00415-006-0229-5
50. Stenton SL, Prokisch H. Genetics of mitochondrial diseases: Identifying mutations to help diagnosis. *EBioMedicine.* 2020;56:102784. DOI: 10.1016/j.ebiom.2020.102784
51. Hirano M, Emmanuele V, Quinzii CM. Emerging therapies for mitochondrial diseases. *Essays Biochem.* 2018;62(3):467-481. DOI: 10.1042/EBC20170114
52. Zweers H, van Wegberg AMJ, Janssen MCH, Wortmann SB. Ketogenic diet for mitochondrial disease: a systematic review on efficacy and safety. *Orphanet J Rare Dis.* 2021;16(1):295. DOI: 10.1186/s13023-021-01927-w
53. Hargreaves IP. Coenzyme Q10 as a therapy for mitochondrial disease. *Int J Biochem Cell Biol.* 2014;49:105-11. DOI: 10.1016/j.biocel.2014.01.020
54. Avula S, Parikh S, Demarest S, Kurz J, Gropman A. Treatment of mitochondrial disorders. *Curr Treat Options Neurol.* 2014 ;16(6):292. DOI: 10.1007/s11940-014-0292-7
55. Visser NA, Braun KP, Leijten FS, van Nieuwenhuizen O, Wokke JH, van den Bergh WM. Magnesium treatment for patients with refractory status



- epilepticus due to POLG1-mutations. *J Neurol*. 2011;258(2):218-22. DOI: 10.1007/s00415-010-5721-2
56. Orsucci D, Ienco EC, Siciliano G, Mancuso M. Mitochondrial disorders and drugs: what every physician should know. *Drugs Context*. 2019;8:212588. DOI: 10.7573/dic.212588
57. Tinker RJ, Lim AZ, Stefanetti RJ, McFarland R. Current and Emerging Clinical Treatment in Mitochondrial Disease. *Mol Diagn Ther*. 2021;25(2):181-206. DOI: 10.1007/s40291-020-00510-6
58. Davison JE, Rahman S. Recognition, investigation and management of mitochondrial disease. *Arch Dis Child*. 2017;102(11):1082-1090. DOI: 10.1136/archdischild-2016-311370
59. Di Donfrancesco A, Massaro G, Di Meo I, Tiranti V, Bottani E, Brunetti D. Gene Therapy for Mitochondrial Diseases: Current Status and Future Perspective. *Pharmaceutics*. 2022;14(6):1287. DOI: 10.3390/pharmaceutics14061287

## 6. Životopis

Rođen sam 01. studenog 1998. godine u Čakovcu. Od 2005. do 2013. godine pohađao sam I. Osnovnu školu Čakovec. Nakon završenog osnovnoškolskog obrazovanja upisao sam Gimnaziju Josipa Slavenskog Čakovec i maturirao 2017. godine s odličnim uspjehom. Tijekom osnovnoškolskog i srednjoškolskog obrazovanja profesionalno se bavim stolnim tenisom.

Nakon završetka srednje škole, postignutog odličnog uspjeha na državnoj maturi i položenog prijemnog ispita, 2017. godine upisao sam Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.

Trenutno sam student šeste godine studija s ukupnim prosjekom ocjena 4,98.

Kroz godine studija razvio sam poseban interes za područje neurologije te se nadam kako će moja profesionalna karijera uspješno krenuti u tom smjeru.