



**CROATIAN
INSTITUTE
FOR BRAIN
RESEARCH**



Novije spoznaje o mitohondriju i mitohondrijskim bolestima

Prof. dr. sc. Nives Pećina-Šlaus

Zavod za biologiju

Laboratorij za neuroonkologiju HIIM

Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

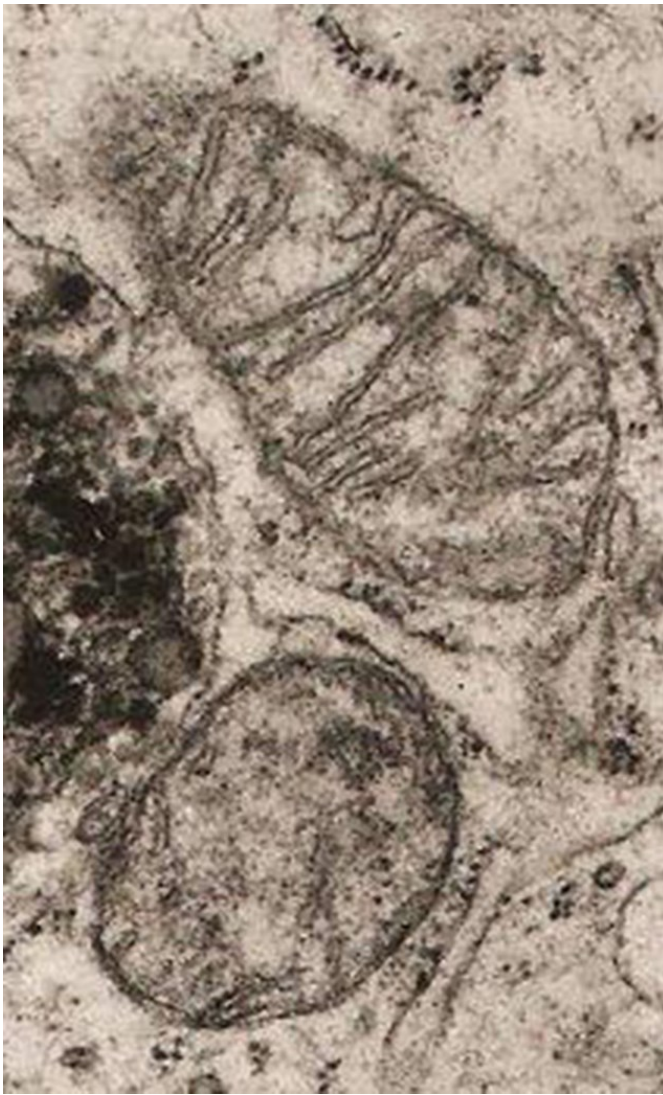
Department of Biology,

Laboratory of Neurooncology CIBR

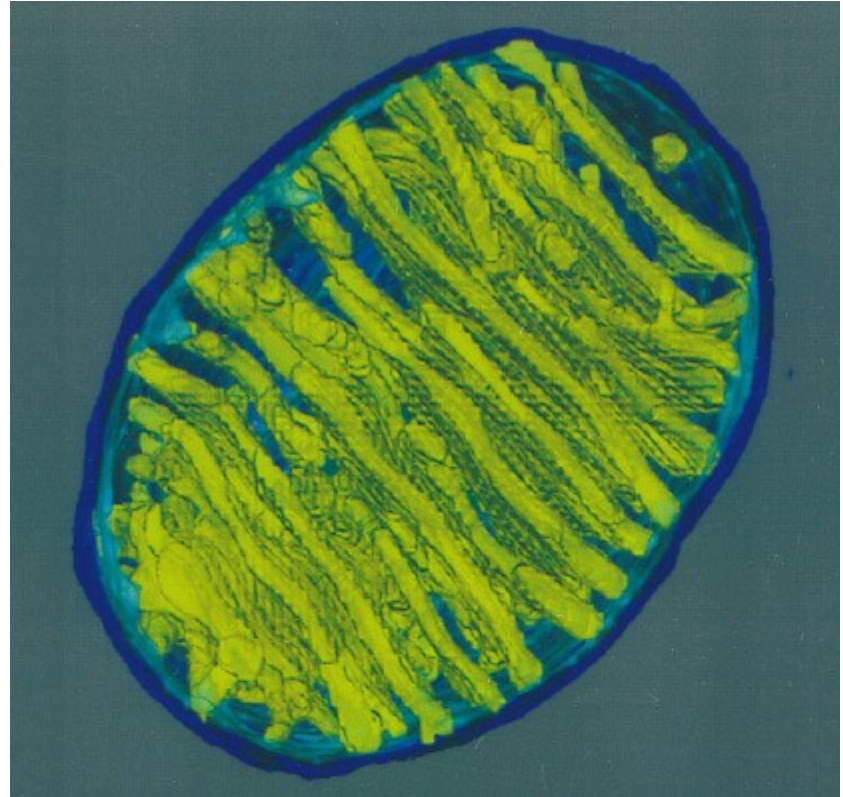
School of Medicine University of Zagreb,

Šalata 12, 10 000 Zagreb, Croatia; nina@mef.hr

A

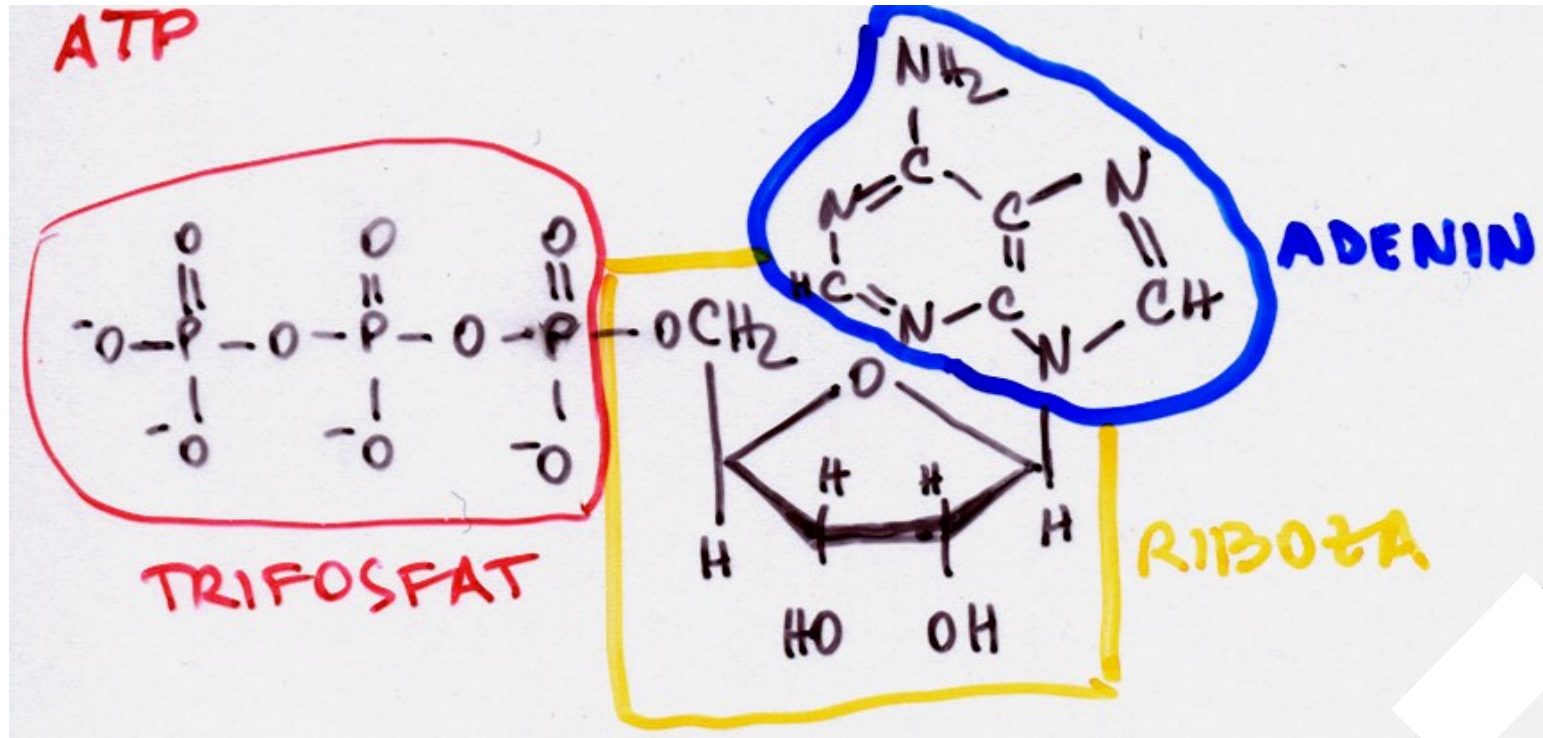


B



A. Prikaz mitohondrija pod elektronskim mikroskopom. Vidljiv je dvostruki membranski sustav u kojem unutarnja membrana oblikuje nabore (kriste) koji se protežu u matriks mitohondrija, B. Elektronsko mikroskopska tomografija mitohondrija živčane stanice (preuzeto iz Perkins i sur. J Struct Biol 1997;119:260-72).

