

Choroby mitochondrialne - genetyka w pigułce

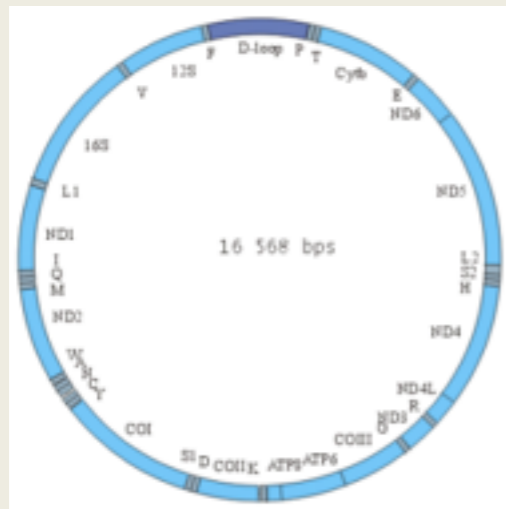
24.11.2016

Neurogenetyka i genetycznie uwarunkowane choroby narządów zmysłów

Dr hab. Katarzyna Tońska, prof. UW
Instytut Genetyki i Biotechnologii
Wydział Biologii, UW
tel.: 22 592 22 41 lub 22 39
kaska@igib.uw.edu.pl

Mitochondria są kontrolowane przez dwa genomy

mitochondrialny DNA (mtDNA)



genom jądrowy



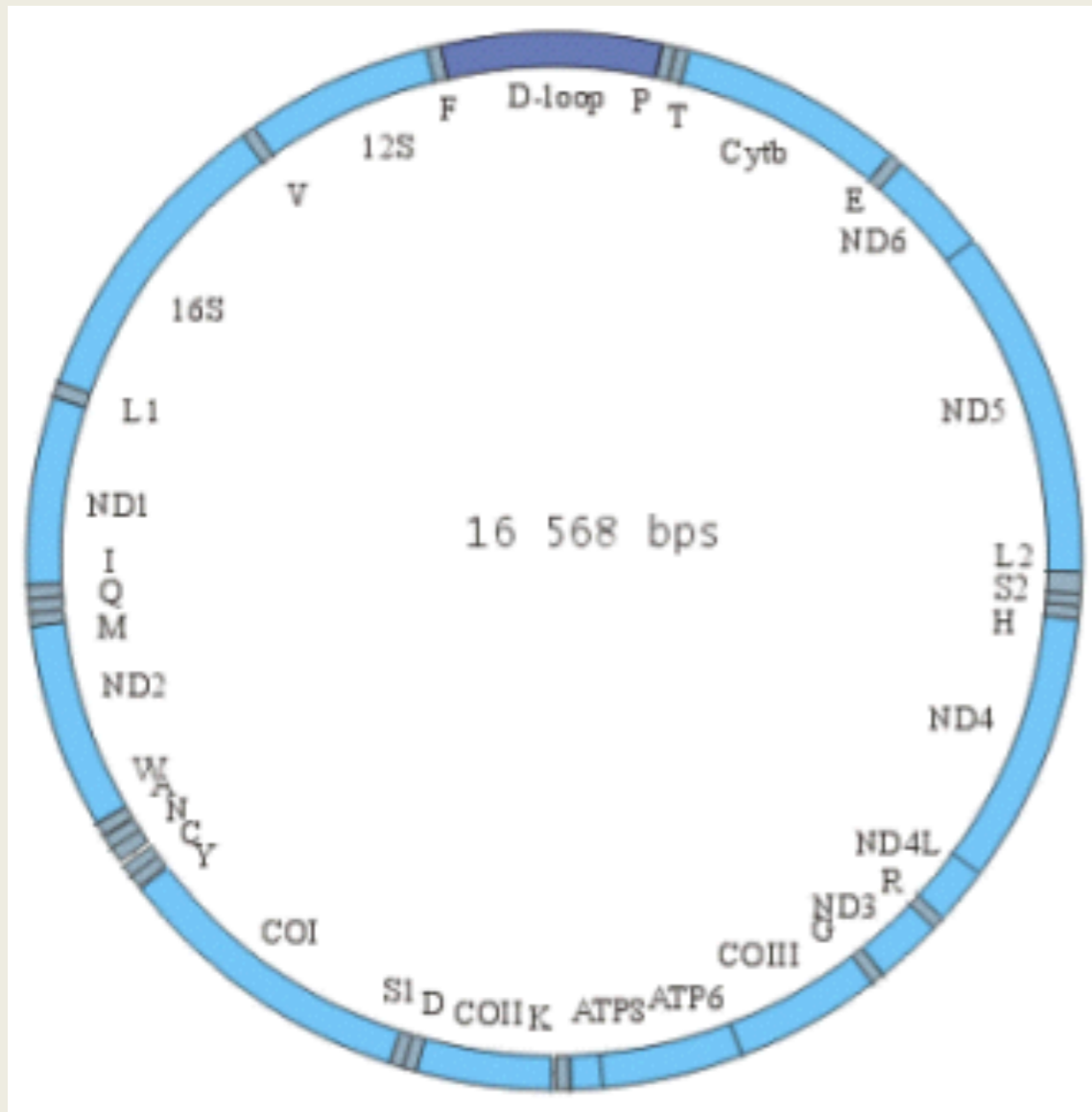
13 polipeptydów - podjednostek kompleksów łańcucha oddechowego
22 tRNA
2 rRNA