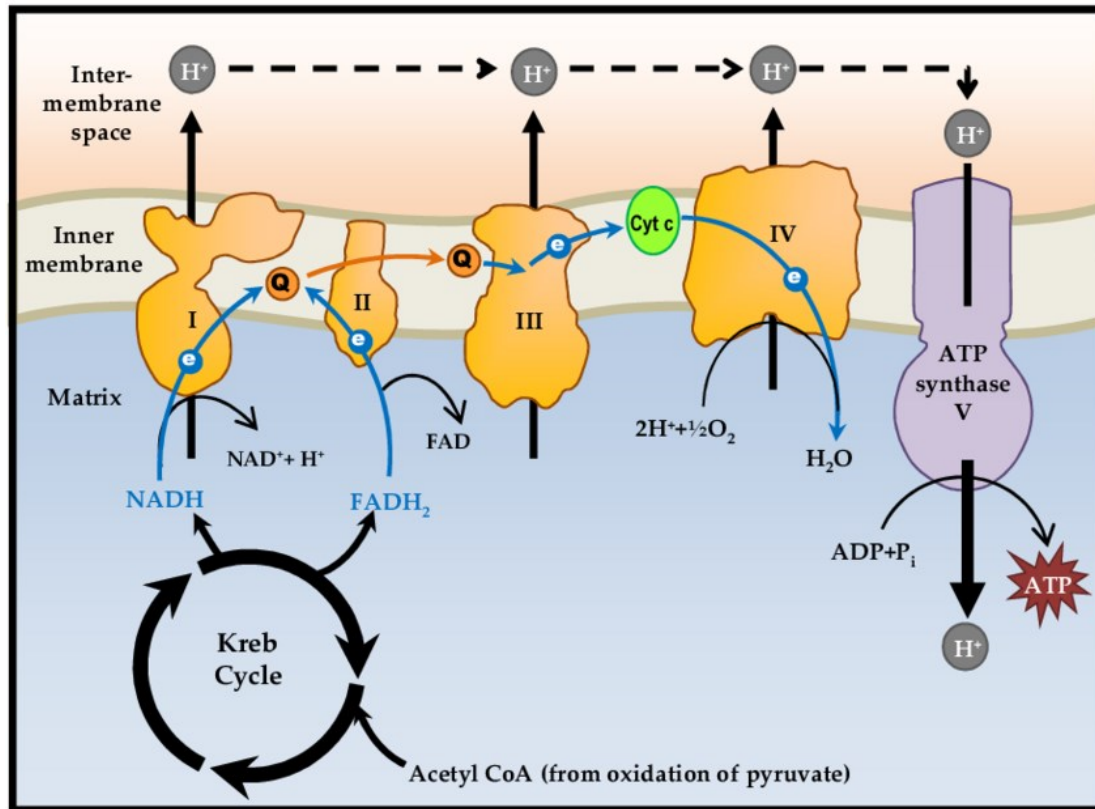
ATP univerzalna energetska “moneta” stanice



Kako bismo ilustrirali značaj mitohondrija dovoljno je reći da odrastao zdrav čovjek dnevno proizvede oko 50 kg ATPa.

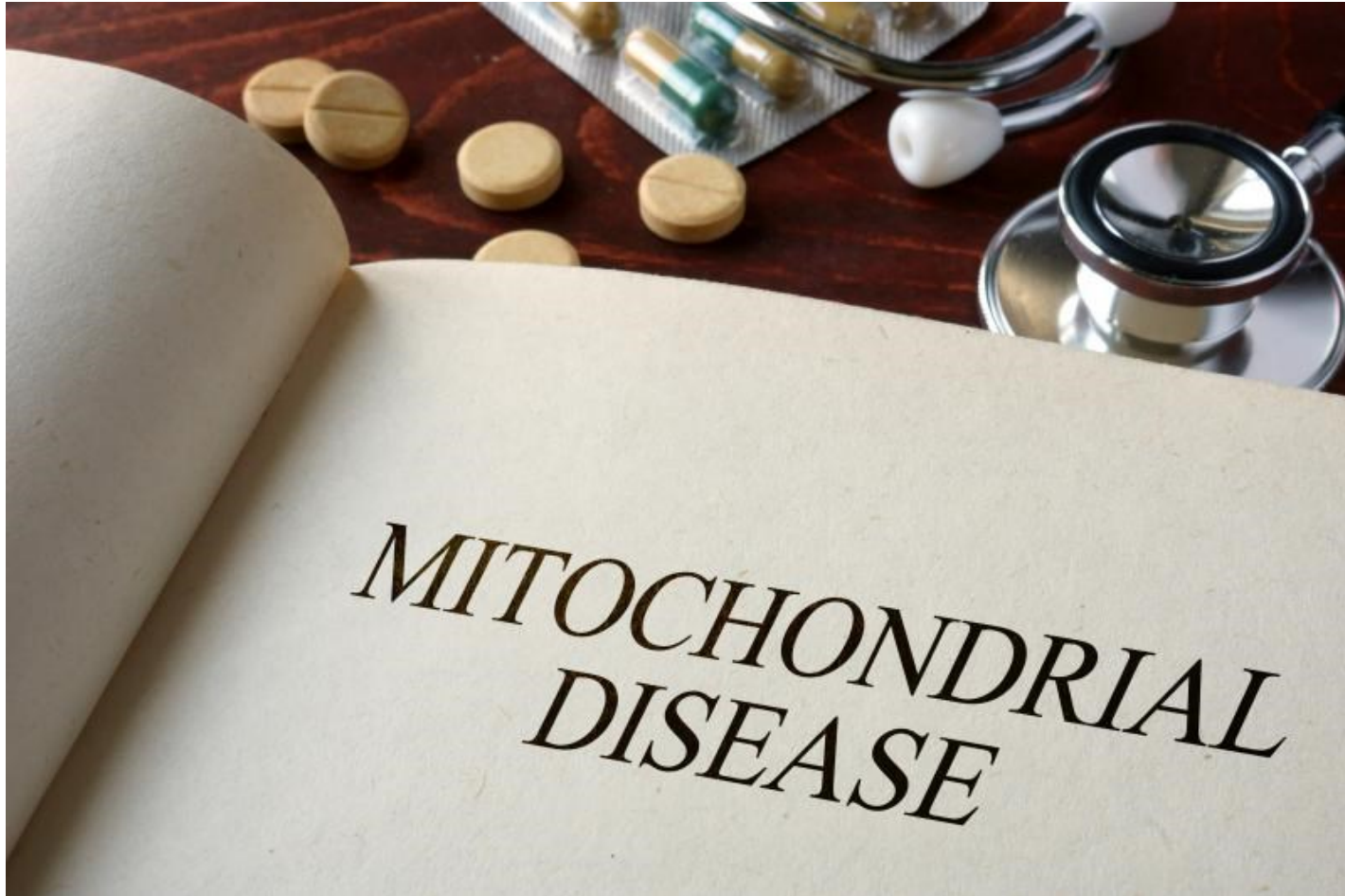
Unutarnja membrana

uloga mitohondrija kao generatora energije
OXPHOS



Oksidativna fosforilacija (OXPHOS) proces je koji se odvija na unutrašnjoj mitohondrijskoj membrani gdje je smještena mašinerija od preko 90 različitih polipeptida, organiziranih u pet transmembranskih kompleksa znanih i kao nosači elektrona. Transmembranski kompleks broj V mitohondrijska je ATP sintaza.

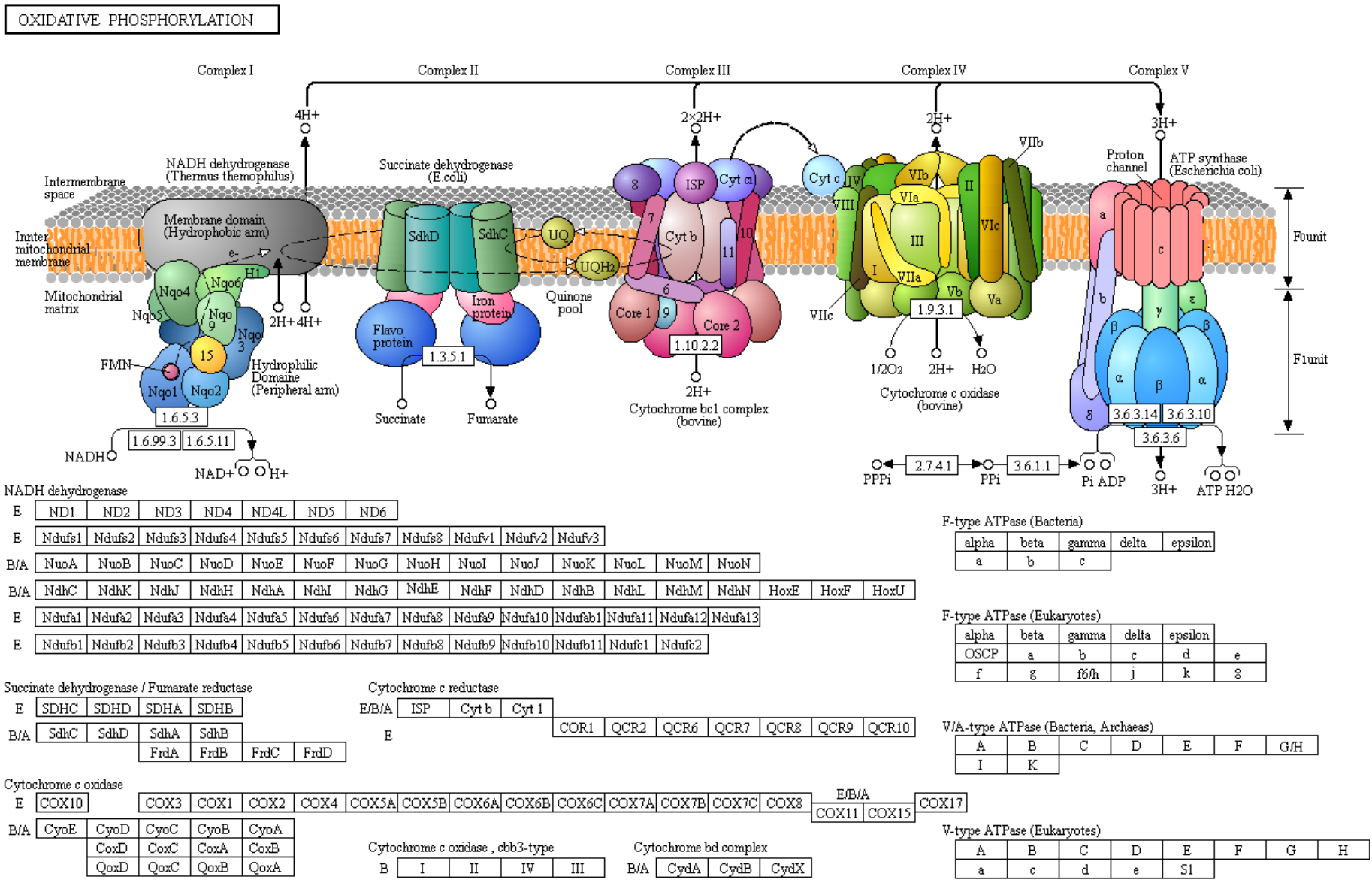
Mitohondrijske bolesti su grupa klinički heterogenih bolesti zajednički definiranih gubitkom stanične energije radi neispravne oksidativne fosforilacije.



Extensive clinical and genetic heterogeneity means that the exact prevalence of mitochondrial disease is difficult to establish. The true prevalence of mtDNA disease is unknown. However, it is estimated that approximately 1 in 4,000 children are born with mitochondrial disease.

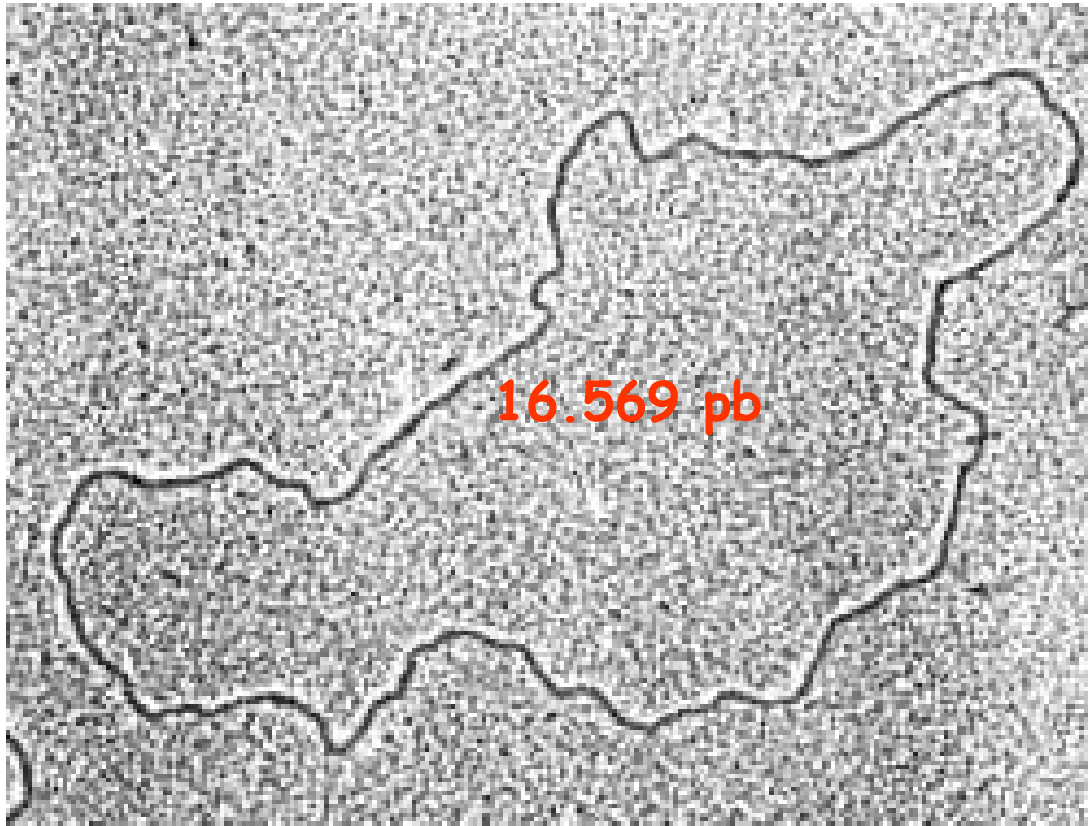
KEGG Pathway

https://www.genome.jp/kegg-bin/show_pathway?map00190



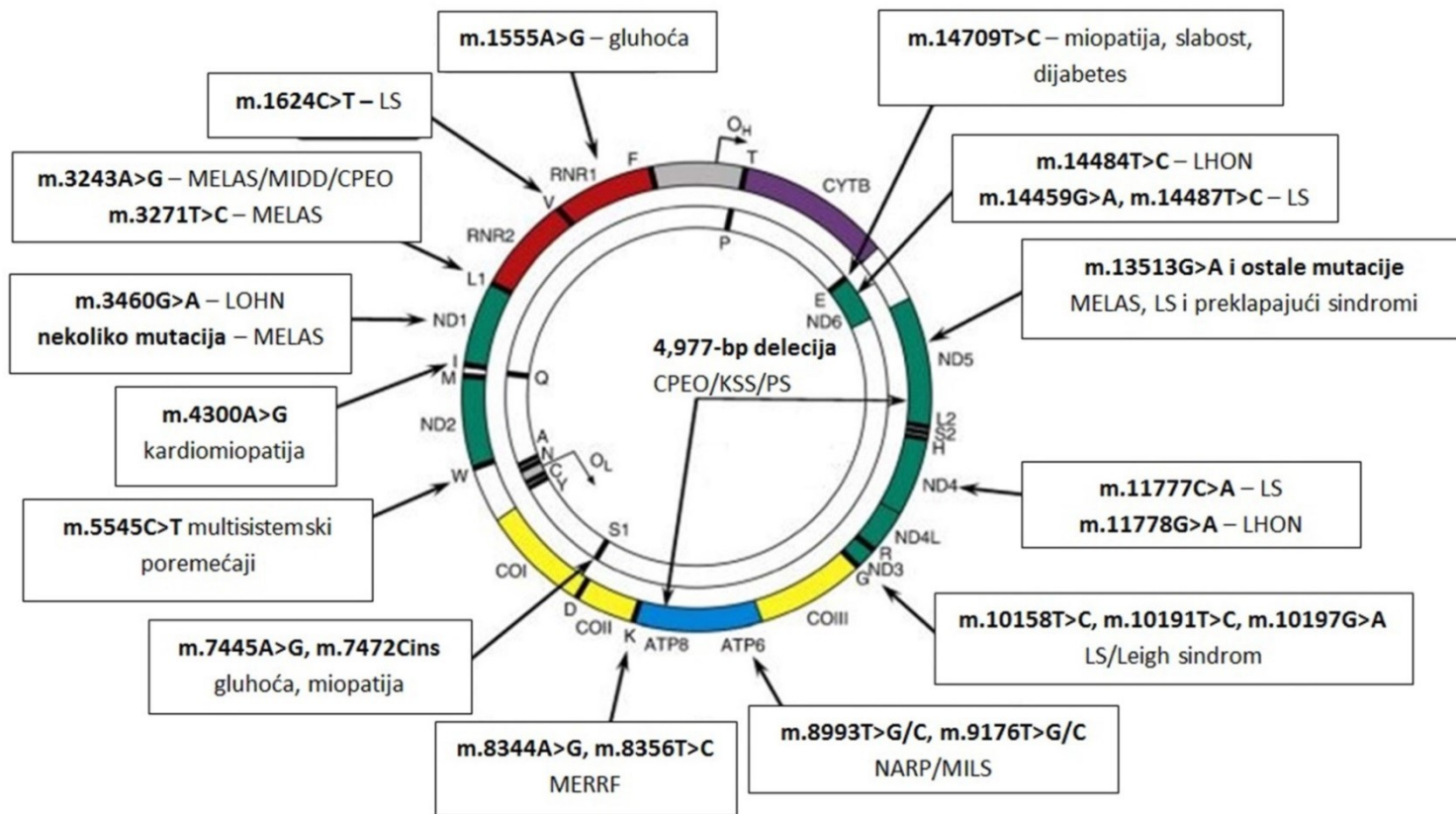
Velik broj identičnih kopija mtDNA

mtDNA sekvencirana je 1981. (tzv. Cambridge referentna sekvenca), a prva mutacija mtDNA čovjeka sa patološkim posljedicama otkrivena 1988.