wielokopiowy (setki, tysiące kopii)
dziedziczony odmatczynnie

70 polipeptydów - podjednostek kompleksów łańcucha oddechowego
inne białka:
- enzymatyczne
- transportowe
- strukturalne
- odpowiedzialne za utrzymanie mtDNA

- Choroby mitochondrialne - choroby wynikające z dysfunkcji łańcucha oddechowego

Mitochondrial DNA



- brak intronów
- brak lub niewielkie obszary niekodujące między genami
- czasem brak pełnego kodonu STOP
- tempo mutacji ok. 10 razy szybsze niż w przypadku genomu jądrowego
- ubogie systemy naprawcze: b. efektywny BER, brak NAR, MMR?
- szczątkowa rekombinacja
- wielokopiowy (w komórce tysiące kopii)
- homoplazmia lub heteroplazmia

Zjawiska związane z mtDNA

- efekt progowy - objawy pojawiają się gdy udział zmutowanych cząsteczek mtDNA osiągnie pewną wartość (zależy od mutacji, tkanki, tła genetycznego, czynników środowiskowych). Im ostrzejsza mutacja tym próg niższy.
- Jedna choroba może być powodowana przez wiele mutacji mitochondrialnych (np. MELAS) lub mitochondrialnych albo jądrowych (np. Zespół Leigha)
- Jedna mutacja może powodować różne objawy/choroby - m.3243A>G - MELAS, cukrzyca z głuchotą, miopatia mitochondrialna - nawet w tej samej rodzinie
- Na podstawie wiedzy o poziomie heteroplazmii u matki trudno wnioskować o poziomie heteroplazmii u dziecka, a co z tego wynika o tym czy będzie chore i jak ciężka będzie to choroba.

Objawy mięśniowe

- Oftalmoplegia
- *Facies myopathica*
- Nietolerancja wysiłku
- Osłabienie pracy mięśni
- Rabdomioliza
- Nieprawidłowa EMG



Objawy ze strony centralnego układu nerwowego

- Opóźnienie rozwojowe
- Utrata umiejętności
- Demencja
- Napady udaropodobne
- Migreny
- Drgawki
- Mioklonie
- Ślepoty korowe
- Objawy piramidowe
- Objawy pozapiramidowe
- Objawy rdzeniowe

Objawy pochodzące od innych narządów i układów

- Ze strony układu krwiotwórczego
- Ze strony układu pokarmowego
- Zaburzenia wzrostu i endokrynologiczne
- Sercowe (kardiomiopatia, blok przewodzenia)
- Nerkowe
- Zaburzenia widzenia
- Zaburzenia słuchu
- Neuropatia
- Historia rodzinna