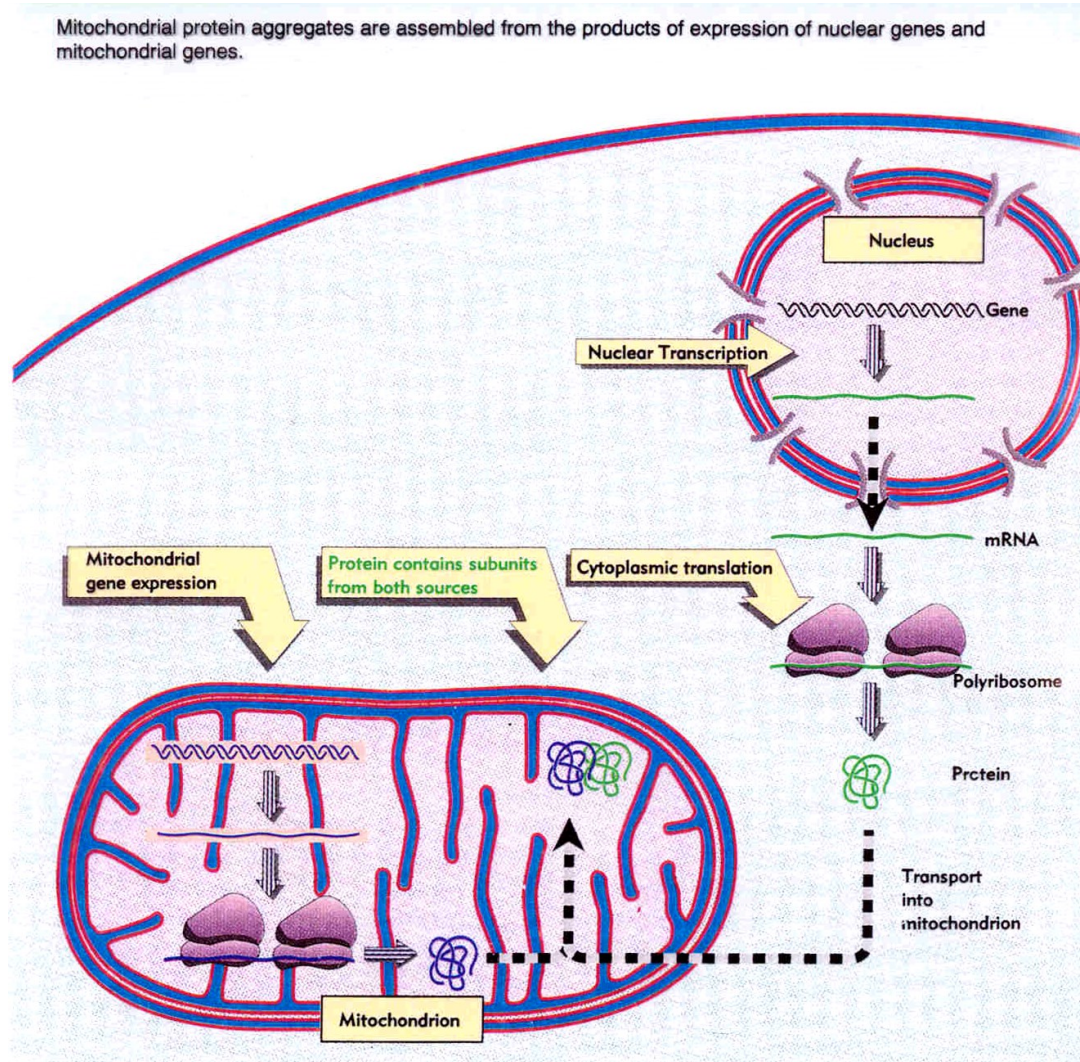
Humana mtDNA organizirana je u 13 genskih regija koje kodiraju proteine podjedinica respiratornog lanca, a one uključuju gen za citokrom b, gene za 3 podjedinice citokrom oksidaze i gen za jednu podjedinicu ATPaze, te gene za 7 podjedinica NADH dehidrogenaze. Osim ovih gena sadrži i 22 gena za tRNA i 2 za rRNA. Na mtDNA postoje i 2 hipervarijabilna područja koja pokazuju veliku raznolikost.

Iako mitohondrijska DNA (mtDNA) **sadrži samo 37 gena**, promjene mtDNA danas su funkcionalno i genetički vezane uz čitav niz bolesti čovjeka.

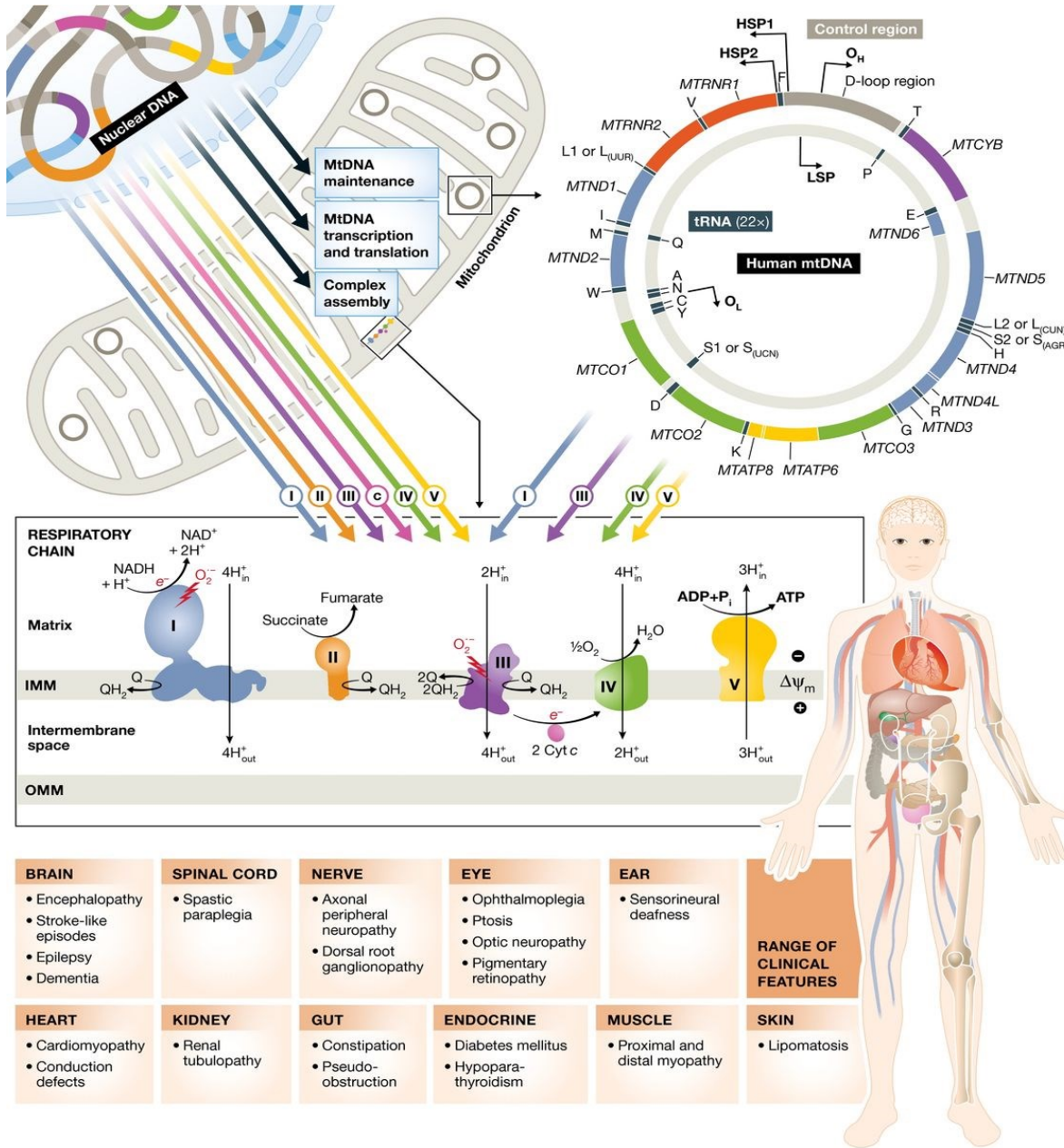


Mitohondrijska DNA i mitohondrijskih bolesti u ljudi. Prikazane su najpoznatije mutacije koje uzrokuju mitohondrijske bolesti. CPEO (chronic progressive external ophthalmoplegia)-kronična progresivna vanjska oftalmoplegija; LHON (Leber hereditary optic neuropathy)-Leberova hereditarna optička neuropatija; LS (Leigh syndrome)-Leighov sindrom; MELAS (mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis, and stroke-like episodes)-mitohondrijska miopatija, encefalopatija, laktična acidoza, epizode slične moždanom udaru; MERRF (myoclonic epilepsy and ragged red fibres)-mioklonična epilepsija i crvena pokidana vlakna; MILS (maternally inherited Leigh syndrome)-Leighov sindrom naslijeđen od majke; NARP (neurogenic weakness, ataxia, and retinitis pigmentosa)-neurogenska slabost, ataksija i retinitis pigmentosa; PS (Pearson syndrome)-Pearsonov sindrom. (Prilagođeno prema Tuppen i sur. Biochim Biophys Acta 2010;1797:113-28).

Jedan od razloga velike kompleksnosti i heterogenosti mitohondrijskih bolesti svakako je uključenost obaju genoma, i mitohondrijskog i jezgrinog, u njihov nastanak. Oko 10% proteina ove organele sintetizira se u mitohondriju, a ostatak proteina mora se transportirati iz citosola u organelu. Proteini sintetizirani u citosolu po uputi jezgrine DNA ulaze u mitohondrij posttranslacijskim procesima.



Mitochondrial biogenesis and the clinical features of mitochondrial disease in adults



Mutacije mtDNA uzrokuju nasljedne mitohondrijske bolesti. To su rijetki sindromi uzrokovani oštećenjima brojnih tkiva. Tkivna oštećenja slijede redosljed osjetljivosti tkiva na energetske manjak. Najčešća su oštećenja očnog živca i SŽS, zatim skeletnih mišića i srca, stanica gušterače, bubrega i jetre. Za razliku od nasljednih, stečena oštećenja mitohondrija poglavito nastaju učinkom slobodnih radikala kisika.

Mitohondrijske bolesti mogu se javiti u svakoj životnoj dekadi, s time da su one koje se javljaju u djetinjstvu uzrokovane recesivnim mutacijama gena jezgre teške i progresivne. Pojava u odraslih osoba uzrokovana je pretežno mutacijama mtDNA. Kombinacija slijedećih simptoma sugerira na mitohondrijsku bolest. Vrlo je malo specifičnih simptoma. Neki bolesnici imati će samo neke od dolje navedenih simptoma, dok će drugi razviti multisistemske bolesti. Preporuka je posumnjati na mitohondrijsku bolest kada su zahvaćena tri ili više organska sustava.

Simptomi koji jako upućuju	Mišić	bol, grčenje, hipotonija, rasčupana crvena vlakna ('ragged red fibers'), nedostatak citokrom oksidaze, progresivna vanjska oftalmoplegija, ptoza
	Metabolizam	povišena razina laktata u cerebrospinalnom likvoru, laktacidoza u krvi
	Mozak	magnetna rezonanca otkriva hiperintenzivna područja na T2/FLAIR sekvenci u području bazalnih ganglija, infarkti često u parieto-okcipitalnoj regiji. Kalcifikacija bazalnih ganglija. Hemipareza i/ili hemianopija. Demencija, zaostajanje u razvoju; migrene, napadaji
	Oko	pigmentna retinopatija, gubitak vida, ptoza, oftalmoplegija
	Srce	kardiomiopatija bez vidljivog uzroka, srčani blok
	Bubreg	oštećenja tubula, renalna tubularna acidoza
	Krv	sideroblastična anemija sa vakuoliziranim eritrocitnim i leukocitnim prekursorima
Simptomi koji se mogu vezati uz mitohondrijsku bolest	Mozak	demencija, mioklonus, ataksija, fokalni napadaji, glavobolje
	Oko	katarakta, atrofija optičkog živca
	Uho	gluhoća slušnog živca
	Gušterača	disfunkcija egzokrine gušterače
	Probavni sustav	atrofija resica, epizodno povraćanje, gastrointestinalni problemi
	Endokrini sustav	diabetes (oba tipa I i II), hipoparatiroidizam, nedostatak hormona rasta
	Koštana srž	sideroblastična anemija, vakuolizacija, pancitopenija
	Jetra	disfunkcije jetre bez drugog objašnjenja, hipoglikemija

DIJAGNOSTICIRANJE PREDSTAVLJA IZAZOV!

Klinička slika

Molekularna abnormalnost

Leighov sindrom

bolest koja nastaje zbog deficita oksidativnog metabolizma uzrokovanog mutacijama u mitohondrijskoj ili jezgri DNA. Mutacije mitohondrijske DNA slijedeće su točkaste mutacije: m.8993T>C, m.8993T>G, m.10158T>C i m.10191T>C. Mutacija na mjestu 8993, sa zamjenom T>C/G u mtDNA se nalazi u genu MTATP6 koji kodira za ATP sintazu 6. Druga poznata mutacija mtDNA je ona u gena za NADH dehidrogenazu 3.

Kearns-Sayreov sindrom

Uzrok nastanka bolesti velike su sporadične pojedinačne delecija u mitohondrijskog genoma koje obuhvaćaju od 1000 do 10000 nukleotida. Najčešća delecija, koja se javlja u jedne trećine oboljelih od Kearns-Sayreovog sindroma, zahvaća 4997 nukleotida, odnosno 12 mitohondrijskih gena.

Pearsonov sindrom

velike delecije kao u KSS.

Leberova nasljedna optička neuropatija (LHON)

Bolest je uzrokovana točkastim mutacijama mitohondrijske DNA. Najčešće mutacije (više od 95%) su: m.11778G>A (MT-ND4 gen koji kodira 4. podjedinicu NADH dehidrogenaze), m.3460G>A (MT-ND1 gen za 1. podjedinicu NADH dehidrogenaze), i m.14484T>C (MT-ND6 gen za 6. podjedinicu NADH dehidrogenaze).

MELAS sindrom (mitochondrial encephalopathy, lactic acidosis and stroke-like episodes)

Najčešća mutacija koja pogađa 80% bolesnika sa sindromom MELAS jest točkasta mutacija m.3243A>G. Mutacija je smještena u genu MTTL1 koji kodira za mitohondrijsku tRNA. Međutim poznate su i druge mutacije u genu za ovu tRNA kao i u genima za druge mitohondrijske tRNA, te genima koji kodiraju proteine. To su mutacije: supstitucija na poziciji m.3271T>C također u genu MTTL1; m.1642G>A u genu MTTV za drugu mitohondrijsku tRNA; m.9957T>C u genu MTCO3 za citokrom oksidazu III; zatim nekoliko mutacija m.12770A>G, m.13045A>C, m.13513G>A, m.13514A>G koje se sve nalaze u genu MTND5 za podjedinicu 5 mitohondrijske NADH-dehidrogenaze. Mutacija u genu MTND1 za podjedinicu 1 mitohondrijske NADH-dehidrogenaze su m.3697G>A, m.3946G>A i m.3949T>C.

Nastavak tablice

Klinička slika

Kronična progresivna vanjska oftalmoplegija

Neuropatija, ataksija, retinitis pigmentoza (NARP)

Mioklona epilepsija s ragged-red fibers (MERRF)

Molekularna abnormalnost

Primarni genetički događaji su velike delecije mitohondrijske DNA, te mutacije u mitohondrijskim genima za tRNA ili onima koji kodiraju proteine (e.g. MTTL1, MTTI and MTND4). Točkaste mutacije koje uzrokuju kroničnu progresivnu vanjsku oftalmoplegiju su: m.3243A>G (kao i u MELAS sindromu) i m.12316G>A u genu za mitohondrijsku tRNA. Sekundarne mutacije koje uzrokuju bolest višestruke su delecije gena POLG, C10orf2, RRM2B, i SLC25A4 smještenih u jezgrinoj DNA.

NARP je kao i Leighov sindrom uzrokovan točkastom mutacijom mitohondrijske DNA, m.8993T>G u genu MT-ATP6 za ATP-sintazu 6. Opseg mitohondrija zahvaćenih mutacijom utječe na klinički fenotip i pojavu bolesti u djetinjstvu.

MERRF je uzrokovan točkastom mutacijom u mitohondrijskom genomu. Najčešća mutacija koja se javlja u 80% slučajeva jest supstitucija m.8344A>G, u genu MTTK koji kodira mitohondrijsku tRNA^{Lys}. Gubitak neurona u bolesnika sa mutacijom m.8344A>G najizraženiji je u nucleus dentatus, no zabilježen je i u mnogim drugim područjima središnjeg živčanog sustava. Rjeđe mutacije koje uzrokuju MERRF nalaze se u genima MTTL1, MTTH ili MTTS1 koji također kodiraju za tRNA.

Od vremena prve mutacija mtDNA čovjeka sa patološkim posljedicama otkrivene 1988. godine do danas, lista gena, mutacija i bolesti uzrokovanih promjenama mitohondrija svakim danom sve je duža.

Mitochondrial genes associated with mitochondrial disease

Primary mitochondrial disorders due to mitochondrial gene defects

Maternally inherited disorders

Hypertrophic cardiomyopathy, neuropathy, ATP deficiency	<i>MT-ATP8</i>
LHON	<i>MT-ND1, MT-ND4, MT-ND4L, MT-ND6, MT-CYTB</i>
Leigh syndrome	<i>MT-ND2, MT-ND3</i>
Leigh syndrome (late onset)	<i>MT-ATP6</i>
MELAS (MIDD)	<i>MT-ND1, MT-ND5, MT tRNA(Leu(UUR))</i>
MELAS (atypical)	<i>MT-RNR2</i>
MERRF	<i>MT-ND1, MT-ND5, MT tRNA(Lys)</i>
Mitochondrial myopathy	<i>MT-CYTB, MT-CO1, MT-CO2, MT-CO3, MT tRNA(Ala, Asn, Leu(CUN), Phe, Ser(AGY), Ser(UCN), Tyr)</i>
Myopathy and diabetes	<i>MT tRNA(Glu)</i>
NARP (MILS if homoplasmic)	<i>MT-ATP6</i>
Reversible COX deficiency	<i>MT tRNA(Glu)</i>
Sensorineural deafness	<i>MT-RNR1, MT tRNA(Ser(UCN))</i>

Sporadic disorders

Exercise intolerance	<i>MT-CYTB</i>
Fatal infantile encephalopathy (Leigh-like syndrome)	<i>MT-ND3</i>
CPEO	mtDNA deletion/depletion
Diabetes and deafness	mtDNA deletion
Kearns–Sayre syndrome	mtDNA deletion/depletion
Pearson syndrome	mtDNA deletion

Secondary mitochondrial disorders due to nuclear gene defects

adPEO	<i>POLG1, POLG2, ANTI, TWINKLE, TK2, DGUOK, RRM2B, DNA2, MGME1, MPV17, OPA1</i>
arPEO	<i>POLG1</i>
DOA/DOA “plus”	<i>OPA1, MFN2</i>
MNGIE	<i>TYMP</i>
POLG	<i>POLG1</i>

adPEO, autosomal-dominant progressive external ophthalmoplegia; arPEO, autosomal-recessive progressive external ophthalmoplegia; ATP, adenosine triphosphate; COX, cytochrome C oxidase; CPEO, chronic progressive external ophthalmoplegia; DOA, dominant optic atrophy; LHON, Leber hereditary optic neuropathy; MELAS, mitochondrial encephalopathy with lactic acidosis and stroke-like episodes; MIDD, maternally inherited deafness and diabetes; MERRF, myoclonic epilepsy with ragged-red fibers; mtDNA, mitochondrial DNA; NARP, neuropathy, ataxia, and retinitis pigmentosa; MILS, maternally inherited Leigh syndrome; MNGIE, mitochondrial neurogastrointestinal encephalopathy; POLG, polymerase gamma-related disease; rRNA, ribosomal RNA.

Genetic mode of inheritance is indicated by color. **Magenta**, maternal; **orange**, sporadic; **blue**, autosomal-recessive; **red**, autosomal-dominant; **purple**, autosomal-dominant or recessive.

From: Davis et al,
Mitochondrial Diseases. In:
Handbook of Clinical
Neurology, Vol. 147
Neurogenetics, Part I DH
Geschwind, HL Paulson, and
C Klein, Editors, 2018
Elsevier
<https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63233-3.00010-5>

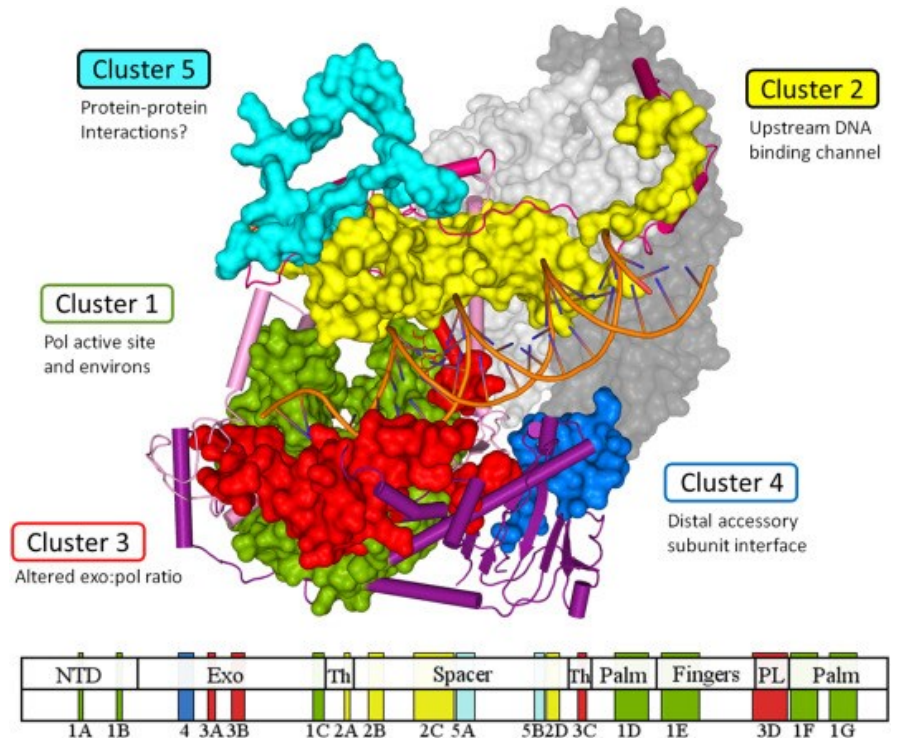
Nuclear genes associated with mitochondrial disease

	Respiratory enzyme subunits	Respiratory enzyme assembly factors	Mitochondrial DNA maintenance	
Complex I	<i>NDUFA1, 2, 9, 10, 11, 12</i>	<i>ACAD9</i>	<i>APTX, DGUOK, DNA2, MFN2, MGME1, MPV17, OPA1, TWINKLE, POLG1, POLG2, RRM2B, SUCLA2, SUCLG1, TDPI, TK2, TYMP</i>	
	<i>NDUFB3, 9</i>	<i>AIFM1</i>	Mitochondrial DNA transcription and translation	
	<i>NDUFS1, 2, 3, 4, 6, 7, 8</i>	<i>FOXRED1</i>		
Complex II	<i>SDHA, B, C, D</i>	<i>NDUFAF1, 2, 3, 4, 5, 6</i>	<i>AARS2, AFG3L2, CARS2, CLPB, DARS2, DNAJC19, EARS2, ELAC2, FARS2, GARS, GFM1, GFM2, GTPBP3, HARS2, HSP60, IARS2, KARS, LARS2, LRPPRC, MARS2, MRPL12, MRPL3, 44, MRPS7, 16, 22, MTFMT, MTO1, MTPAP, NARS2, PARS2, PNPT1, PUS1, RARS2, RMND1, RMRP, SARS2, SPG7, SPG55, TACO1, TARS2, TIMM8A, TRMU, TSFM, TUFM, VARS2, YARS2</i>	
		<i>NUBPL</i>		
Complex III	<i>UQCRB, Q</i>	<i>SDHAF1, 2</i>	Mitochondrial dynamics and membrane integrity	
Complex IV	<i>COX4I2, 6B1, 7B</i>	<i>BCS1L</i>		<i>AGK, CHKB, DLP1, GDAP1, LPIN1, MFF, MFN2, OPA1, SERAC1, TAZ</i>
		<i>HCCS</i>		
		<i>TTC19</i>		
Complex V	<i>ATP5A1, ATP5E</i>	<i>COA5</i>	Mitochondrial metabolism	
		<i>COX10, 14, 15</i>		<i>ANTI, CYCS, ETHE1, GFER, MPC1, PDHA1, SLC25A3</i>
		<i>FAM36A</i>	Mitochondrial iron homeostasis	
		<i>FASTKD2</i>		
		<i>LRPPRC</i>	Coenzyme Q10 homeostasis	
<i>SCO1, 2</i>	<i>ATPAF2</i>	<i>ADCK3, COQ2, 4, 6, 9, ETFDH, PDSS1, 2</i>		
		<i>SURF1</i>		
		<i>TMEM70</i>		

Genetic mode of inheritance is indicated by color. **Magenta**, maternal; **orange**, sporadic; **blue**, autosomal-recessive; **red**, autosomal-dominant; **purple**, autosomal-dominant or recessive; **green**, X-linked.

Pathogenicity in POLG syndromes: DNA polymerase gamma DNA polymerase gamma (POLG) is the replicative polymerase responsible for maintaining mitochondrial DNA (mtDNA). Disorders related to its functionality are a major cause of mitochondrial disease. There are currently 176 unique point mutations reported and found in mitochondrial patients in the gene encoding the catalytic subunit of POLG. The mutations are distributed nearly uniformly along the length of the primary amino acid sequence of the gene. Our analysis shows that most of the mutations are recessive. The POLG Pathogenicity Prediction Server (<http://polg.bmb.msu.edu>) is targeted at clinicians and scientists studying POLG disorders, and aims to provide the most current available information regarding the pathogenicity of POLG mutations.

Structural model of the POLG holoenzyme in complex with primer-template DNA.



<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2214647417300041>

Nurminen A, Farnum GA, Kaguni LS. Pathogenicity in POLG syndromes: DNA polymerase gamma pathogenicity prediction server and database. *BBA Clinical*, 7, 2017, Pages 147-156.

<https://doi.org/10.1016/j.bbacli.2017.04.001>

Do danas opisano je preko 300 mutacija mtDNA i rearanžmana koji uzrokuju mitohondrijske bolesti koje su povijesno klasificirane u poznate sindrome.

Baza prijavljenih mtDNA mutacija i varijanti može se naći na

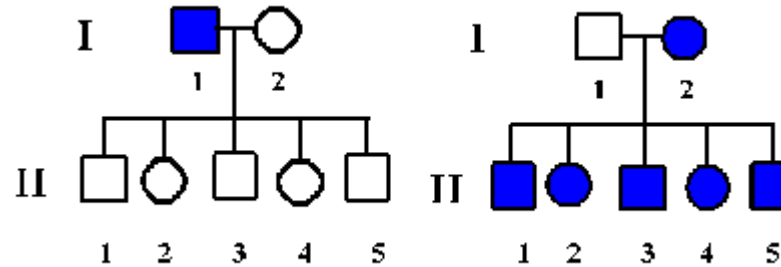
www.mitomap.org.

Razumijevanje mitohondrijske genetike dovelo je do poboljšanja dijagnostike, kao i do novih pristupa spriječavanja nasljeđivanja teških mitohondrijskih bolesti. Trenutno se dijagnoza temelji na kliničkoj slici, biokemijskim nalazima kao npr. povišene serumske razine laktata, kreatinin kinaze i alanina; zatim biopsije mišića (česti lažno negativni rezultati), kao i genskim analizama (biopsija blastomera). Obećavajući pristup detekcije mutacija svakako je sekvenciranje slijedeće generacije (Next Generation Sequencing).