Choroby związane z mutacjami punktowymi mtDNA

Choroba	Podstawowe objawy	Najczęstsze mutacje	Inne informacje
<i>LHON (dziedziczna neuropatia wzrokowa Lebera)</i>	<i>Utrata wzroku wynikająca z zaniku nerwu wzrokowego. Choruje ok. 50% mężczyzn z mutacją, ale tylko 10% kobiet</i>	<i>m.3460A>G, m.11778A>G, m.14484T>C</i>	<i>Mutacje mitochondrialnych genów kodujących podjednostki kompleksu I</i>
<i>MELAS</i>	<i>Miopatia, encefalopatia, kwasica mleczanowa, napady udaropodobne</i>	<i>m.3243A>G</i>	<i>Mutacja genu tRNA Leu</i>
<i>MERRF</i>	<i>Padaczka miokloniczna, poszarpane czerwone włókna, tłuszczaki</i>	<i>m.8344A>G</i>	<i>Mutacja genu tRNA Lys</i>
<i>NARP</i>	<i>Oslabienie mięśni, bezład, barwnikowe zwyrodnienie siatkówki</i>	<i>m.8993T>C/G</i>	<i>Gen kodujący 6 podjednostkę ATPazy</i>
<i>Zespół Leigha</i>	<i>Szybko postępujące osłabienie mięśni, objawy neurologiczne, w mózgu zajęcie jąder podstawy</i>	<i>m.8993T>C/G</i>	<i>Ale głównie mutacje jądrowe!</i>

Choroby związane z rearanżacjami mtDNA

Choroba	Podstawowe objawy	Rodzaj rearanżacji	Inne informacje
<i>Postępująca zewnętrzna oftalmoplegia (PEO)</i>	<i>Porażenie mięśni zewnątrzgałkowych z ptozą</i>	<i>Pojedyncza delecja, lub liczne delecje</i>	<i>AR, AD, sporadyczny</i>
<i>Zespół Pearsona</i>	<i>Anemia i inne zaburzenia pracy szpiku kostnego, cukrzyca, zaburzenia pracy trzustki, jelit</i>	<i>Delecje i duplikacje w różnych kombinacjach</i>	<i>Wczesny początek</i>
<i>Zespół Kearnsa-Sayre'a</i>	<i>PEO, ptoza barwnikowe zwyrodnienie siatkówki, liczne objawy ze strony układu nerwowego i mięśniowego</i>	<i>Głównie pojedyncze delecje</i>	<i>Przeważnie sporadyczny</i>
<i>Zespół mitochondrialnej encefalopatii dotyczącej ukł. nerwowego, żołądka i jelit (MNGIE)</i>	<i>Wyniszczenie organizmu wynikające nieprawidłowego funkcjonowania układu pokarmowego, PEO, ptoza</i>	<i>Liczne delecje/ duplikacje mtDNA</i>	<i>Także deplecja mtDNA AR</i>
<i>Zespół Alpersa</i>	<i>Hipotonia, drgawki, niewydolność wątroby</i>	<i>deplecja</i>	<i>AR</i>

Geny jądrowe odpowiedzialne za Zespół Leigha

- Geny kodujące enzymy kompleksu dehydrogenazy pirogronianowej (reakcja pirogronian do acetyloCoA) w tym *PDHA1* na chromosomie X
- Geny kodujące podjednostki kompleksu I (dehydrogenazy NADH, ND): *NDUFS1*, *NDUFS4*, *NDUFS7*, *NDUFS8*, *NDUFV1*
- Geny kodujące białka odpowiedzialne za składanie kompleksu I
- Gen kodujący podjednostkę kompleksu II (cytochrom bc1): *SDHA*
- Geny kodujące podjednostki kompleksu IV (oksydazy cytochromu C, COX) i kodujące białka odpowiedzialne za składanie kompleksu IV: ***SURF1***, *COX15* - regulacja grupy prostetycznej wiążącej żelazo hemowe, *SCO2* - regulacja grupy prostetycznej wiążącej miedź