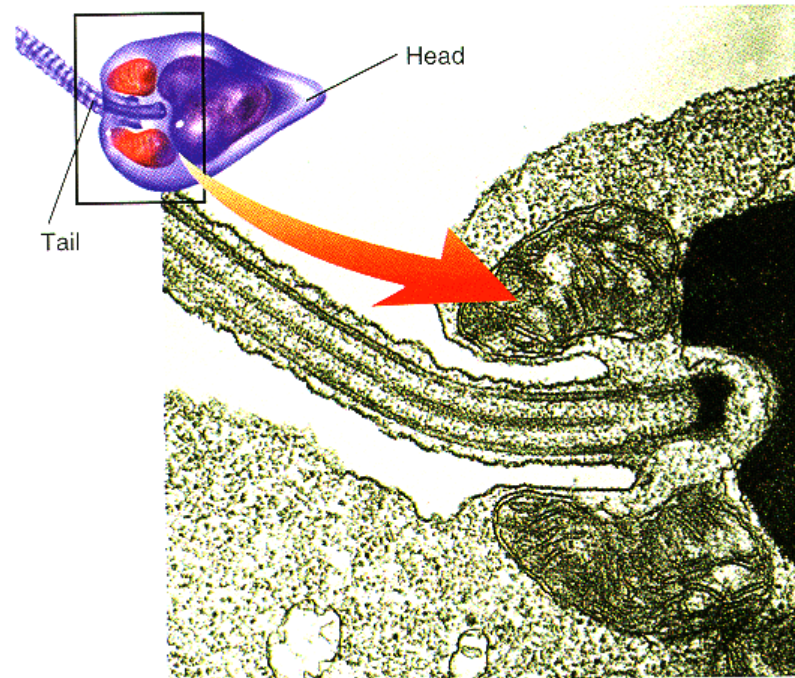
Nasljeđivanje mitohondrija i mtDNA

Spermij ~100 kopija mtDNA

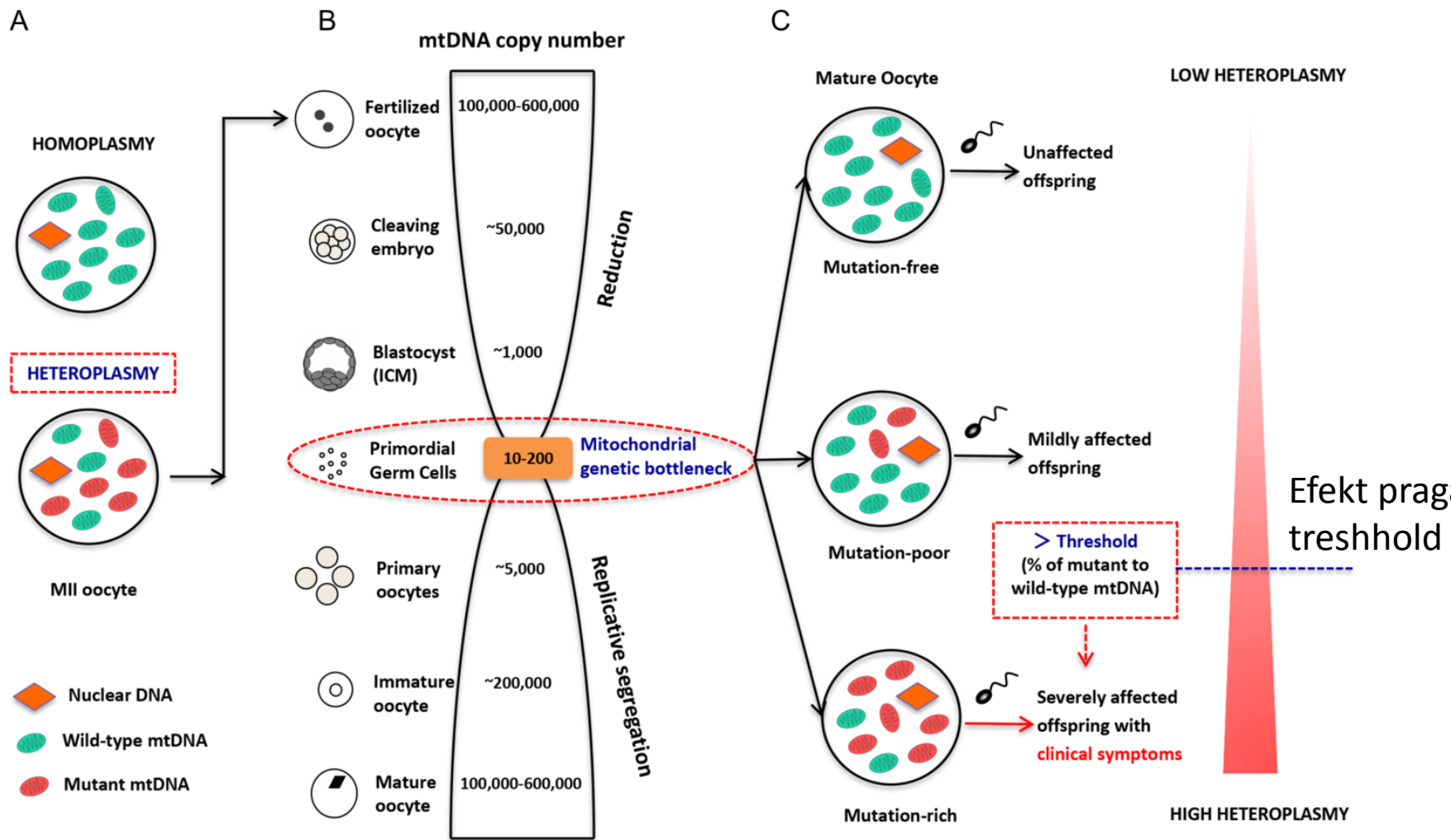
Zrela oocita >100 000–600 000 kopija mtDNA



Destrukcija očeve mtDNA
putem ubikvinacije ili lizosoma.



Mitohondrijske bolesti ne nasljeđuju se po Mendelovim zakonima, jer citoplazma zigote sadrži nekoliko stotina tisuća molekula majčine mtDNA, dok spermij unese u zigotu tek nekoliko molekula očevih mtDNA. Mehanizmi kojima se selektivno eliminiraju očevi mitohondriji još uvijek su nepoznati. Nedavna istraživanja provedena na *C. elegans* pokazala su da očevi mitohondriji ubrzano gube integritet svoje unutrašnje membrane odmah nakon fertilizacije. Pokazalo se da proces eliminacije očevih mitohondrija uvelike ovisi o mitohondrijskoj **endonukleazi G**, točnije endonukleazi CPS-6.



Iako je broj mitohondrija po stanici velik, a mtDNA po stanici broji više od 100 000 kopija, svejedno je ukupna količina mtDNA prema jezgrinoj DNA malena i iznosi manje od 1%.

From: Novel reproductive technologies to prevent mitochondrial disease

Hum Reprod Update. 2017;23(5):501-519. doi:10.1093/humupd/dmx018

Hum Reprod Update | © The Author 2017. Published by Oxford University Press on behalf of the European Society of Human Reproduction and Embryology. All rights reserved. For Permissions, please email: journals.permissions@oup.com

Vrlo je malo efektivnih terapija za mitohondrijske bolesti. Za većinu bolesnika postoji samo suportivna i simptomatska terapija. Suplementi u prehrani kao npr. koenzim Q10 i terapija tjelesnom aktivnošću spadaju u ove pristupe. Međutim u posljednjih 10 godina, u laboratorijima se razvijaju nove terapije, koje ulaze u klinička ispitivanja.

Nepersonalizirane terapije obuhvaćaju: aktivaciju biogeneze mitohondrija, regulaciju mitofagije i mitohondrijske dinamike, zaobilazanje biokemijskih grešaka, terapiju zamjene mitohondrija i hipoksiju. S druge strane personaliziranim ciljanim terapijama pripadaju: čišćenje toksičnih spojeva, deoksinukleozidna i deoksinukleotidne terapija, **terapije zamjene stanica, genske terapije**, promjene heteroplazmije mutirane mitohondrijske DNA. (Hirano M, et al. Emerging Therapies for Mitochondrial Diseases. Essays Biochem. 2018; 62(3): 467–481. doi:10.1042/EBC20170114.)



Mitochondrial DNA (mtDNA) is a multi-copy genome whose cell copy number varies depending on tissue type.

Mutations in mtDNA can cause a wide spectrum of diseases. Mutated mtDNA is often found as a subset of the total mtDNA population in a cell or tissue, a situation known as **heteroplasmy**.

Mitochondrial replacement in human oocytes carrying pathogenic mitochondrial DNA mutations

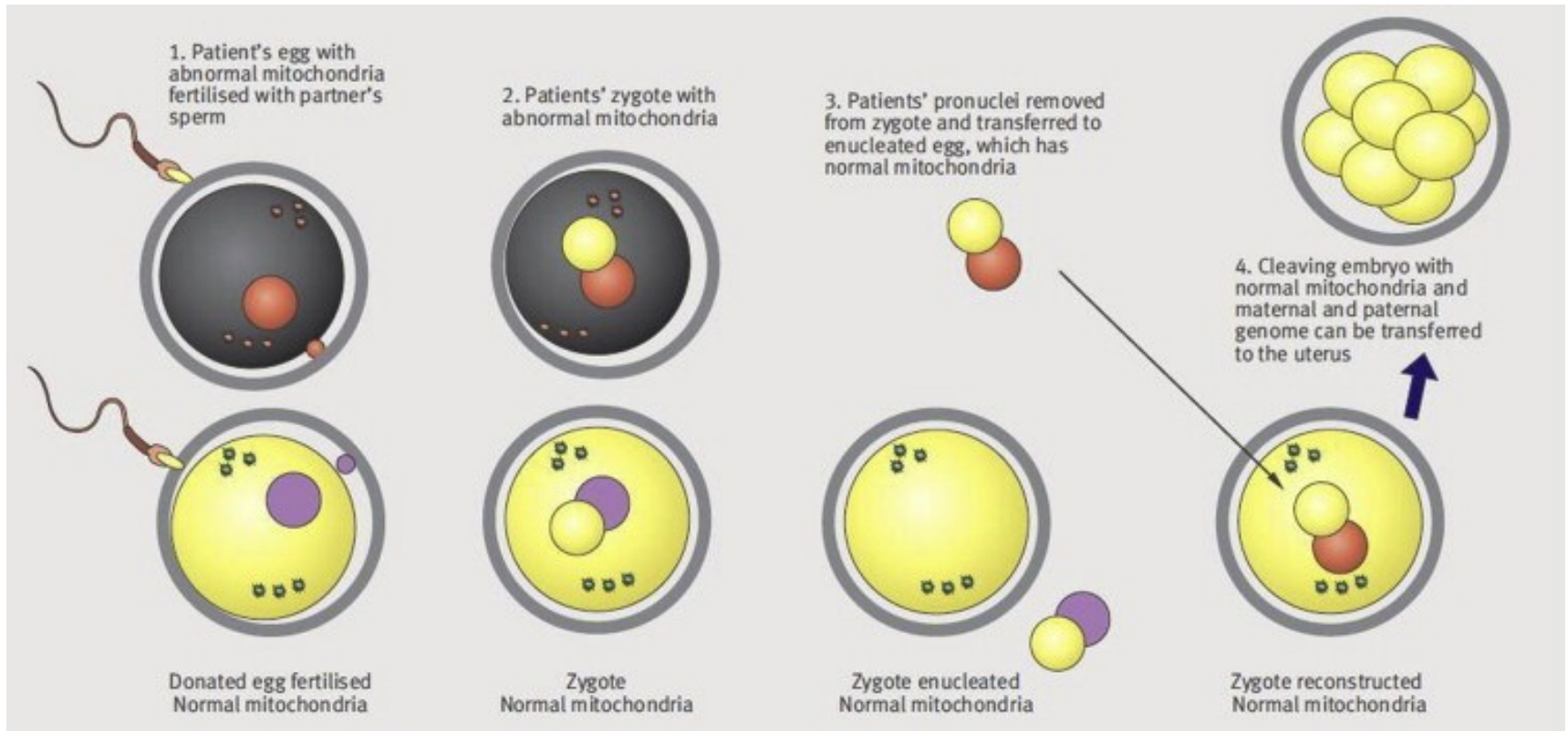
Eunju Kang^{1,2,†}, Jun Wu³, Nuria Marti Gutierrez^{1,2}, Amy Koski^{1,2}, Rebecca Tippner-Hedges^{1,2}, Karen Agaronyan⁴, Aida Platero-Luengo³, Paloma Martinez-Redondo³, Hong Ma^{1,2}, Yeonmi Lee^{1,2,†}, Tomonari Hayama^{1,2}, Crystal Van Dyken^{1,2}, Xinjian Wang⁵, Shiyu Luo⁵, Riffat Ahmed^{1,2}, Ying Li^{1,2}, Dongmei Ji^{1,6}, Refik Kayali⁷, Cengiz Cinnioglu⁷, Susan Olson⁸, Jeffrey Jensen⁹, David Battaglia⁹, David Lee⁹, Diana Wu⁹, Taosheng Huang⁵, Don P. Wolf^{1,2}, Dmitry Temiakov⁴, Juan Carlos Izpisua Belmonte³, Paula Amato⁹ & Shoukhrat Mitalipov^{1,2,9,10,11}

Maternally inherited mitochondrial (mt)DNA mutations can cause fatal or severely debilitating syndromes in children¹⁻³, with disease severity dependent on the specific gene mutation and the ratio of mutant to wild-type mtDNA (heteroplasmy) in each cell and tissue⁴. Pathogenic mtDNA mutations are relatively common, with an estimated 778 affected cl

heteroplasmy in blood and 100% in skin fibroblasts, while in a second 1-year-old asymptomatic sibling, the mutation load was 50% in blood and 62% in skin fibroblasts. Their 23-year-old mother, who is the elder sister of the subject from the first family, carried this mutation at 13% in blood and 16% in skin fibroblasts (Fig. 1a, left). In the third Leigh 1-year-old boy had a G13513A substi-



Three-parent in vitro fertilization: gene replacement for the prevention of inherited mitochondrial diseases

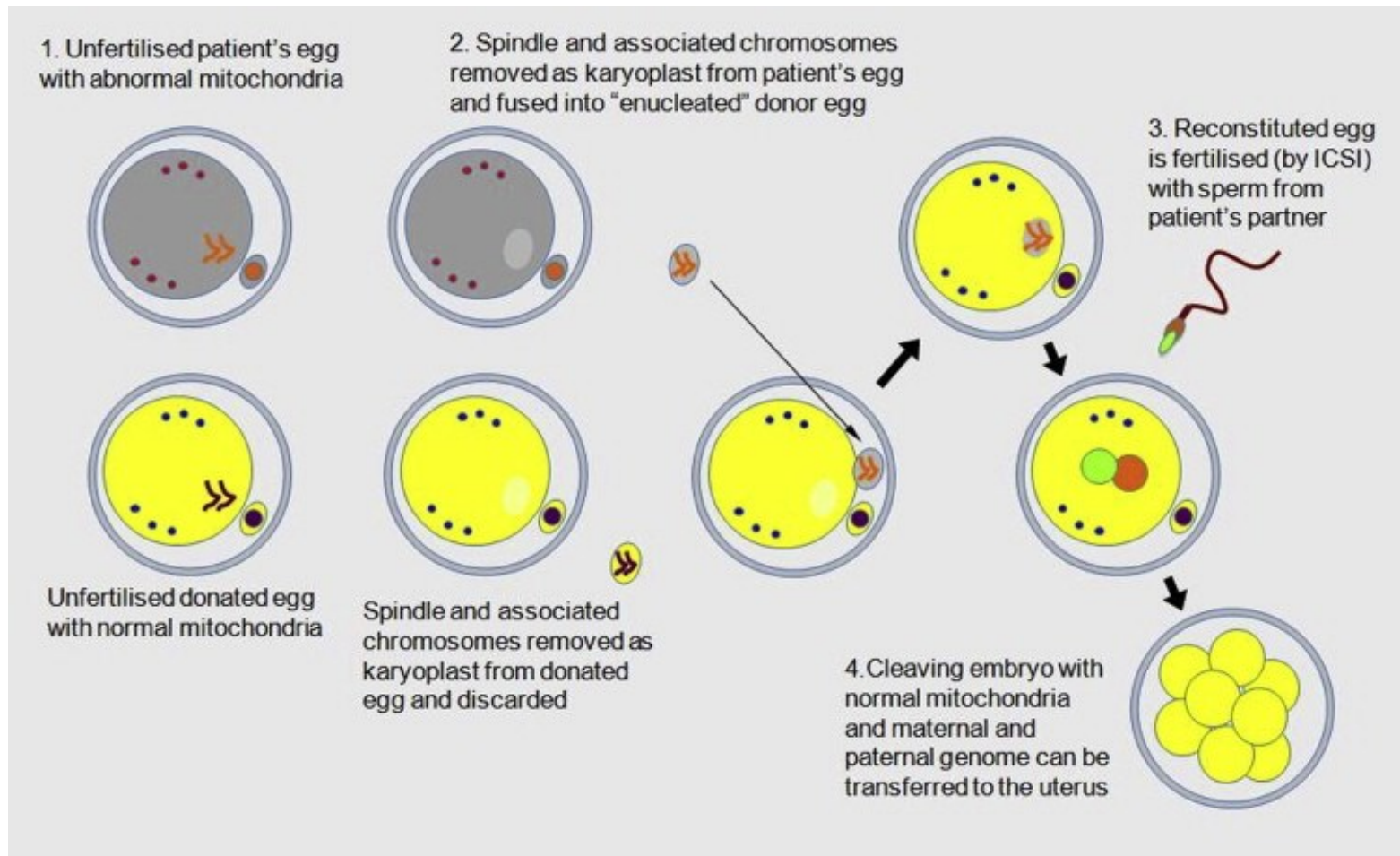


Tehnike transfera pronukleusa (Pronuclear transfer technique) bazirane na metodi transfera u mišjim zigotama (McGrath J, Solter D. Nuclear transplantation in the mouse embryo by microsurgery and cell fusion. Science 1983; 220:1300–1302.

From: Fertility and Sterility. Amato, Paula, M.D.; Tachibana, Masahito, M.D., Ph.D.... ; Sparman, Michelle, M.S.; Mitalipov, Shoukhrat, Ph.D.. Published January 1, 2014. Volume 101, Issue 1. Pages 31-35. © 2014.

HIGHLY TRAINED EMBRYOLOGIST!

Spindle transfer technique

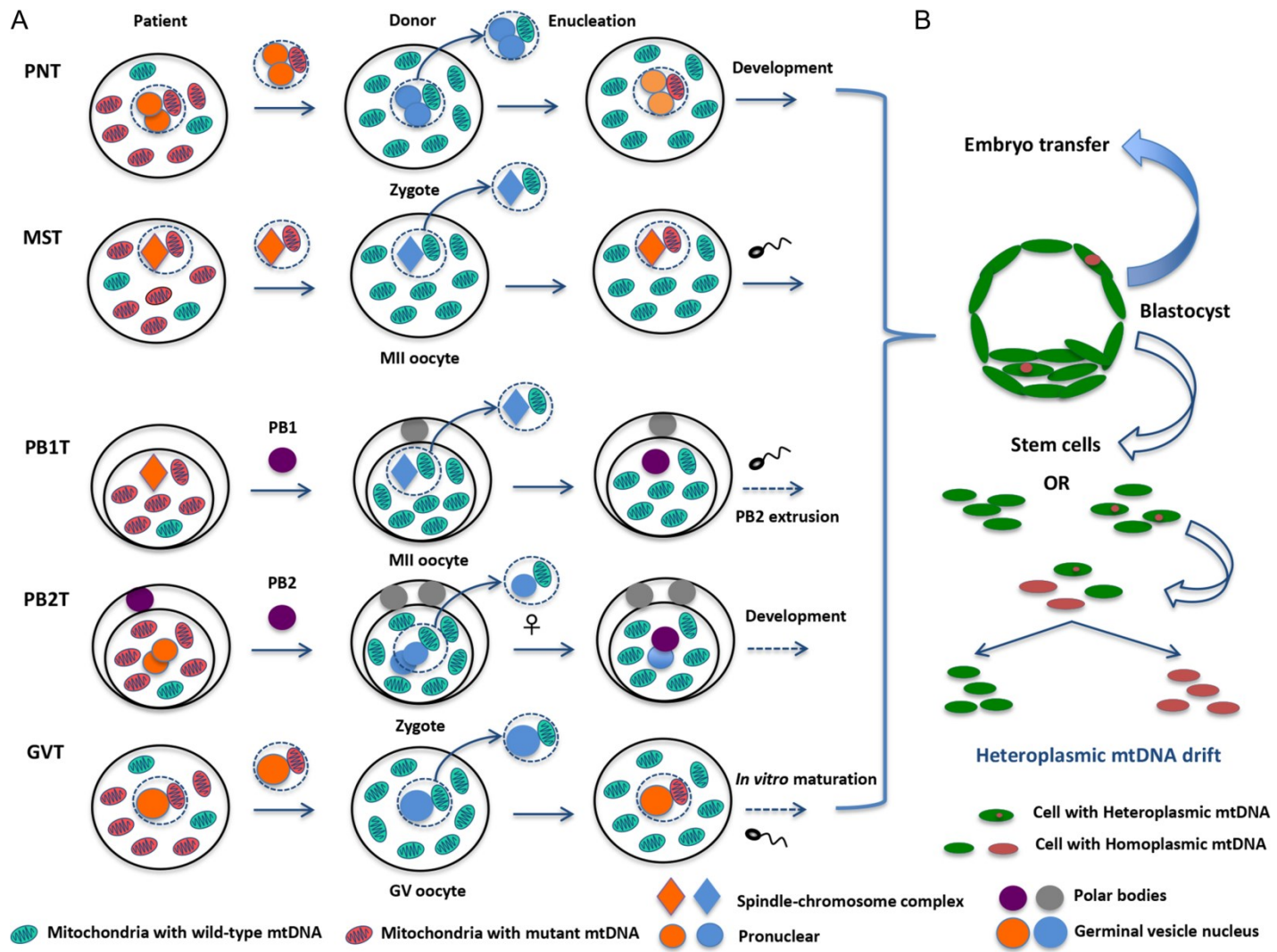


<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24382342>

Spindle transfer technique. Maternal spindle or metaphase II (MII) spindle-chromosome complex formira se u oociti tijekom druge mejotičke diobe.

Image reproduced from www.hfea.gov.uk/6372.html , with permission.

More recently, mitochondrial donation (MD) has become a credible alternative. MD techniques include pronuclear transfer (PNT), maternal spindle transfer (MST), polar body transfer and germinal vesicle transfer (GVT). PNT and MST are the most extensively studied MD techniques and have been legally approved for use in the U.K.



GV is the nucleus of an immature oocyte arrested in prophase I of the first meiosis.

H  **P** **E**

Mitochondrial Disease Awareness Week
September 16 - 22, 2018



<http://www.mitoaction.org/awarenessgraphics>