Dominujący zanik nerwu wzrokowego

- Autosomal dominant optic atrophy (DOA, ADOA) występuje z częstością 1:35 000
- Choroba wiąże się z obustronnym zanikiem nerwu wzrokowego związanym z utratą komórek zwoju siatkówki
- Mutacje w genie *OPA1* odpowiadają za 60% przypadków
- Mutacje *OPA1* mogą także być związane z wielokrotnymi delecjami i fenotypem DOA+

LHON vs. ADOA

- To samo miejsce choć różny czas i tempo
- Taki sam efekt końcowy
- Przy LHON obserwujemy zaburzoną dystrybucję mitochondriów
- Przy mutacjach *OPA1* obserwujemy obniżoną aktywność kompleksu I

Badania metaboliczne i obrazowe

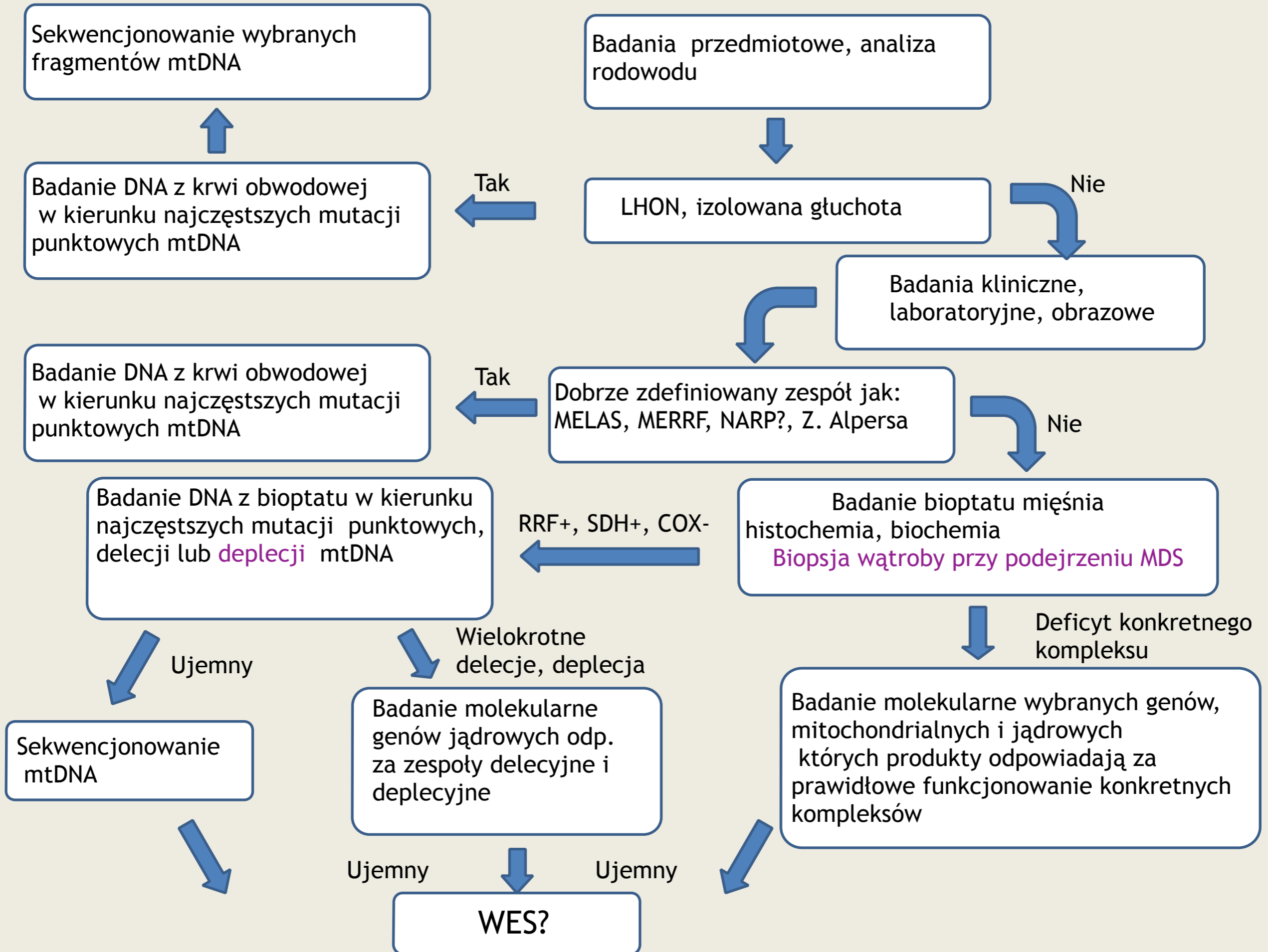
- Podwyższony poziom kwasu mlekowego we krwi, CNS lub MRS
- Podwyższony stosunek mleczanu do pirogronianu
- Podwyższony poziom alaniny we krwi lub CNS
- Podwyższony poziom białka w CNS
- Kwas etylomalonowy w moczu
- Obraz udaropodobny w MRI
- Zespół Leigha w MRI

Badania laboratoryjne przydatne przy diagnostyce choroby mitochondrialnej	Interpretacja
Kwas mlekowy w osoczu	Przydatne jeśli podwyższony, konieczne powtórne oznaczenie. Często w normie.
Kinaza kreatynowa w osoczu	Może być w normie lub nieznacznie podwyższona. Przy bardzo wysokich wartościach warto wpierw wykluczyć inne miopatie jak zapalenie wielomięśniowe
Glukoza na czczo w osoczu	Cukrzyca często występuje jako jeden z objawów choroby mitochondrialnej
TSH w osoczu	Niedoczynność tarczycy może przypominać pewne objawy choroby mitochondrialnej
Inne gdy potrzebne	W zależności od objawów warto wykluczyć inne bardziej powszechne i dające się leczyć choroby.
Profil acylokarnityn w osoczu i krwi pełnej	Defekty oksydacji kwasów tłuszczowych potrafią naśladować objawy pierwotnej dysfunkcji łańcucha oddechowego
Kwasy organiczne w moczu	Mogą pokazywać akumulację metabolitów sugerującą dysfunkcję łańcucha oddechowego

Analiza histologiczna bioptatu mięśnia

- barwienie hematoksyliną i eozyną - struktura włókna mięśniowego
- barwienie Trichromem Gomoriego - obecność włókien szmatowatych (RRF)
- barwienie na aktywność dehydrogenazy bursztynianowej (SDH) amplifikacja mitochondriów
- barwienie na aktywność oksydazy cytochromowej - aktywność łańcucha oddechowego (IV kompleks)

Schemat diagnostyki przy podejrzeniu choroby mitochondrialnej



Podstawowe zasady poradnictwa genetycznego w przypadku chorób mitochondrialnych:

- Mężczyzna posiadający mutację mtDNA nie przekazuje jej swoim dzieciom
- Poza nielicznymi wyjątkami kobieta z PEO lub KSS, u której stwierdzono pojedynczą delecję nie przekazuje jej swoim dzieciom
- W rodzinach, w których stwierdzono punktową mutację mtDNA wszystkie kobiety spokrewnione z „posiadaczem” w linii matczynej mają ryzyko urodzenia dziecka z chorobą mitochondrialną (ale jakie?)
- Jeśli za chorobę odpowiedzialna jest mutacja jądrowa dziedziczenie jest zgodne z prawami Mendla (AR, AD, sprzężone z X)

W przypadku mutacji mtDNA nie przeprowadza się genetycznych badań prenatalnych

Z punktu widzenia laboratorium:

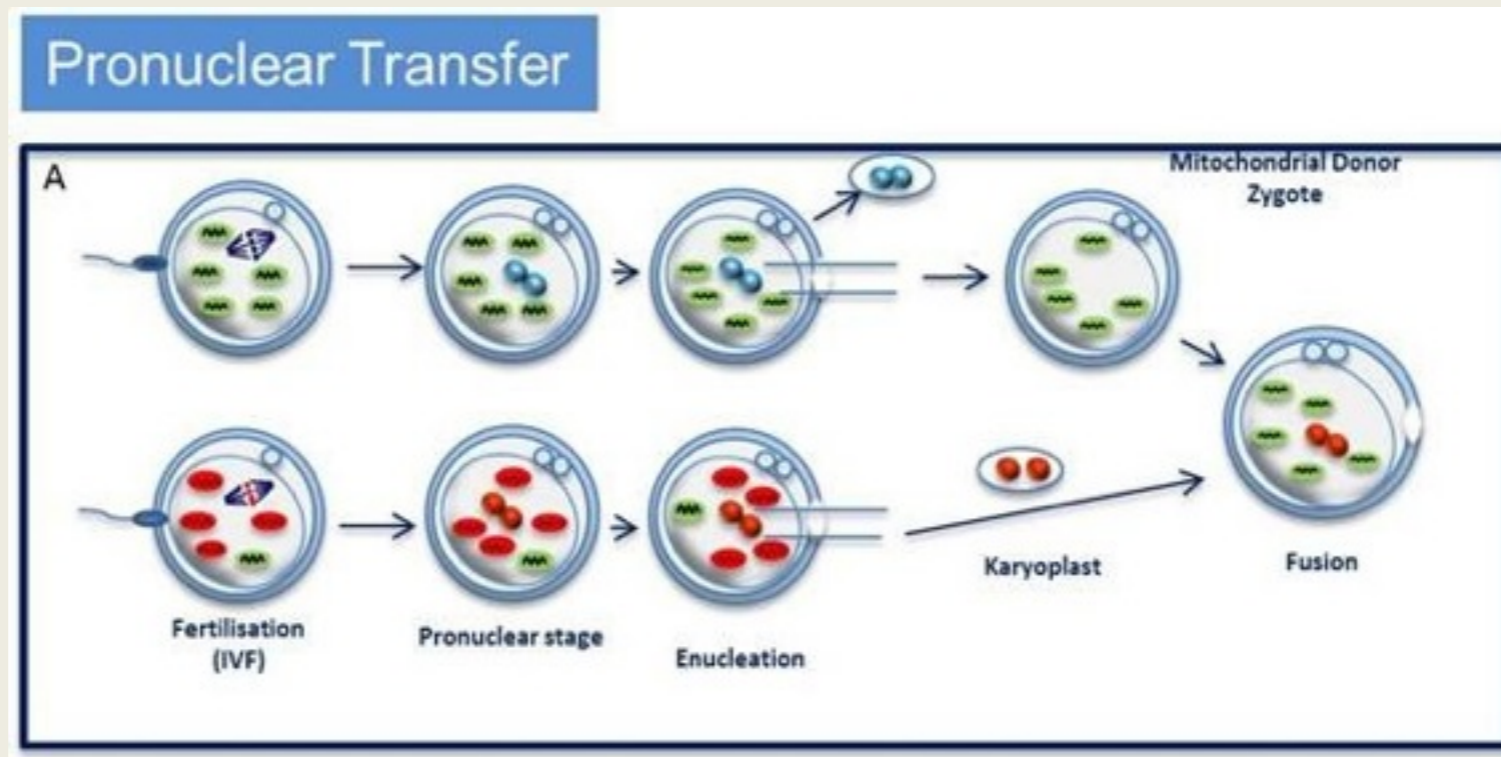
- Krew - dziedziczna neuropatia wzrokowa Lebera, poszukiwanie znanych mutacji punktowych mtDNA przy dobrze zdefiniowanym zespole, mutacje genów jądrowych. Także gdy nie ma dostępu do innej tkanki.
- Bioptat mięśnia - najlepiej! - poszukiwanie znanych mutacji punktowych mtDNA przy negatywnym wyniku badania z krwi, poszukiwanie mutacji m.3243A>G (MELAS), poszukiwanie dużych delecji mtDNA
- Bioptat wątroby - poszukiwanie deplecji mtDNA (MDS)
- Inne - **nabłonek moczowy**, cebulki włosowe - lepsze niż krew

Sposób izolacji DNA

- do poszukiwania mutacji punktowych mtDNA i genów jądrowych - obojętnie
- do poszukiwania dużych delecji mtDNA - najlepiej skonsultować z laboratorium (wysalanie, fenolowanie, różne kolumny)

Już prawie dostępne strategie reprodukcyjne:

Transfer pronukleusa:



Transfer wrzeciona kariokinetycznego:

