

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI



**MİTOKONDRIYAL HASTALIKLARDA RETROSPEKTİF
DEĞERLENDİRME İLE FENOTİP, GENOTİP İLİŞKİSİNİN
BELİRLENMESİ**

(Tıpta Uzmanlık Tezi)
Dr. Fulya Özdemircioğlu

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Gülden Fatma Gökçay

İSTANBUL
(2020)



İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI



**MİTOKONDRIYAL HASTALIKLARDA RETROSPEKTİF
DEĞERLENDİRME İLE FENOTİP, GENOTİP İLİŞKİSİNİN
BELİRLENMESİ**

(Tıpta Uzmanlık Tezi)
Dr. Fulya Özdemircioğlu

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Gülden Fatma Gökçay

İSTANBUL
(2020)

ÖNSÖZ

Tıpta uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım başta Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Zeynep Karakaş olmak üzere, İTF Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı ve Çocuk Sağlığı Enstitüsü'nün tüm saygıdeğer öğretim üyelerine,

Bu meslekteki duruşuyla, bilgi ve tecrübesiyle, hastalarına verdiği büyük kıymet ile bana örnek olan ve birlikte çalıştığımız tez hazırlama sürecinde, yükselen heyecanımı her zaman sakin bir çalışma motivasyonuna çevirmemi sağlayan, yaklaşımı ile hayatıma yaptığı büyük katkılarından dolayı saygıdeğer tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Gülden Fatma Gökçay'a,

Tezimi tamamlama sürecimde yardımını esirgemeyen başta Uzm. Dr. Meryem Karaca olmak üzere, tüm Beslenme ve Metabolizma Bilim Dalı yan dal uzmanlık asistanlarına, desteği için hemşiremiz Narin Burmacı'ya, çalışmanın en büyük yükünü taşıyan beni asla kırmayan canım abim Rafet Demir'e, genetiğin günümüz felsefesini anlamama ışık tutan Doç. Dr Asuman Gedikbaşı'na,

İTF Beslenme ve Metabolizma Bilim Dalı'ndan mezun olan ancak; asistanlığımın ilk yıllarında bana çok yabancı olan bu bilimi sevmemi ve benimsememi sağlayan Uzm. Dr. Seda Güneş ve Uzm. Dr. Dilek Kürkçü Güneş'e,

Asistanlık sürecimin büyük kısmını geçirdiğim Çocuk Yoğun Bakım Ünitesi'nde; iyi günde, kötü günde yanımda olan, bana hem bu mesleği hem hayatı öğreten, işine olan bağlılığına, hastalarını iyi etme ve hastalıkları ezip geçme konusundaki azmine her zaman hayran olacağım ve örnek alacağım, onu anmadığım bir an dahi olmayacağına şimdiden emin olduğum Sayın Prof. Dr. Demet Demirkol'a,

Bu branşı seçtiğimizde henüz taze birer hekim iken, attığımız bu adımla birlikte bana yol arkadaşlığı yapan bütün asistan arkadaşlarıma, uzman abilerime, uzman ablalarımıza, işini hakkıyla yapan tecrübeli hemşirelerimize, emektar personellerimize, zor zamanlarımda yüzümü güldüren iyi niyetli sekreterlerimize, özverili diyetisyenlerimize ve maharetli mama mutfağı çalışanlarına,

Bugünlere gelmemi sağlayan, yaptıkları fedakarlıkları asla unutmayacağım, umutsuzluğumda umut, düştüğümde omuz, yaralarımın her zaman şifa olan en büyük desteğim canım aileme; babam Veysel Özdemircioğlu'na, annem Yüksel Özdemircioğlu'na ve üzerimde büyük hayalleri olan ablam Funda Akkanat ile eşi Orhan Akkanat'a,

Bana hiç bilmeden iyi gelen, hayatıma anlam katan iki gözümün iki çiçeği canım yeğenlerim Mert Akkanat ve Nehir Akkanat'a,

Teşekkür etmeyi bir borç bilirim, siz olmasaydınız olmazdı.

Dr. Fulya Özdemircioğlu

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER.....	II
KISALTMALAR.....	III
TABLolar LİSTESİ.....	VII
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	IX
ÖZET.....	1
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	5
2. GENEL BİLGİLER.....	6
2.1 Tarihçe.....	6
2.2 Epidemiyoloji.....	7
2.3 Mitokondrinin Yapısı.....	8
2.4 Mitokondrinin İşlevleri.....	9
2.5 Mitokondriyal Genetik.....	12
2.6 Mitokondriyal Hastalıkların Semptomları ve Sistemik Bulguları.....	18
2.7 Mitokondriyal DNA ilişkili Mitokondriyal Hastalıklar.....	21
2.8 Nükleer DNA ilişkili Mitokondriyal Hastalıklar.....	27
2.9 Laboratuvar ve Radyolojik Bulgular.....	30
2.10 Histopatolojik Bulgular.....	31
2.11 Solunum Zinciri Enzim Aktiviteleri.....	32
2.13 Prenatal Tanı ve Genetik Danışmanlık.....	34
2.14 Mitokondriyal Hastalık Tanı Kriterleri.....	35
2.15 Tedavi.....	35
3. MATERYAL METOD.....	39
4. BULGULAR.....	42
5. TARTIŞMA.....	63
6. SONUÇLAR.....	78
7. KAYNAKÇA.....	85
8. EKLER.....	100

KISALTMALAR

ACMG	“American College of Medical Genetics”
AD	Anabilim Dalı
ADP	Adenozin trifosfat
ALT	Alanin aminotransferaz
Asetil KoA	Asetil koenzim A
ATP	Adenozin trifosfat
cDNA	Sirküler DNA
CK	Kreatin kinaz
CO₂	Karbondioksit
CoQ10	Koenzim Q10
COX	Sitokrom c oksidaz
CPEO	Kronik progresif eksternal oftalmopleji
CRISPR	Kümelenmiş düzenli aralıklı kısa palindromik tekrarlar
DGUOK	Deoksiguanozin kinaz
DM	Diyabetes mellitus
DNA	Deoksiribonükleik asit
dNTP	Deoksiribonükleozid trifosfat
EEG	Elektroensefalografi
EKG	Elektrokardiyografi
EKO	Ekokardiyografi
EMG	Elektromiyografi
ERG	Elektroretinogram

FAD	Flavin adenin dinükleotid
FGF21	Fibroblast büyüme faktörü 21
FMN	Flavin mononükleotid
GDF15	Büyüme farklılaşma faktörü
GDP	Güanozin difosfat
HGMD	“Human Gene Mutation Database”
HSP70	Isı şok proteini 70
KMFSS	Kaba motor fonksiyon sınıflandırma sistemi
KSS	Kearns-Sayre sendromu
L/P oranı	Laktat / Pirüvat oranı
LHON	Leber’in herediter optik nöropatisi
LIMM	Letal infantil mitokondriyal miyopati
MDS	Mitokondriyal deplesyon sendromları
MELAS	Mitokondriyal miyopati, ensefalopati, laktik asidoz ve inme benzeri ataklar
MERRF	Miyoklonik epilepsi ve “red ragged fibers”
MGME1	Mitokondriyal genom onarım ekzonükleaz 1
MINGIE	Mitokondriyal nörogastrointestinal ensefalopati
MPP	Mitokondri yapıcı peptidaz, “mitochondrial processing peptidase”
MPV17	Mitokondri iç membran proteini 17
MR	Manyetik rezonans
MRS	Manyetik rezonans spektroskopisi
MSS	Merkezi sinir sistemi
mtDNA	Mitokondriyal deoksiribonükleik asit

mTORC1	Mitokondriyal TORC1
NAA	N-asetil aspartat
NADH	Nikotinamid adenin dinükleotid
NARP	Nöropati, ataksi ve retinitis pigmentoza
nDNA	Nükleer deoksiribonükleik asit
NGS	Nazogastrik sonda
OAE	Oto akustik emisyon
OD	Otozomal dominant
OR	Otozomal resesif
PDH	Piruvat dehidrojenaz
PEG	Perkütan enterogastrostomi
PEO	Progresif eksternal oftalmopleji
PMSG	Psikomotor sosyal gerilik
POLG	Deoksiribonükleik asit polimeraz gama
POLMRT	Mitokondriyal ribonükleik asit polimeraz
PZR	Polimeraz zincir reaksiyonu
RITOLS	Ribonükleotid geçişli zincir sistemi
RNA	Ribonükleik asit
RRF	Kırmızı düzensiz lifler, “red ragged fibers”
RRM2B	Ribonükleotid redüktaz M2B alt birimi
rRNA	Ribozomal ribonükleik asit
SDH	Süksinat dehidrojenaz
SS	Standart sapma
SUCLA2	Adenozin difosfat - süksinil KoA ligaz alfa alt birimi

SUCLG1	Guanozin difosfat - süksinil KoA ligaz alfa alt birimi
TCA	Trikarboksilik asit
TED	Tüm ekzom dizileme
TFAM	Transkripsiyon faktörü A
TGD	Tüm genom dizileme
TIM	İç membran translokaz
TK2	Timidin kinaz 2
TOM	Dış membran translokaz
tRNA	Transfer ribonükleik asit
TYMP	Timidin fosforilaz
USG	Ultrasonografi
UV	Ultraviyole
VEP	Görsel uyarılmış potansiyel
YND	Yeni nesil dizileme

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo No	Tablo Adı	Sayfa
Tablo 4.1	Dosyası incelenip çalışmaya alınmayanlar ve nedenleri	42
Tablo 4.2	Çalışma grubunun demografik özellikleri	43
Tablo 4.3	Çalışma grubunun demografik özellikleri -2	44
Tablo 4.4	İlk klinik bulgu görülme yaşı ile demografik bilgilerin değerlendirilmesi	45
Tablo 4.5	İlk klinik bulgu görülme yaşı ile demografik bilgilerin değerlendirilmesi - 2	45
Tablo 4.6	Çalışma grubundaki hastaların farklı sistem tutulumlarına göre etkilenme durumları ve oranları	46
Tablo 4.7	Çalışma grubundaki hastaların kas, merkezi ve periferik sinir sistemi semptomları	47
Tablo 4.8	Çalışma grubundaki hastaların mental durumlarının ve motor fonksiyon kabiliyetlerinin değerlendirmesi	48
Tablo 4.9	Çalışma grubunda kardiyak, endokrin, gastrointestinal, böbrek, hematoloji ve deri tutulumu sıklığı ve bulgularının değerlendirilmesi	49
Tablo 4.10	Çalışma grubunda göz ve işitme problemi olan hastaların bulgularının ve görülme sıklığının değerlendirmesi	50
Tablo 4.11	Çalışma grubundaki hastaların biyokimyasal değerlerinin incelenmesi	51
Tablo 4.12	Çalışma grubundaki hastaların metabolik tetkik sonuçlarının incelenmesi	52
Tablo 4.13	Çalışma grubundaki hastaların kraniyal MR ve MRS ile nöroradyolojik değerlendirme bulguları	52
Tablo 4.14	Çalışma grubundaki hastaların kas biyopsisi ile histopatolojik değerlendirme sonuçları	53
Tablo 4.15	Çalışma grubunda kas biyopsi ile histopatolojik değerlendirme sonucu mitokondriyal miyopati ile uyumlu bulguları saptanan hastaların fenotip ve genotip özellikleri	54

Tablo 4.16	Çalışma grubunda solunum zinciri enzim aktivitelerinde hastalık ile uyumlu kompleks ve PDH aktivitelerinde düşüklük saptanan hastaların fenotip ve genotip özelliklerine göre değerlendirilmesi	57
Tablo 4.17	Çalışma grubundaki hastalarda tanımlanan mitokondriyal sendromlar	59
Tablo 4.18	Genotip fenotip ilişkisinin değerlendirilmesi	61



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil	Şekil Adı	Sayfa
2.1	Mitokondrinin yapısı	8
2.2	Hücre içi enerji döngüsü ve sitrik asit döngüsü	10
2.3	Solunum zinciri enzim kompleksleri	12
2.4	Solunum zinciri enzim komplekslerinde enerji akışı	12
2.5	Mitokondriyal DNA, kodladığı genler ve yapılar	14
2.6	Nükleer DNA tarafından kodlanan mitokondrinin yapısına katılan ya da mitokondride görev alan proteinleri kodlayan gen bölgeleri	15
2.7	Mitokondriyal hastalıklarda semptom ve sistemik bulgular	18
2.8	Mitokondriyal hastalık ilişkili mutasyon bildirilen gen bölgeleri	29



ÖZET

Mitokondriyal Hastalıklarda Retrospektif Değerlendirme ile Fenotip, Genotip ilişkisinin Belirlenmesi

Giriş: Mitokondriyal hastalıklar, kalıtsal metabolik hastalıkların önemli bir bölümünü oluşturan, mitokondriyal solunum zinciri fonksiyon bozukluğu sonucu oksidatif fosforilasyon ve ATP üretiminde aksama ile seyreden, klinik ve genetik heterojenitesi nedeniyle tanı konması oldukça zor bir hastalık grubudur. Mitokondriyal DNA veya nükleer DNA'daki mutasyonlar, belirli bir elektron taşıma zinciri kompleksinin eksikliğine veya transkripsiyon, translasyon yoluyla mitokondriyal disfonksiyona neden olabilir. Tanıda klinik, laboratuvar, radyolojik bulgular, kas, karaciğer, fibroblast gibi doku örneklerinde histopatolojik ve enzimatik değerlendirme ile moleküler yöntemler yol göstericidir.

Amaç: Çalışmamızda mitokondriyal hastalıklarda; demografik, klinik, biyokimyasal, radyolojik görüntüleme, histopatolojik ve enzimatik değerlendirme bulgularının retrospektif olarak değerlendirilmesi, moleküler analiz yöntemi ile mitokondriyal solunum zincir bozukluğu gösterilmiş hastalarda fenotip, genotip ilişkisinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Yöntem ve Bulgular: İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Beslenme ve Metabolizma Bilim Dalı Polikliniği'nde Ocak 1990 - Aralık 2020 tarihleri arasında mitokondriyal hastalık tanısı ile izlenen 240 hastanın verilerinin hastane otomasyon sistemi kayıtları ve dosya bilgilerinden ulaşılarak değerlendirmesi planlandı. 27 hasta yeterli tetkik ve izleminin olmaması ya da izlem sürecinde başka tanılar konulması nedeniyle çalışmaya dahil edilmedi. Çalışmaya alınan 213 hastanın, başvuru yaşı ortalaması: 4.5 ± 6.8 yıl (dağılım: 0 – 44 yıl), izlem süresi ortalaması: 5.5 ± 5.9 yıl (dağılım: 0 – 33 yıl), güncel yaş ortalaması: 16.6 ± 11.3 yıl (dağılım: 1.3 – 60.7 yıl) idi. Hastaların %45'i kız, %54.5'i erkek, erkek/kız oranı 1.2'ydi. İlk klinik bulgu görülme yaşı en sık 1-12 ay dönemindeydi. Hastaların %55.8'inde akraba evliliği öyküsü mevcuttu. Mortalite oranı %14.4, ölüm yaş ortalaması: 2.5 ± 2.8 yıl (dağılım: 0.04 – 7.7 yıl) idi. Hastaların %91.5'i multisistem tutulumlu olup, en sık kas (%88.6) ve merkezi sinir sistemi (%80.5) tutulumu görüldü. Hastaların %17.4'ünde kalp tutulumu mevcut olup, %91'ini kardiyomiyopati oluşturuyordu. Hastaların %17.6'sında göz tutulumu olup, bunların %38'inde optik atrofi olduğu gösterildi. Laboratuvar bulgularında en sık %72.2 laktat, %51.1'inde alanin yüksekliği, %39.4'ünde metabolik asidoz görüldü. Kraniyal MR görüntülemeye; en sık %50.3 bazal gangliyonlarda

sinyal artışı ve 2. sıklıkta %11.4 atrofi görüldü. Kas biyopsisi ile histopatolojik değerlendirmede 164 hastadan %68.3'ünde hastalık ile uyumlu değişiklikler, %46.3'ünde lipit birikim miyopatisi, %20.7'sinde mitokondriyal miyopati, %1.2'sinde “red ragged fibres” görüldü. Solunum zinciri enzim aktivitesi değerlendirilen 61 hastanın %55.7'sinde kompleks aktivitetlerinde azalma, en sık izole kompleks I ve izole kompleks IV eksiklikleri görüldü. Moleküler analiz ile değerlendirilen 104 hastadan 31'inde (%29.8) hastalık ile ilişkili gen değişikliği; 8'inde mtDNA, 23'ünde nDNA değişimleri saptanmıştı. 213 hastanın 47 (%22)'sinde Leigh, LHON, MELAS, Kearns Sayre, Pearson sendromu, MINGIE gibi tanımlanmış mitokondriyal sendromlar ve en sık %53.1 (n=25) ile Leigh sendromunun görüldüğü gösterildi. Toplumda nadir görülen ve hastalık ile ilişkili olduğu düşünülen varyantlar çalışmaya dahil edildi. Hastaların fenotip özelliklerinin literatürdeki genetik verilerle uyumlu olduğu görüldü.

Sonuç: Hastaların klinik değerlendirmesi ile fenotip özelliklerinin belirlenmesi ve genotip korelasyonunun incelenmesi tanıda yol gösterici olmakla beraber, mitokondriyal hastalığın heterojen bir hasta grubu olduğu ve aynı gen değişikliğinde farklı kliniklerle ortaya çıkabileceği unutulmamalıdır.

Anahtar kelimeler: Mitokondriyal hastalık, fenotip, genotip, moleküler analiz

ABSTRACT

Assessment of Phenotype and Genotype Relationship in Mitochondrial Diseases, Retrospective Evaluation

Introduction: Mitochondrial diseases constitute an important part of hereditary metabolic diseases, which progress with disruption in oxidative phosphorylation and ATP production as a result of mitochondrial respiratory chain dysfunction. Diagnosis is very difficult due to its clinical and genetic heterogeneity. Mutations in mitochondrial DNA or nuclear DNA can result in mitochondrial dysfunction via total lack of a specific electron transport chain complex or through transcription and translation defect. Clinical, laboratory, radiological findings and histopathological or enzymatic evaluation of tissue samples such as muscle, liver, and fibroblasts via molecular methods are used for diagnosis.

Aim: In our study demographic, clinical, biochemical and radiological features of mitochondrial diseases together with histopathological and enzymatic evaluation findings were evaluated retrospectively, aiming to assess the phenotype and genotype relationship in patients with mitochondrial respiratory chain disorder diagnosed using molecular analysis methods.

Method and Findings: In our study, 240 patients who were followed with the diagnosis of mitochondrial diseases diagnosis between January 1990 and December 2020 at the Department of Pediatric Nutrition and Metabolism in Istanbul University Istanbul Medical Faculty were evaluated using the hospital automation system records and patient files. Twenty-seven patients were excluded from the study due to lack of adequate information or change in diagnosis. For 213 patients who are included; average age at presentation was 4.5 ± 6.8 years (range: 0 – 44 years), average follow-up period was 5.5 ± 5.9 years (range: 0 – 33 years), and average current age was 16.6 ± 11.3 years (range: 1.3 – 60.7 years). In the study group, 45% of the patients were girls, 54.5% were boys, and the male / female ratio was 1.2. The most common age for onset of first clinical signs was in the 1-12 months period. Consanguineous marriages were present in patient history for 55.8%. Mortality rate was 14.4% with average age of death being 2.5 ± 2.8 years (range: 0.04 to 7.7 years). Multisystem involvement was present in 91.5% of the patients, and the most common involvement was skeletal muscles (88.6%) and central nervous system (80.5%).

Cardiac involvement was present in 17.4% of the patients, and 91% of this involvement was manifested as cardiomyopathy. It was shown that 17.6% of the patients had ocular involvement, and 38% of this group had optic atrophy. As for the laboratory findings, 72.2% patients had

elevated lactate levels, 51.1% had elevated alanine levels and 39.4% had metabolic acidosis. The most common cranial MR imaging finding was increase in basal ganglia signal (present in 50.3%) followed by atrophy in 11.4%. Histopathological evaluation with muscle biopsy performed for 164 patients, showing disease-compatible changes in 68.3%, lipid accumulation myopathy in 46.3%, mitochondrial myopathy in 20.7%, and "red ragged fibers" in 1.2%. Respiratory chain enzyme activity was evaluated in 61 patients among which decrease in complex activities seen in 55.7%, isolated complex I and isolated complex IV deficiencies constituting the most. Molecular analysis performed in 104 patients, of which 29.8% had disease-related genetic changes. Among these patients; 8 had mtDNA and 23 had nDNA changes. In 47 (22%) of 213 patients defined mitochondrial syndromes as Leigh, LHON, MELAS, Kearns Sayre, Pearson syndrome, MINGIE were present. Among these, Leigh syndrome was most frequently seen with 53.1% (n = 25). Variants that are rare in the population and thought to be associated with the disease were included in the study. It was observed that the phenotype characteristics of the patients were compatible with the genetic data in the literature.

Conclusion: Although the correct clinical evaluation of the patients and the evaluation of the genotype correlation are guiding in the diagnosis, it should be kept in mind that mitochondrial diseases are a heterogeneous group and different clinical presentations are possible for identical genetic mutations.

Keywords: Mitochondrial diseases, phenotype, genotype, molecular analysis

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Mitokondri çok sayıda hücrel fonksiyonun gerçekleşmesinde görev alan dinamik bir organeldir. Enerji üretimi, hücre apoptozisinin kontrolü, hücrenin sağlıklı işlevi için kritik pek çok biyosentez yolağı ve sayısız biyokimyasal katabolik olayda görev alır (1).

Mitokondriyal fonksiyon bozukluğu ilk kez Luft ve arkadaşları tarafından 1962 yılında ortaya konulduktan sonra, 1981’de mitokondriyal genomun dizisi Anderson ve arkadaşları tarafından aydınlatılmıştır. O günden bugüne mitokondriyal solunum zinciri hastalıkları ile ilişkilendirilmiş pek çok gen mutasyonu ortaya koyulmuştur (2) (3).

Mitokondriyal DNA veya nDNA (nükleer DNA)’daki mutasyonlar, belirli bir elektron taşıma zinciri kompleksinin eksikliğine veya transkripsiyon, translasyon yoluyla mitokondriyal disfonksiyona neden olabilir. Oksidatif fosforilasyonda ve adenosin trifosfat (ATP) üretiminde bozukluk olduğunda mitokondriyal solunum zinciri hastalıkları ortaya çıkar. Mitokondriyal solunum zinciri hastalıkları, kalıtsal metabolik hastalıkların önemli bir grubunu oluşturur. Gerçek sıklık belirsizliğini korumakla birlikte, son yıllarda yapılan çalışmalarla mitokondriyal hastalık prevalansı yaklaşık 1/4300 olarak gösterilmiştir (4).

Mitokondri ana fonksiyonu hücre için enerji üretimi olduğundan, iskelet ve kalp kasları, karaciğer ve beyin gibi özellikle yüksek enerji gereksinimi olan dokular başta olmak üzere, pek çok organ ve sistemde semptomlar ile karşımıza çıkabilmektedir. Hastalığın çok değişik bulgularla karşımıza çıkabilmesi, fenotip, genotip ilişkisinin henüz tam olarak aydınlatılamamış olması tanıyı zorlaştırır. Klinisyenin hastayı epidemiyolojik özellikleri, aile öyküsü, klinik bulguları, laboratuvar yöntemleri ile doğru değerlendirmesi ve hastalıktan şüphe duyması tanıda esastır.

Nöroradyolojik görüntüleme ve kas biyopsisinin histokimyasal yöntemlerle incelenmesi günümüzde halen önemini korumaktadır. Etkilenmiş dokudan solunum zinciri enzim kompleksleri aktivite ölçümü vakalarda tanı koydurucudur. Günümüzde moleküler analiz teknolojilerinin geliştirilmesi ve yaygınlaşması ile genetik yöntemlerin daha etkin kullanıldığı ve klinik bilgilere entegre edildiği tanıda büyük önem taşıyan yeni bir dönem başlamıştır.

Bu çalışmada İstanbul Tıp Fakültesi Çocuk Beslenme ve Metabolizma polikliniğinden mitokondriyal solunum zinciri hastalığı tanısı ile takip edilen çocukların epidemiyolojik özellikleri, sistemik, biyokimyasal, radyolojik, histopatolojik ve genetik bulguları retrospektif değerlendirilerek, elde edilen sonuçların literatür bilgisi ile kıyaslanması ve hastaların fenotip, genotip ilişkisinin değerlendirilmesi ile tanıya gidilen sürece katkıda bulunulması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Tarihçe

Mitokondri ile ilgili ilk bilgiler, hücre nükleusunun tanımlanmasından birkaç yıl sonra, 1841 senesine dayanır. Bu yapının detaylarını incelemek üzere çalışmalara 1850 yılından itibaren başlanmıştır. Kolliker tarafından 1857 yılında çizgili kas hücrelerinden izole edilen yapının ilk tanımı, 1890 senesinde Richard Altmann tarafından yapılmış ve hücre için hayati fonksiyonlarda görev alan bir yapı olduğu hipotezi öne sürülmüştür. Bu yapılar o dönem Altmann tarafından “bioblast olarak adlandırılmıştır (5). Carl Benda 1898 yılında bu adı, Yunanca’da iplik şeklindeki granül anlamına gelen “mitos ve “chondros” kelimelerinin birleşiminden oluşan mitokondri ile değiştirmiştir (6).

Heinrich Warburg 1913’de oksijenin hücre içinde kullanımını sağlayan enzimlerin bu yapı içerisinde olabileceğini ileri sürmüştür. David Keilin’in 1925’de sitokrom sistemini bulması ve mitokondri’nin iç zarında olduğunu göstermesinin ardından; Warburg ve Negelein 1929’da oksidasyon ve redüksiyon olaylarını tanımlamışlardır (7) (8). Krebs ve Konberg 1937’de ilk defa Krebs döngüsü tanımlamış; adenosin difosfat (ADP) fosforilasyonu ile ATP oluştuğunu ve bu fosforilasyonun oksijen tüketimine bağlı olduğunu 1957 yılında öne sürmüşlerdir (9). Mitchel mitokondri iç ve dış membranı arasındaki iyon hareketinin ATP üretimi ile ilişkisi olduğunu öne süren kemiozmotik teoriyi 1961’de ortaya koymuş ve bu çalışmasıyla 1978 yılında Nobel Ödülü’nü kazanmıştır (10).

Nass ve arkadaşları tarafından 1963 yılında mitokondri içinde kendilerine ait genomları olduğunu düşündürecek deoksiribonükleik asit (DNA) benzeri iplikli yapılar tanımlanmıştır ve bu mitokondriyal DNA (mtDNA) ve kalıtımı ile ilgili yapılacak pek çok çalışmaya zemin hazırlamıştır (10) (11). Luft ve arkadaşları tarafından 1962 yılında yayınlanan miyopati, sıcağa tahammülsüzlük, aşırı terleme, poliüri, polidipsi gibi artmış metabolizma hızı ile uyumlu semptomları olan ancak ötiroid bir vakada kompensasyon amacıyla mitokondrilerin hacimlerini ve sayılarını artırdığı görülmüş ve böylelikle ilk mitokondriyal fonksiyon bozukluğu tanımlanmıştır (2). Anderson ve arkadaşları tarafından 1981’de mitokondriyal genom dizisi tam olarak gösterilmiş, Holt ve arkadaşları 1988’de ilk patolojik mtDNA mutasyonunu bildirilmişlerdir (12) (3).

Başlangıçta Luft hastalığı olarak adlandırılan bu hastalık kliniği ve biyokimyasal değerleri ile mitokondriyal fonksiyon bozukluğu düşünülen hastalarda ileriye dönük çalışmalar için yol gösterici olmuştur. Walker ve Boyer'in 1997'de ATP sentezinde ve oksidatif fosforilasyonda görev yapan mitokondriyal enzim komplekslerin yapı ve yerleşimlerinin belirlenmesi konusunda yaptıkları çalışmanın Nobel ödülü almasından sonra; mitokondrinin fonksiyonu, fonksiyonlarını yerine getirirken kullandığı metabolik yollar aydınlatılmaya başlanmıştır.

Mitokondriyal DNA'nın tam olarak tanımlandığı, işlev ve yapısının ortaya konduğu bu süreç, genetik ve biyokimyasal çalışmalarla mitokondriyal hastalığın etiopatogenezinin aydınlatılmasına büyük katkı sağlamıştır (13). 1988 yılından bugüne mtDNA üzerinde tanımlanmış pek çok mutasyon bildirilmiştir ancak; günümüzde mitokondriyal hastalıkların sadece mtDNA üzerindeki mutasyonlardan kaynaklanmayabileceği, nDNA üzerinde bulunan pek çok genin mitokondriyal homeostaz için önemli olduğu ve hastalığın nDNA üzerindeki mutasyonlara bağlı da ortaya çıkabileceği gösterilmiştir (14).

2.2 Epidemiyoloji

Mitokondriyal hastalıklar, kalıtsal metabolik hastalıkların büyük bir grubunu oluştururlar; ancak klinik olarak çok değişik tablolarla kendini gösterebilmesi ve genetik heterojenite nedeni ile tanı koymak ve kesin bir prevalans belirlemek oldukça güçtür. Pediatrik hasta grubunda ilk epidemiyolojik çalışma İsveç'in Göteborg şehrinde 15 yıllık bir süreç içinde izlenen 358.616 çocukta yapılmıştır. Okul öncesi çocuklar (<6 yaş) esas alınarak mitokondriyal ensefalopati prevalansını belirlemek amacıyla Darin ve arkadaşlarının yaptığı bu çalışmada prevalans 1/11.000 veya 8,9/100.000 olarak gösterilmiş olup, 16 yaşın altındaki çocuklarda mitokondriyal ensefalopati prevalansı 1/21.000 bulunmuştur (15). Avustralya'da Melbourne Çocuk Hastanesi'nde de benzer bir çalışma yapılmış, bu çalışmada 10 yıllık süreç içerisinde pediatrik hasta grubunda mitokondriyal hastalık prevalansı doğumda 1/20.000 olarak gösterilmiştir. İspanya'da yapılan başka bir çalışmada ise 14 yaşın üzerinde bir popülasyonda hastalık prevalansının 5,7/100.000 olduğu belirlenmiştir (16) (17).

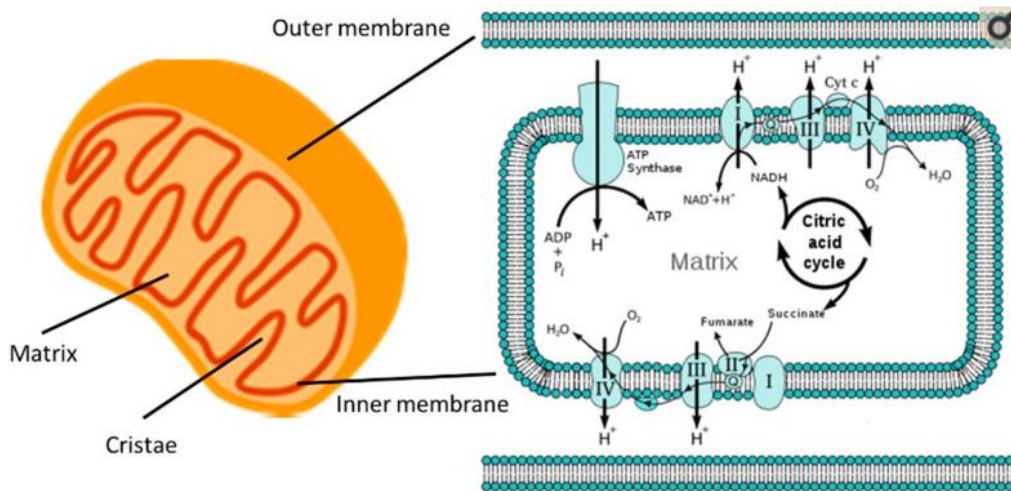
Yapılan çalışmalara bakıldığında farklı coğrafik bölgelerde ve farklı popülasyonlar üzerinde yapılmış olmalarına rağmen benzer sonuçlar vermiş olmaları dikkat çekmektedir. Bu nedenle mitokondriyal hastalık prevalansının 20.000'de 1 olduğu düşünülmüştür, ancak yakın zamanda gelişen tanı yöntemlerinin kullanımının yaygınlaşmasıyla bu bilgi değişmiştir.

Andrew M. ve arkadaşlarının İngiltere'nin kuzeydoğusunda, 1990 ve 2014 yılları arasında mitokondriyal hastalık şüphesi ile izledikleri erişkin hastalarda yaptıkları prevalans belirleme çalışmasında, semptomatik nDNA mutasyonları ile semptomatik ve asemptomatik mtDNA mutasyonları anlamlı olarak kabul edilmiş ve prevalansın yaklaşık olarak 4.300 hastada 1 olabileceği ortaya konmuştur (4).

Günümüzde klinik, laboratuvar, görüntüleme, gelişen genetik yöntemlerin daha etkin kullanılması ve mevcut bilgilere entegre edilmesi ile mitokondriyal hastalık tanısını kolaylaştırmanın önü açılmaktadır. Mitokondriyal hastalığa sebep olan nükleer ve mitokondriyal gen mutasyonlarının belirlenmesi ile hastalığın daha çok aydınlatılmaya çalışıldığı bu süreç, ilerde gerçeğe daha yakın prevalans çalışmalarının yapılabilmesini sağlayacak ve toplumsal hastalık riskinin belirlenmesinin önünü açacaktır. Yeni nesil dizileme (YND) yöntemleri bu konuda büyük önem taşımaktadır.

2.3 Mitokondrinin Yapısı

Mitokondri ökaryot hücrelerde bulunan, kendine ait genomu olan ve hücre içinde oksidatif fosforilasyon ile enerji üretimini sağlayan önemli bir organeldir. İnsan vücudunda olgunlaşmış eritrositler dışında tüm hücrelerde bulunurlar. 1-7 mikrometre uzunluğunda çubuk şeklinde veya 2-3 mikrometre çapında küresel şekilde olabilirler (18). Dış membran, iç membran, krista, matriks ve membranlar arası boşluktan oluşmaktadırlar (Şekil 2.1).



Şekil 2.1: Mitokondrinin yapısı (19)

İç ve dış membranlar farklı fosfolipid bileşenlerine sahiptir ve protein-lipid oranları farklılık gösterir. Dış membranda bu oran %50:50 iken iç membranda %75:25'tir (20).

Mitokondri kendi mevcut genomu ile yapısında bulunan bazı proteinleri sentezleyebilse de yapısına katılan proteinlerin büyük çoğunluğu nükleer genom tarafından sentezlenir. Nükleer genom kaynaklı bu proteinlerin ve enerji üretimi için oksidatif fosforilasyonda kullanılacak metabolitlerin sitozolden mitokondri içine doğru şekilde taşınması önemlidir. Mitokondri dış membranı hem organelin şeklini sağlamada hem de hücrenin geri kalanıyla olan iletişimde önemli rol oynar ve madde alışverişinin sürekli devam etmesini sağlar.

Mitokondri dış membranında porin olarak bilinen voltaj bağımlı anyon kanalları bulunmaktadır. Bu kanallar 5000 daltondan küçük moleküllerin geçişine izin verir. Aynı zamanda serbest difüzyon yöntemi ile iyonların ve bazı metabolitlerin geçişinde rol oynar (21) (22). Sitozolde sentezlenen nDNA tarafından kodlanan mitokondriyal öncü proteinler yine dış membran üzerinde yer alan dış membran translokaz (TOM) proteini aracılığı ile intermembranöz boşluğa alınırlar (23). Mitokondri iç membranının üzerinde bulunan taşıyıcı proteinler bu membranın seçici geçirgen özelliğe sahip olmasını sağlar. Protein ve metabolitlerin mitokondriyal matrikse geçişi böylece kontrol altına alınmış olur (24).

İç membran krista adı verilen katlanmalar ile mitokondriyal matrikse doğru uzanımlar oluşturarak yüzey alanını artırır. Solunum zincirinde görevli enzimlerin iç zarda bulunduğu gösterilmiş olup özellikle enerji gereksinimi fazla olan dokuların mitokondrilerindeki krista sayısının normalden fazla olduğu gösterilmiştir (25).

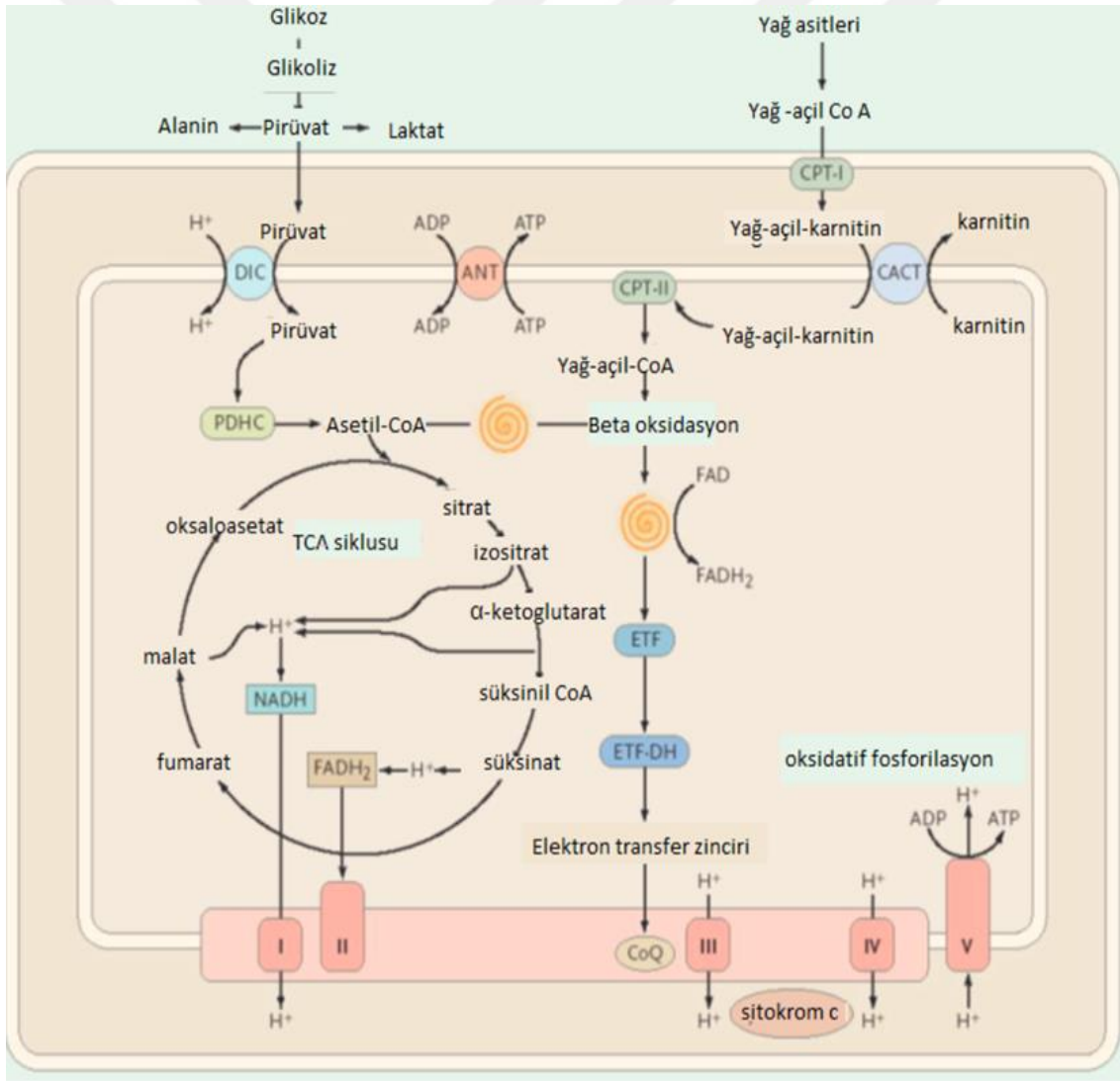
İntermembranöz boşluğun protein içeriği matrikse kıyasla daha az olup mevcut bu proteinlerin büyük çoğunluğunu sitokrom c oluşturur. Sitokrom c sağlıklı bir hücrede oksidatif fosforilasyonda görev aldığı gibi, sitozolde serbest kalması hücre apoptozisini tetikler (26).

2.4 Mitokondrinin İşlevleri

Mitokondri, bütün insan hücrelerinin gereksinim duyduğu, çok sayıda hücresel işlevin gerçekleşmesinde görev alan dinamik bir organeldir. Enerji üretimi, hücre apoptozisinin kontrolü, fosfolipid ve hem biyosentezi, kalsiyum dengesinin sağlanması, Fe-S biyosentezi yanı sıra sayısız biyokimyasal katabolik yolak ve hücre sağlığı için kritik olan sentez yolları

burada gerçekleşir. Hem hücrenin antioksidan savunma mekanizmalarının hem de reaktif oksijen üretiminin kontrol edildiği yerdir (1).

Mitokondri; karbonhidrat, yağ ve proteinlerin oksidasyonu ile ATP üretmek için gerekli olan enzim sistemlerini içerir. Bu üç substratın her biri, farklı metabolik yollar aracılığı ile asetil koenzim A (asetil KoA)'ya katabolize edilir ve matrikste yer alan sitrik asit döngüsüne katılır. Karbonhidratlar; hücre sitoplazmasında glikolizasyon reaksiyonu ile piruvata metabolize edilir ve mitokondri içine alınırlar. Mitokondri'de piruvat dehidrojenaz (PDH) enzimi ile asetil KoA'ya dönüşürler. Yağ asitleri mitokondri içerisine alındıktan sonra beta oksidasyona uğrayarak asetil KoA'ya dönüşürler. Aminoasitler ise yine mitokondri içerisinde yer alan çeşitli enzimler sayesinde piruvat, asetil KoA yada sitrik asit döngüsündeki ara maddelere dönüşerek solunum zincirine katılırlar (27).



Şekil 2.2: Hücre içi enerji döngüsü ve sitrik asit döngüsü (28)

Sitrik asit döngüsü, trikarboksilik asit (TCA) döngüsü ya da Krebs döngüsü olarak da bilinir. Asetil KoA iki karbonludur ve dört karbonlu oksaloasetat ile birleşerek altı karbonlu sitratı oluştururlar. Sitrat TCA döngüsü içerisinde yedi farklı enzimatik reaksiyon sonucunda iki karbonunu kaybederek oksaloasetata dönüşür ve bu iki karbon karbondioksit (CO_2) olarak açığa çıkarken elektronlar nikotinamid adenin dinükleotid (NADH) ve flavin adenin dinükleotid (FADH_2) aracılığı ile mitokondri iç membranı üzerinde bulunan elektron transfer zincirine taşınırlar. Serbest kalan oksaloasetat tekrar TCA döngüsüne katılarak döngünün sürekliliğine katkıda bulunur (29).

Elektron transfer zinciri farklı protein yapılarına sahip beş ayrı kompleksten oluşur ve bunlar sırasıyla elektron taşınmasında rol oynar. NADH ve FADH_2 üzerinde taşınan elektronlar, protonların matriksten intermembranöz boşluğa taşınmasında görev alır ve iç mitokondriyal membran ve mitokondriyal matriks arasında potansiyel bir fark yaratılmasını sağlar.

Komplekslerin en büyüğü olan NADH dehidrojenaz ya da bir diğer adıyla kompleks I L şeklinde bir enzimdir. 44 alt üniteden oluşur ve bunların 7 tanesi mtDNA tarafından kodlanır. Bu kompleks mitokondri iç membranına gömülü geniş hidrofobik bir alanla beraber, NADH'ın bağlanmasına olanak sağlayan matrikse doğru çıkıntı yapan hidrofilik bir uzantı içerir. NADH TCA döngüsünden taşıdığı iki elektronu önce kompleks I'in hidrofilik kolunda bulunan flavin mononükleotid (FMN) grubuna oradan da koenzim Q'ya aktarır ve böylece protonlar intermembranöz boşluğa aktarılır.

Kompleks II, dört alt gruptan oluşur ve sadece nDNA tarafından kodlanan tek komplekstir. Aynı kompleks I gibi iç mitokondriyal zar da yer alır ve ondan farklı olarak FADH_2 'nin taşıdığı elektronları koenzim Q'ya aktarmak üzere prostetik bir FAD grubu taşır (30). Bu işlem esnasında koenzim Q okside edilirken intermembranöz boşluğa proton pompalanmaz. Koenzim Q'nun indirgenmesiyle üzerinde taşıdığı elektronlar üçüncü ve yapı olarak en küçük olan kompleks III'e bir diğer adıyla sitokrom c redüktaza gelir. Sitokrom c redüktaz koenzim Q'yu okside eder ve serbest kalan iki elektron suda çözünür bir redoks proteini olan sitokrom c'ye geçer. Koenzim Q'nun okside olması sonucu açığa çıkan protonlar intermembranöz boşluğa aktarılır (31).

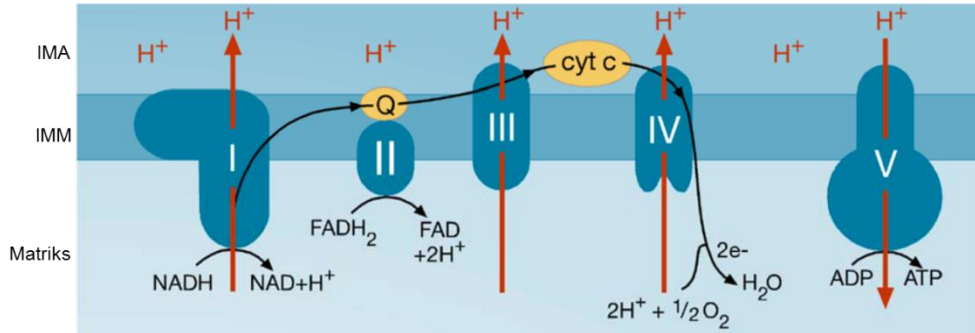
Kompleks IV, sitokrom c'nin moleküler oksijeni indirgemesinde katalizör olarak görev yapar ve bu işlem esnasında ortaya çıkan dört proton da yine intermembranöz boşluğa aktarılır. Elektron transferinden sağlanan enerji, kompleks I, III ve IV tarafından mitokondriyal

matriksten intermembranöz boşluğa proton pompalanması ve böylece membranlar arası proton gradyanı oluşturmak için kullanılır.

Kompleks V, diğer adıyla ATP sentetaz F₀ ve F₁ denilen iki alt birimden oluşur. F₀ proton taşınmasından sorumlu iken, F₁ biriminde ATP sentetaz bulunur. Oluşan proton gradyanı sayesinde intermembranöz boşluktan matrikse F₀ aracılığı ile proton taşınma işlemi gerçekleşirken, F₁ yapısındaki gama alt biriminin katalizörlüğü sayesinde ADP'ye inorganik fosfor eklenerek ATP oluşumunu sağlar (32).

Kompleks	Adı	Protein sayısı	Prostetik gruplar
Kompleks I	NADH dehidrojenaz	44	FMN, 7 Fe-S merkezi
Kompleks II	Süksinat-CoQ redüktaz	5	FAD, sit b ₅₆₀ , 3Fe-S merkezi
Kompleks III	CoQ-sitokrom c redüktaz	11	Sit b _H , sit b _L , sit c ₁ , Fe-S _{Rieske}
Kompleks IV	Sitokrom c oksidaz	14	Sit a, sit a ₃ , Cu _A , Cu _B

Şekil 2.3: Solunum zinciri enzim kompleksleri



Şekil 2.4: Solunum zinciri enzim komplekslerinde enerji akışı (28)

2.5 Mitokondriyal Genetik

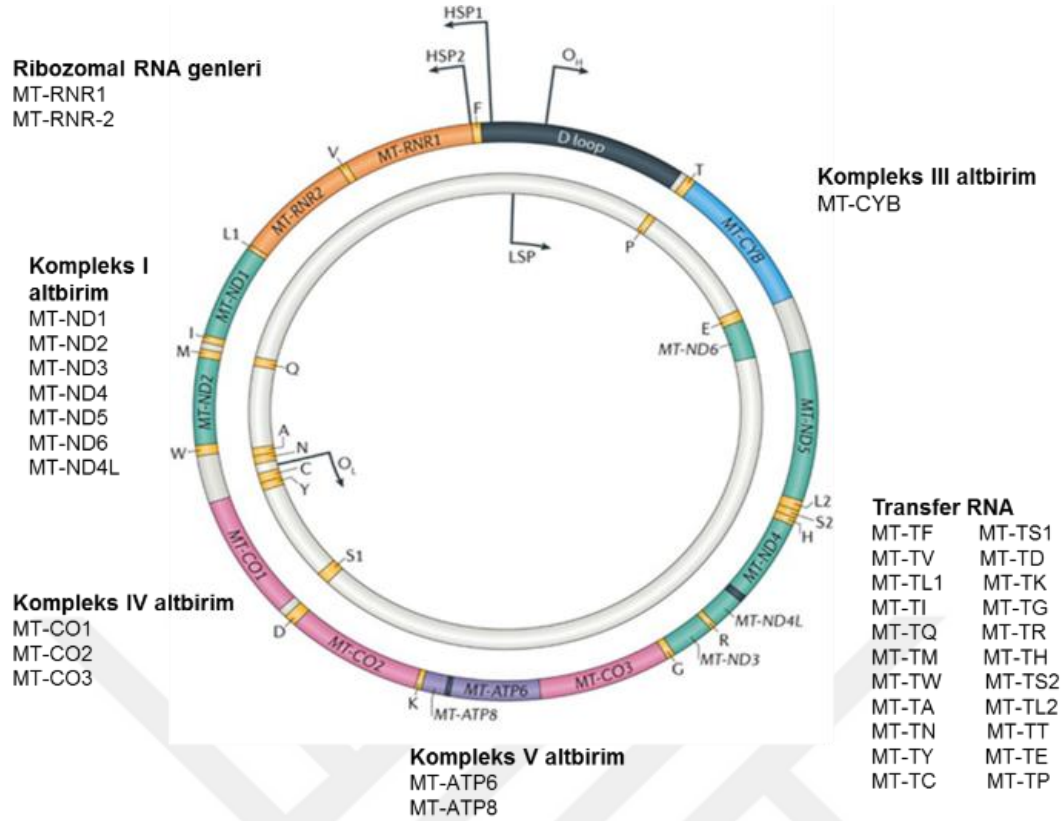
Mitokondriler kendi genomlarına sahip organellerdir. Her hücrede pek çok mitokondri ve her mitokondrinin çok sayıda mtDNA kopyası bulunur. Sperm ovumu döleyeceği zaman hücre zarını eriterek sadece kendi genomunu ovum içerisine aktarır. Spermden gelen mitokondriler

embriyonezin erken döneminde harabiyete, inaktivasyona ve oosit mitokondrilerinin fazlalığına bağlı basit seyrelmeye uğrayarak ortadan kaybolur. Bu nedenle mtDNA'ya ait mutasyonlar maternal kalıtım gösterirler (33). Paternal kalıtımla geçtiği kanıtlanmış bir iki vaka bildirilmiş olsa da, mitokondri aktarımı ovum aracılığı ile olduğundan kalıtımın her zaman maternal olduğu kabul edilir (34).

Mitokondriyal hastalıklar nDNA ve/veya mtDNA mutasyonlarının neden olduğu kalıtsal nörometabolik hastalıkların en yaygın grubunu oluşturur. Son epidemiyolojik çalışmalarda hastalığın prevalansı 1/4300 olarak belirlenmiştir (4). Klinik ve genetik heterojenite nedeni ile hastalığın tanısını koymak oldukça güçtür, tanıya giden yolda hastanın doğru değerlendirilmesi ve klinik şüphe esastır. Yeni teknolojilerin gelişmesiyle beraber moleküler yöntemler ile hastalık ilişkili pek çok patolojik varyant gen tanımlanmıştır. Ancak halen henüz tanımlanmamış ve önemi bilinmeyen gen bölgeleri bulunmaktadır ve bu durum YND yöntemi için büyük zorluk oluşturmaktadır.

Mitokondri, hücre içerisinde pek çok anabolik ve katabolik yolda görev almasına karşın esas görevi oksidatif fosforilasyon ile ATP üretimidir. Hücre içindeki değişikliklere duyarlıdır. Enerji üretiminin arttığı ya da azaldığı durumlarda, solunum gereksinimine göre füzyon (birleşme) ya da fizyon (bölünme) yoluyla kendini düzenleme yeteneğine sahiptir. Hücrenin metabolik gereksinimine göre sürekli değişen füzyon ve bölünme olayları nedeniyle mitokondrinin dinamik bir organel olduğunu söyleyebiliriz (35). Hem kendi genomu hem nükleer genom tarafından ikili kontrol altında olması açısından benzersizdir.

Mitokondriyal DNA 16.569 baz çifti uzunluğunda olup 37 gen içerir. 1200 kadar proteinden oluşan mitokondriyal proteomun %1'ini kodlar. Mitokondriyal proteomun %99'u nDNA tarafından kodlanır. Mitokondriyal DNA tarafından kodlanan 37 genden 13 tanesi oksidatif fosforilasyonda görevli enzim komplekslerinin bazı alt birimleridir, kalan genlerden 2 tanesi mitokondriye özgü ribozomal ribonükleik asit (rRNA), 22 tanesi ise mitokondriye özgü transfer ribonükleik asit (tRNA) sentezinden sorumludur (36).



Şekil 2.5: Mitokondriyal DNA, kodladığı genler ve yapılar (36)

Oksidatif fosforilasyonda görev alan kompleks I'in yapısını oluşturan 44 polipeptidin 7'sini (7/44), kompleks III'teki 11 polipeptidin 1'ini (1/11), kompleks IV'teki 14 polipeptidin 3'ünü (3/14) ve kompleks V'teki 16 polipeptidin 2'sini (2/16) mtDNA kodlar. rRNA genleri, MT-RNR1 ve MT-RNR2'dir ve sırasıyla 12S ve 16S rRNA'yı kodlarlar. Mitokondriye özgü protein sentezi için gerekli olan 22 tane tRNA geni de yine mtDNA tarafından kodlanmaktadır. Mitokondriyal DNA molekülü nükleotid içeriğine göre isimlendirilirken, ağır zincir ve hafif zincir olarak ikiye ayrılır. Ağır zincir guaninden, hafif zincir sitozinden zengindir (37).

2.5.1 Nükleer DNA Tarafından Kodlanan Proteinlerin Mitokondriye Alınması

Nükleer genomda kodlanan proteinler sitozolde ribozomlar tarafından sentezlenir. Bu protein yapı, mitokondri matriksine geçene kadar şaperonlar aracılığı ile, ısı şok proteini 70 (HSP70) "heat shock protein 70" katlanmadan kalır ve mitokondri tarafından tanınmasını sağlayacak bir N-terminal kalıntısı içerir. Proteinlerin mitokondriler tarafından tanınmasını sağlayan bu N-terminal kalıntısı sayesinde dış mitokondriyal membrandaki TOM40 proteini tarafından tanınır ve intermembranöz boşluğa alınır. Burada mitokondri iç membranında

bulunan iç membran translokaz (TIM) 23 proteini tarafından tanınır ve iç zarı geçerek matrikse gelir. Mitokondriyal matrikse ulaşan proteinin tanınmasını sağlayan kalıntı dizi mitokondriyal yapıcı peptidaz “mitochondrial processing peptidase” (MPP) aracılığı ile ayrılır ve serbest kalan protein, şaperon proteinlerinden olan HSP60 ile etkileşime girerek katlanmalarını gerçekleştirir ve son halini alır (38).

Solunum zinciri alt birimleri	Aminoasit-tRNA sentetazlar	tRNA modifikasyonu
Kompleks I: <i>NDUFS1, NDUFS2, NDUFS3, NDUFS4, NDUFS6, NDUFS7, NDUFS8, NDUFV1, NDUFV2, NDUF1, NDUF2, NDUF9, NDUF10, NDUF11, NDUF12, NDUF13, NDUF2, NDUF6 ve NDUF11</i>	<i>AARS2, DARS2, EARS2, RARS2, YARS2, FARS2, HARS2, LARS2, VARS2, TARS2, IARS2, CARS2, PARS2, NARS2, KARS, GARS, SARS2 ve MARS2</i>	<i>MTO1, GTP3BP, TRMU, PUS1, MTFMT, TRIT1, TRNT1 ve TRMT5</i>
		Toksik bileşiklerin metabolizması
		<i>HIBCH, ECHS1, ETHE1 ve MPV17</i>
Kompleks II: <i>SDHA, SDHB, SDHC, SDHD ve SDHAF1</i>	Deoksinekleotid trifosfat sentezi	mRNA işlenmesi
Kompleks III: <i>UQCRB, BCS1L, UQCRCQ, UQCRC2, CYC1, TTC19, LYRM7, UQCC2 ve UQCC3</i>	<i>DGUOK, TK2, TYMP, MGME1, SUCLG1, SUCLA2, RNASEH1, C10orf2, POLG, POLG2, DNA2 ve RRM2B</i>	<i>LRPPRC, TACO1, ELAC2, PNPT1, HSD17B10, MTPAP and PTC1D1</i>
Kompleks IV: <i>COA5, SURF1, COX10, COX14, COX15, COX20, COX6B1, FASTKD2, SCO1, SCO2, LRPPRC, TACO1 ve PET100</i>	Fosfolipid metabolizması	Protein kalite kontrolü ve bozunma
	<i>AGK, SERAC1 ve TAZ</i>	<i>FBXL4, AFG3L2 ve SPG7</i>
Kompleks V: <i>ATPAF2, TMEM70, ATP5E ve ATP5A1</i>	Uzama faktörleri	Mitokondriyal proteinler
Koenzim Q10 eksikliği: <i>PDSS1, PDSS2, COQ2, COQ4, COQ6, COQ8A, COQ8B ve COQ9 (sekonder kusurlar ETFDH ve APTX)</i>	<i>TUFM, TSFM ve GFM1</i>	<i>MRPS16, MRPS22, MRPL3, MRP12 and MRPL44</i>
Demir-kükürt protein topluluğu	Mitokondriyal füzyon ve fizyon	ATP ve ADP taşınması
<i>ISCU, BOLA3, NFU1 ve IBA57</i>	<i>OPA1 ve MFN2</i>	<i>ANT1</i>

Şekil 2.6: Nükleer DNA tarafından kodlanan, mitokondrinin yapısına katılan ya da mitokondride görev alan proteinleri kodlayan gen bölgeleri (39)

2.5.1 Mitokondriyal DNA Replikasyonu

Mitokondriyal DNA replikasyonu hücre yaşamı boyunca görülür ve hücrenin metabolik gereksinimi oranında ihtiyacı karşılayacak miktarda bulunur. Gereksinime göre yer yer füzyon ile sayısını azaltan yer yer de fizyon ile sayısını artıran dinamik bir organeldir. Mitokondriyal DNA replikasyonu ile ilgili zincir-yer değiştirme modeli, bağcık “bootlace” modeli,

ribonükleotit geçişli zincir (RITOLS) modeli ve zincir eşleşmiş çift yönlü model gibi tüm modeller in vitro deneyler ile desteklenmiştir (40).

Mitokondriyal DNA replikasyonunun zincir-yer değiştirme modelinde, replikasyon mitokondriyal genom üzerinde farklı iki bölgeden başlar ve önce ağır zincirden başlayarak üçte ikisini kopyalayarak kesintisiz ilerler. Hafif zincir replikasyonunda kaynak olarak görev yapacak bir kök döngü “stem-loop” yapısı oluşur ve RNA primerinin sentezi için mitokondriyal RNA polimerazın (POLRMT) bu bölgeye yönelmesi sonucu hafif zincir replikasyonu ters yönde başlar. “Bootlace” modelinde her iki zincir tek bir replikasyon kaynağından başlayarak senkronize olarak çoğalır. RITOLS modeli de buna benzerdir ancak replikasyon çatalı ilerledikçe tRNA ve mRNA transkriptleri gerideki kalıp zincire hibridize olur. Çift yönlü replikasyon modelinde ise her iki zincirde yaklaşık 4kb’lık mesafelerde farklı kaynaklardan replikasyon başlar ve mtDNA etrafında çift replikasyon çatalı oluşturarak ilerler (41) (42).

2.5.2 Mitokondriyal DNA Onarımı

Mitokondriyal DNA hasarı serbest oksijen radikalleri veya yapım aşamasında meydana gelen hatalardan kaynaklı endojen veya ultraviyole (UV) etkisi gibi nedenlerle ekzojen kaynaklı olabilir. Replikasyon hataları 3’-5’ ekzonükleaz aktivitesi tarafından tanınarak onarılır. Yine mitokondriyal genom onarım ekzonükleaz 1 (MGME1) tarafından hasarlı mtDNA molekülleri çıkarılır (43) (44). Baz eksizyon onarım sistemi sayesinde mtDNA onarımı, hasarlı nükleotidin çıkarılması, DNA uç onarımı, boşluk doldurma, DNA ligasyonu gibi yöntemlerle yapılır (45).

Mitokondriyal DNA’nın mutasyon geçirme oranı nDNA’ya kıyasla yaklaşık 10 kat fazladır. Nükleer DNA’da bulunan ve koruyucu olan histon proteinlerinin mtDNA’da bulunmaması, mitokondri ortamında oksijen radikallerinin yoğun bulunması, mtDNA replikasyonunu aktive eden DNA polimeraz enziminin 3’-5’ ekzonükleaz aktivitesi olmasına karşın onarım ve eksizyon fonksiyonlarının olmaması, mtDNA’nın nDNA’dan daha sık çoğalması ve replikasyon döngüsünün asimetrik ilerlemesi nedeni ile de novo mutasyonlara açık olması bunun nedenleri arasında sıralanabilir (46).

Mitokondriyal homeostazın sağlanmasında rol oynayan bir diğer mekanizma da hasarlı mitokondrinin seçici olarak ortadan kaldırıldığı mitofajidir. Nöron hücrelerinde mitokondrilerde gelişen fonksiyon bozukluğu, nöronlarda fonksiyon bozukluğu ve dejenerasyona sebep olarak nörodejeneratif hastalıklara zemin hazırlamaktadır. Parkinson hastalarında; nöronlarda görülen intrasitoplazmik Lewy cisimciğinde hasarlı mitokondri

kalıntılarına rastlanması, mitofaji fonksiyonunun hastalık patogeneğinde önemli olduğunu göstermiştir (47).

2.5.3 Mitokondriyal DNA’da Heteroplazmi

Bir hücre içerisinde pek çok mitokondri bulunur ve içerdikleri DNA sekansları benzerdir. Bu homoplazmi olarak adlandırılır. Bir hücrede meydana gelen de novo mutasyon ya da maternal geçişe bağlı aktarılan mtDNA mutasyonu sonucu; hücre içinde bulunan mitokondrilerin birden fazla varyantının olması heteroplazmi olarak tanımlanır. Mitokondriyal DNA kaynaklı hastalıkların çoğu heteroplazmiktir (48) (49).

Mitokondriyal DNA heteroplazmi dinamiklerini belirlemek amacıyla; eşik etkisi, mitotik ayrışma, klonal genişleme ve genetik darboğaz gibi değişik hipotezler öne sürülmüştür (50). Eşik etkisi; klinik semptomların başlaması için mutant mtDNA’nın normal mtDNA’ya oranının belli bir seviyede olmasını tanımlar. Taşıyıcı bireylerde eşik değeri aşılmadıkça hastalık bulguları görülmez. Mutasyon tipine göre eşik seviyesi değişir. Ayrıca metabolizması büyük ölçüde oksidatif fosforilasyona bağımlı dokularda, anaerobik solunuma bağlı dokulara kıyasla eşik enerjisinin daha düşük olduğu gösterilmiştir. Yine de klinik bulguların şiddeti ile mtDNA mutasyonu miktarı arasında net bir ilişki kurulamamıştır (51).

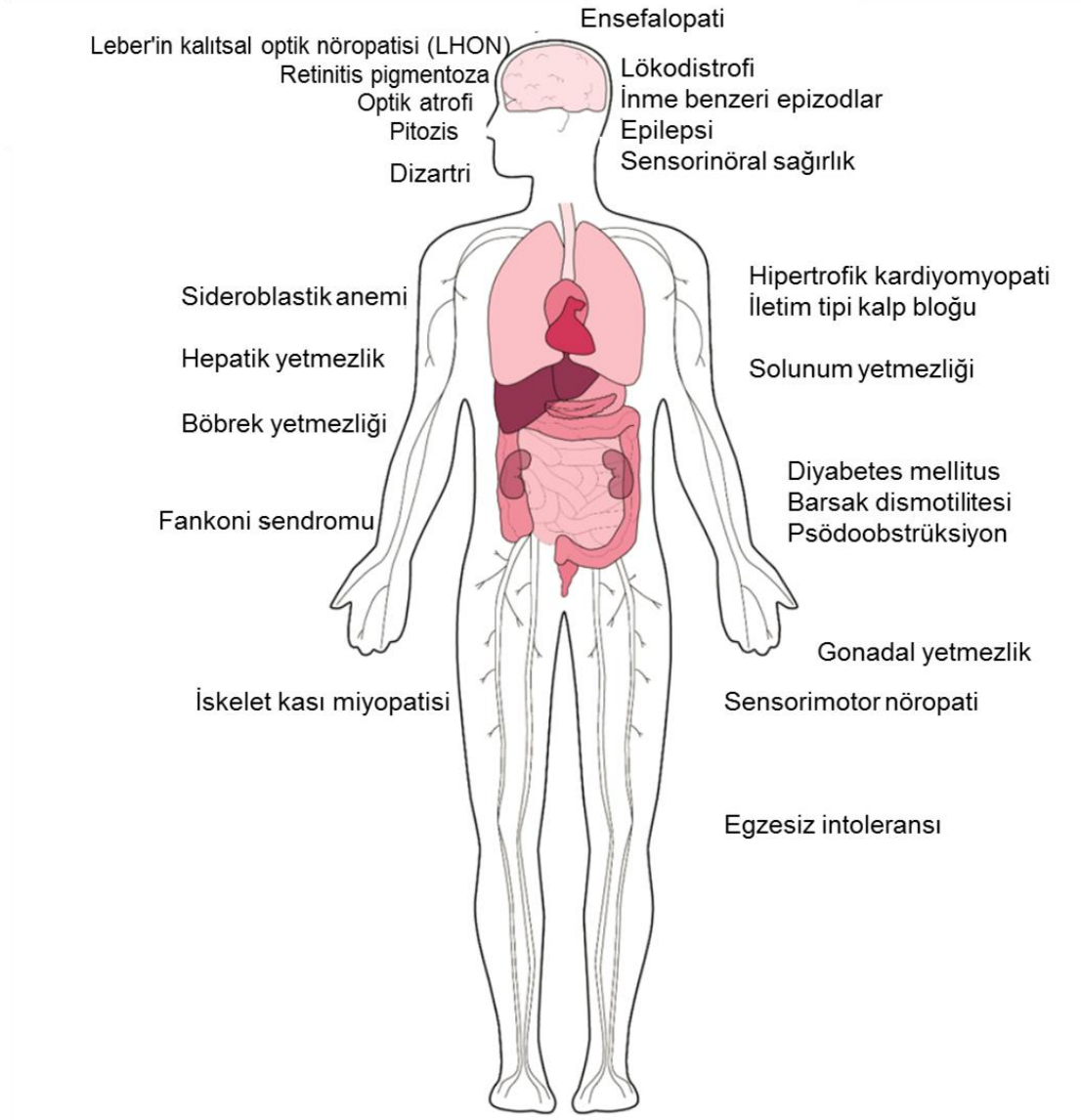
Mitotik ayrışma hipotezinde, mitoz sırasında mitokondriler hücrelere rastgele dağılacığından hücrelerde bulunan mutant DNA oranı değişebilir. Bu yük artarak devam edebileceği gibi, azalarak zaman içinde kaybolması da mümkündür.

Klonal genişleme hipotezinde; mtDNA mutasyonlarından bazılarının zaman içerisinde birikerek, fonksiyonların bozulmasına yol açabileceği gösterilmiştir (52).

Mitokondriyal darboğaz hipotezinde; heteroplazmik genotipe sahip bir memeli grubunda, nesiller arasında hızlı bir ayrışmanın görülmesi ve bazen homoplazmiye dönüşüm olması açıklanmaya çalışılmıştır. Bu durumun ya embriyonel dönemde mtDNA kalıtımında bir darboğaz olmasına ve bu nedenle seçilen mtDNA replikasyonunun devamına ya da oogenezi sırasında belli bir mtDNA alt grubunun tercihli olarak çoğalmasıyla açıklanabileceği düşünülmüştür (53) (54).

2.6 Mitokondriyal Hastalıkların Semptomları ve Sistemik Bulguları

Mitokondriyal hastalıklar çeşitli organ ve sistem tutulumlarına ait farklı bulgular ve klinikte hastadan hastaya değişen semptomlarla kendini göstermektedir.



Şekil 2.7: Mitokondriyal hastalıklarda semptomlar ve sistemik bulgular (55)

2.6.1 Sinir Sistemi Bulguları

Mitokondriyal hastalığı olan çocuklarda santral sinir sistemi tutulumuna bağlı semptomlar sıkça görülmektedir. Kognitif işlevlerde bozulma, dil ve motor becerilerdeki gelişiminin yaşitlarıyla uygun olmayışı veya sonradan kaybı en sık görülen semptomlardandır.

Bu durum hafif öğrenme güçlüğünden ağır mental retardasyona kadar değişkenlik gösterebilir. Belli bir tanısı olmayıp sadece kognitif fonksiyonlarda gerilik ile seyreden otizm spektrum bozukluğu ön tanısı ile izlenen hastaların mitokondriyal hastalıklar ve diğer metabolik hastalıklar açısından taranması önerilmektedir (56).

Nöbet, miyokloni, ensefalopati, inme benzeri atak, migren, kazanılmış fonksiyon kaybı gibi pek çok değişik semptom görülebilmekle beraber özellikle bazal gangliyon tutulumu belirgin olan hastalarda ataksi, distoni, tremor gibi semptomlarla kendini gösterir (57).

2.6.2 Kas Sistemi Bulguları

Mitokondriyal hastalıklarda sık görülen bir semptom miyopati'dir. Egzersiz intoleransı, sürekli devam eden yorgunluk ve kas güçsüzlüğü ile ortaya çıkar. Aksiyal ve proksimal kaslarda güçsüzlük tipiktir, distal kas güçsüzlüğü olan olgularda yüksek oranda polinöropati tablosunun eşlik ettiği görülür.

Klinik bulguları infantil dönemde başlayan vakalarda, baş kontrolünün olmaması, hipotonisite, spontan hareketlerde azlık ve musküler atrofi görülür. Infantil dönemde kas tutulumu görülen vakaların prognozunun daha kötü seyrettiği gösterilmiştir (58).

2.6.3 Kardiyak Bulgular

Mitokondriyal hastalıklarda en sık görülen kalp bulgusu kardiyomiyopatilerdir. Hipertrofik kardiyopati en sık görülmesine karşın; dilate, restriktif ve diğer tipte kardiyomiyopatiler (KMP) ile de karşımıza çıkabilirler. Bunların dışında aritmi ve iletim bozuklukları diğer kardiyak semptomlardır.

Mitokondriyal hastalıklı bir bireyde kalp tutulumu olması durumunda, hastalık asemptomatik seyredebilir, tutulum zamanla gerileyebilir ya da hızla ilerleyerek ölümcül olabilir. Bu nedenle mitokondriyal hastalık tanısıyla tetkik edilen veya izlenen hastada mutlaka ekokardiyografi (EKO) değerlendirmesinin yapılması ve rutin aralıklarla kontrolü önerilmektedir (59).

2.6.4 Oftalmolojik Bulgular

Ekstraoküler kasların tutulumuna bağlı ptoz veya eksternal oftalmopleji görülebilir. Bu durum daha çok ekstraoküler kaslardaki mitokondriyal fonksiyon bozukluğuna bağlı görülen yaygın ve spesifik bir bulgudur. Optik atrofi özellikle mitokondriyal sendromlara eşlik etmesi nedeniyle büyük önem taşır. Leber'in herediter optik nöropatisi (LHON)'da olduğu gibi izole

optik atrofi görülebileceği gibi, Leigh sendromunda multisistemik bileşenlerden biri olarak da karşımıza çıkabilir. Bunlar dışında pigmenter retinopati, katarakt, kortikal körlük görülebilecek diğer oftalmolojik bulgulardır (60).

2.6.5 Gastrointestinal Sistem ve Karaciğer Bulguları

Mitokondriyal hastalığa bağlı karaciğer tutulumu olan hastalarda semptomlar genellikle yenidoğan döneminde ya da erken çocukluk çağlarında ortaya çıkar. Yenidoğan döneminde gelişebilecek karaciğer yetersizliğinden, dönem dönem gelişen geçici akut karaciğer transaminaz yüksekliğine kadar değişkenlik gösteren geniş bir spektrumu kapsar.

Bunun dışında bağırsak motilite bozuklukları, kabızlık, ishal, kusma, beslenme güçlüğü gibi pek çok semptomla karşımıza çıkabilmektedir. Özellikle motor geriliği olan ve beslenme güçlüğü görülen hastalara malnütrisyon açısından dikkat edilmelidir. Mitokondriyal hastalık sendromlarından biri olan Pearson sendromunda ekzokrin pankreas disfonksiyonunun eşlik edebileceği buna bağlı ishallerin görülebileceği unutulmamalıdır (61).

2.6.6 Endokrin Sistem Bulguları

Mitokondriyal fonksiyon bozukluğuna bağlı hücresel düzeyde ATP üretiminin azalmasının bir diğer sonucu da endokrinolojik problem ile karşımıza çıkan hormon üretiminde bozukluklardır. Diyabetes mellitus (DM)'un patogenezinde yetersiz insülin salgılamıyla beraber hücre içinde insülin bağlayan glukoz sensörü olarak görev yapan mitokondrilerin fonksiyonlarını tam olarak yerine getirememesi de yer alır (62).

Büyüme hormonu eksikliği ve buna bağlı boy kısalığı, hipotiroidi, hipoparatiroidi, adrenal yetersizlik, hipogonadizm ve infertilite görülebilecek diğer problemlerdir.

2.6.7 Üriner Sistem Bulguları

Mitokondriyal hastalıklar proksimal tübülopati, tübülointerstisyel nefrit, izole proteinüri, nefrotik sendrom, böbrek yetersizliği gibi değişik tablolarda karşımıza çıkabilirler (63).

2.6.8 Hematolojik Sistem Bulguları

Mitokondriyal hastalıklar anemi, trombositopeni, lökopeni, pansitopeni gibi kemik iliğinin etkilendiği kan tablolarıyla birliktelik gösterebilirler. Özellikle mitokondriyal hastalık sendromlarından biri olan Pearson sendromlu bireylerde transfüzyon sonrası sideroblastik anemi gelişebileceği unutulmamalıdır (64).

2.6.9 İşitme Problemleri

İşitme kaybı, sensörinöral sağırılık bu hastalarda karşımıza çıkabilir. Aminoglikozit türü ilaç kullanımına bağlı ototoksisite görülebilir (65).

2.6.10 Cilt Bulguları

Retiküler pigmentasyon, hipertrikoz, multiple lipomatozis, kaşıntılı pullu eritem veya vitiligo gibi değişik tablolar eşlik edebilir (66).

2.7 Mitokondriyal DNA ilişkili Mitokondriyal Hastalıklar

Mitokondriyal DNA mutasyonu en sık nokta mutasyon veya büyük mtDNA delesyonları ile karşımıza çıkar, her ikisi de ya maternal kalıtılır yada embriyonik gelişim sırasında oluşan de novo mutasyon sonucu görülür (67). Mitokondriyal DNA ile kalıtılan hastalıklarda heteroplazmi büyük önem taşır ve yine heteroplazmiye bağlı bireyden bireye değişiklik gösteren semptom ve bulgular, aynı bireyde farklı dokularda mtDNA sayısının ve mutant gen taşıyan kopya sayısının değişmesi, hastalara genetik danışmanlık vermede klinik zorluğa neden olmaktadır (68).

2.7.1 Mitokondriyal DNA Nokta Mutasyonları

2.7.1.1 Leber'in Herediter Optik Nöropatisi (LHON)

LHON tipik olarak genç erişkinlerde bilateral, ağrısız, aniden gelişen görme kaybı ile ortaya çıkar. Erkeklerde görülme sıklığının kadınlardan dört kat fazla olduğu bildirilmiştir. İlk olarak akut dönemde genellikle tek gözde gelişen görme bulanıklığı ve zamanla ilerleyen görme kaybı oluşur, 3-4 ay içerisinde benzer bulgular diğer gözde de görülmeye başlar ve yaklaşık 6 ay içinde klinik tablo oluşur. Daha çok tek taraflı başlamasına karşın, bildirilen vakaların 1/4'ünde her iki gözde görme bozukluğu ile ortaya çıkabildiği gösterilmiştir. Santral skotom görülmesi en karakteristik özelliğdir. Görme kaybının gelişmesinden sonra atrofik döneme geçilir ve 6 hafta içinde optik atrofi oluşarak kalıcı görme kaybı gelişir. Ailede benzer hastalık öyküsü sıktır. Bu hastaların kraniyal görüntülemeleri tamamen normal olabildiği gibi, ak madde tutulumu ya da ileri dönemde optik sinirlerde sinyal artışı da görülebilir (69) (70).

LHON vakalarının %95'i mtDNA tarafında kodlanan 3 patojenik varyanttan birini taşır. Elektron transport zincirinde kompleks I alt birimlerini kodlayan varyant genler; *MT-ND4 m.11778G> A*, *MT-ND1 m.3460G> A* ve *MT-ND6 m.14484T> C*'tür. Bugüne kadar LHON hastalığı için 18 farklı allel tanımlanmıştır ancak yine de sadece mtDNA mutasyonlarına bağlı

ortaya çıktığını söylemek güçtür. Nükleer DNA'dan da kaynaklanabildiği hatta bazı nadir vakalarda X'e bağlı mutant bir genle ortaya çıkabileceği gösterilmiştir (71).

2.7.1.2 Leigh Sendromu

Leigh sendromu özellikle beyin sapı ve bazal gangliyonları etkileyen nörodejeneratif bir hastalıktır. Hastalar genellikle laktik asidemi, hipotoni, ataksi, retinitis pigmentoza gibi bulgular ile süt çocukluğu döneminde tanı alırlar. Hastalarda gelişim basamaklarında gerileme, solunum problemleri, beslenme zorluğu sık karşılaşılan sorunlardır. Kanda, beyin omurilik sıvısında (BOS) ve dokularda laktat artışı görülür.

Nöropatolojik bulgular olarak; fokal simetrik kistik kavitasyon yapan nekroz alanları ve beynin spesifik bölgelerinde kapiller proliferasyon izlenen alanlar görülebilir. Özellikle kraniyal manyetik rezonans (MR) görüntüleme bulguları tanı koydurucudur. Bu hastalarda T2 ağırlıklı sekanslarda hiperintens, T1 ağırlıklı sekanslarda hipointens görünüm saptanır. Lezyonlar simetrik ve bilateral olup bazal gangliyon ve beyin sapı tutulumu sıktır (72) (73).

Leigh sendromunun hem nükleer hem mitokondriyal kaynaklı olabildiği gösterilmiştir. Bu nedenle kalıtımı hem otozomal resesif (OR) hem mitokondriyal kaynaklı olabilir (74). Örneğin kompleks I'de mitokondriyal (*MTND2*, *MTND3*, *MTND5*, *MTND6*) ve nükleer (*NDUFS1*, *NDUFS3*, *NDUFS4*, *NDUFS7*, *NDUFS8*, *NDUFA2*, *NDUFA9*, *NDUFA10*, *NDUFA12*, *NDUFAF6*, *NDUFAF5*) olmak üzere çok sayıda ilişkili gen bulunur.

2.7.1.3 Nöropati, Ataksi ve Retinitis Pigmentoza (NARP)

NARP, erken çocukluk döneminde duyuşal nöropati, proksimal nörolojik kas güçsüzlüğü, ataksi, öğrenme güçlüğü, unutkanlık, görme bozukluğu, pigmenter retinopati, ile karakterize bir mitokondriyal sendromdur. NARP'lı bireyler kronik ve stabil bir seyir izleyebildikleri gibi özellikle viral enfeksiyonların tetiklediği ataklarla ilerleyici hastalık tablosunda olabilirler.

Mitokondriyal genomda *MTATP6* geninde 8993 pozisyonundaki nokta mutasyon oranı %60'ın altında olan bireylerde asemptomatik ya da hafif klinik bulgularla seyredebilir. Genetik heterojenite klinik bulguların görülmesinde önem taşır (75).

2.7.2 Mitokondriyal tRNA Genlerindeki Tek Nükleotid Mutasyonları

2.7.2.1 Miyoklonik Epilepsi, “Red Ragged Fibers”(MERRF)

MERRF klinikte en sık miyokloni, jeneralize epilepsi, serebellar ataksi gibi semptomlarla karşımıza çıkar. Kas biyopsisinde “red ragged fibers” (RRF) görülmesi tipiktir. Egzersiz intoleransı, sağırılık, demans, periferik nöropati, büyüme gelişme geriliği, kardiyomiyopati

yada kardiyak iletim bozuklukları, pigmenter retinopati gibi semptomlarla da karşımıza çıkabilir (76).

Kanda ve BOS'da laktat ve piruvat artışı görülebilir. Miyokloni sık semptomlarından biri olan hastada kreatin kinaz (CK) yüksekliği görülebilir. En sık MERRF sendromu ile ilişkilendirilen mutasyon lizinin tRNA transportunu kodlayan *MT-TK* geninde *m.8344* pozisyonunda görülen mutasyondur.

Nöroradyolojik görüntülemede sıklıkla inferior olivar nükleus, serebellar dentat nükleus, pons ve gri madde tutulumu görülür. Erken dönemde daha çok gri madde tutulumu görülürken, ileriki dönemlerde ak madde tutulumu da eşlik edebilir.

Kas biyopsisinde Gomori trikom boyası ile RRF ve süksinat dehidrojenaz (SDH) boyası ile sarkolemmal birikimler görülebilir (77). *MT-TK*, *MT-TL1*, *MT-TH*, *MT-TS1*, *MT-TS2*, *MT-TF* genlerinde mutasyon tanımlanmıştır. Hastalık heteroplazmik kalıtım gösterdiğinden sıklıkla belli bir süre sonra birikim ile mutant DNA oranında artış olması ya da hücrelerin yaşla oksidatif fosforilasyon kapasitesinin düşmesi sonucu eşik değerin azalması ile hastalık kendini göstermeye başlar (78).

2.7.2.2 Mitokondriyal Miyopati, Ensefalopati, Laktik Asidoz ve İnme Benzeri Ataklar (MELAS)

MELAS Sendromu, mitokondriyal miyopati, ensefalopati, laktik asidoz ve inme benzeri atakların sıkça görüldüğü, nöbet, tekrarlayan baş ağrıları, iştme bozukluğu, diyabet ve kısa boy gibi semptomların eşlik edebileceği multisistem tutulumlu bir hastalıktır (79).

MELAS sendromu ile birliktelik sağladığı görülmüş ilk mutasyon mtDNA 3243 pozisyonundaki tRNA'da lösin kodlayan *MT-TL1* geninde adeninle guaninin yer değişmesi sonucu oluşan mutasyondur (*MTTL1* genindeki *c.3243A>G nükleotid değişimi*). Bunun dışında *MTTL1*, *MTTQ*, *MTTH*, *MTTK*, *MTTC*, *MTTS1*, *MTND1*, *MTND5*, *MTND6* ve *MTTS2* dahil olmak üzere mitokondriyal genom kaynaklı pek çok genetik mutasyon bildirildiğinden kalıtımının maternal olduğu düşünülmektedir (80).

Nöroradyolojik görüntülemede; ağırlıklı olarak temporal, pariyetal ve oksipital loblarda, klasik vasküler alanlar ile uyumlu olmayan, asimetric bölgelerde T2 ağırlıklı sekanslarda hiperintensite görünümü dikkat çekmektedir. Tutulum kortikal bölgede sınırlanmış da olabilmekle beraber, beyaz cevher tutulumu da görülebilmektedir. MR spektroskopisi (MRS)

kullanılarak bu hastalarda laktat piki görülebildiği ve hastalığın şiddeti ile ilişkili olabileceği bildirilmiştir (81).

Kas biyopsisinde, Gomori trikom boyası ile boyanmada kas liflerinin proliferasyonuna bağlı RRF dediğimiz kırmızı renkli yapılar görülebilir, *m.3243A>G* gen mutasyonu heteroplazmi derecesine göre sitokrom c oksidaz (COX) boyası ile normal, soluk veya artmış boyanma gösterebilir. MELAS sendromunda düz kas liflerinin histopatolojik değerlendirmesinde, SDH boyası ile kuvvetli boyanma özelliği görülür.

Kas örneklerinde enzim aktivitesinin biyokimyasal değerlendirmesinde en sık karşımıza kompleks I ve Kompleks IV eksikliği çıkar.

2.7.2.3 Letal İnfanıl Mitokondriyal Miyopati (LIMM)

Neonatal dönemde laktik asidoz, ağır hipotoni, kaslarda miyopati ve kardiyak tutulum ile seyreden, yenidoğan döneminde solunum yetersizliği nedeni ile ölüme neden olan bir hastalık grubudur. mtDNA’da treonin tRNA genindeki *MT-TF* mutasyonlarından kaynaklanır (82).

2.7.3 Mitokondriyal DNA Delesyon Sendromları

Tek ve büyük ölçekli mtDNA delesyonları toplumda 100.000’de 1.2 görülme sıklığına sahiptir ve klinikte sıklıkla 3 farklı fenotipte ortaya çıkarlar. En sık kronik progresif eksternal oftalmopleji (CPEO) (~%65) sonra Kearns Sayre sendromu (~%30) ve ardından Pearson sendromu (<%5) gelir (83).

2.7.3.1 Kronik Progresif Eksternal Oftalmopleji (CPEO)

Mitokondriyal DNA delesyonu sonucu en sık görülen klinik tablodur. Hastalar sıklıkla ekstraoküler kasların tutulumuna bağlı ptozla ve kas güçsüzlüğü ile başvururlar. Eşlik eden katarakt, işitme kaybı, duyuşal aksonal nöropati, ataksi, depresyon ve hipogonadizm gibi değişik semptomlarla karşılaşılabilir. Otozomal dominant (OD) ve OR yolla kalıtılabileceği gibi, de novo mutasyon sonucu sporadik vakalar görülebilir (83) (84).

2.7.3.2 Kearns-Sayre Sendromu (KSS)

Kearns-Sayre sendromu; merkezi sinir sistemi, kas, kardiyak ve endokrin sistem tutulumlarının eşlik ettiği geniş klinik spektrumlu, heterojen bir mitokondriyal sendromdur. Hastalık genellikle 20 yaşından önce başlar, retinopati ve progresif eksternal oftalmopleji ile kendini göstermesi karakteristiktir.

KSS tanısı koymada belirlenen bazı kriterler mevcuttur. Kalpte iletim bloğu, serebellar ataksi ya da beyin omurilik sıvısında artmış protein düzeyi bulgularından en az bir tanesinin

klirik semptomlara eşlik etmesi gerekmektedir. Bu kriterler karşılanmaz ise hasta PEO eksi, bu kriterlerin tamamı karşılanmaz ise hasta KSS eksi olarak adlandırılır. Mitokondriyal DNA delesyonu sonucu ortaya çıkabildiği gösterilmiştir (85).

2.7.3.3 Pearson Sendromu

Pearson sendromu, genellikle transfüzyonlara bağı sideroblastik anemi, pankreas yetersizliği ve laktik asidoz ile seyreden bir tablodur. Bu hastalarda kemik iliği tutulumuna bağı pansitopeni görülebilir. Onun dışında bildirilen bulgular proksimal miyopati, çeşitli nörolojik semptomlar, büyüme gelişme geriliği olup; karaciğer yetersizliği ile de ortaya çıkabildiğini göstermiştir. Etkilenen hastaların genellikle ilk 3 yaş içerisinde kaybedildiği bildirilmiştir. İnfanfil dönemde kaybedilmeyen bireylerin fenotipik olan KSS ile benzer özellikler taşıdığı gösterilmiştir (86) (87).

Pearson sendromu mtDNA üzerindeki büyük bir gen bölgesinin delesyonu sonucu ortaya çıkar. Ancak bu delesyon bölgesinin büyüklüğü ya da küçüklüğünden bağımsız bir klinik tablo eşlik eder. Nöroradyolojik görüntüleme değışkendir, tamamen normal olabileceği gibi, pek çok yerde tutulum gösterilebilmektedir (88) (89).

2.7.4 Mitokondriyal Deplezyon Sendromu (MDS)

MtDNA deplezyon sendromları, mitokondriyal deoksiribonükleozid trifosfat (dNTP) sentezi, mtDNA replikasyonunda, mtDNA tamirinde görev alan nükleer genlerde meydana gelen mutasyon sonucu oluşan klinik olarak değışken, OR kalıtım gösteren bir hastalık grubudur. Mitokondriyal dNTP yapımında koruyucu rol alan proteinler; timidin kinaz 2 (TK2), adenzin difosfat (ADP) - süksinil KoA ligaz beta alt birimi (SUCLA2), guanozin difosfat (GDP) - süksinil KoA ligaz alfa alt birimi (SUCLG1), ribonükleotid redüktaz M2 B alt birimi (RRM2B), deoksiguanozin kinaz (DGUOK) ve timidin fosforilaz (TYMP) geni tarafından kodlanır. Bu genlerde meydana gelen bir mutasyon, mitokondriyal DNA deplezyonuna neden olur. MtDNA replikasyonu için DNA polimeraz gama (POLG) ve Twinkle (C10orf2) gereklidir; bu genlerde meydana gelen mutasyonlar mtDNA içeriğinde azalmaya yol açarlar.

MDS pek çok sistem ve buna bağı semptomlar ile kendini gösterebilen heterojen bir tablodur. Klinik olarak MDS genellikle TK2'deki mutasyonlarla ilişkili miyopatik form; SUCLA2, SUCLG1 veya RRM2B'deki mutasyonlarla ilişkili ensefalomiyopatik form; DGUOK, mitokondri iç membran proteini 17 (MPV17), POLG veya C10orf2'deki mutasyonlarla ilişkili hepato-serebral form ve TYMP'deki mutasyonlarla ilişkili nörogastrointestinal form olarak 4 ayrı grupta sınıflandırılır (90) (91).

TK-2 ilişkili miyopatik formla ilgili bildiren vakalarda hastaların sıklıkla kas gücünde azalma, hipotonisite, proksimal kaslarda güçsüzlük, beslenme zorlukları, fasiyal kaslarda güçsüzlüğe bağlı dizartri gibi semptomlarla kliniğe başvurdıkları görülmüştür. Bu hastalarda kazanılmış fonksiyon kaybı belirgin olmakla birlikte, zeka genellikle korunmuştur. Kas tutulumu belirgin olduğundan eşlik eden CK yüksekliği ya da elektromiyografi (EMG)'de miyopati ile uyumlu görünüm destekleyicidir. İskelet kası biyopsisinde histopatolojik değerlendirmede bağ dokusu artışı, distrofik bulgular ve RRF görünümüne rastlanabilir. İskelet kasında solunum zinciri enzim analizlerinde en çok kompleks I, III ve IV'ün etkilendiği bildirilmiştir (92).

Ensefalomiyopatik MDS, SUCLA2 ve SUGL1 ilişkili genleri ile ilişkilendirilmiş olup, bu hastalarda şikayetler 6. aydan önce ortaya çıkar. Hipotonisite, kaslarda atrofi, psikomotor gelişimde gecikme, istemsiz atetoid ya da koreiform hareketler, beslenme güçlüğü, solunum yolu enfeksiyonlarına bağlı solunum yetersizliği sık görülen bulgulardır. Hem kanda hem BOS'ta laktat yüksekliği görülebilir. Motor nöron tutulumu düşünülen bireylerde EMG yardımcı olabilir. Nöroradyolojik görüntülemelerde, kortikal atrofi, gecikmiş miyelinizasyon ve bilateral bazal gangliyon tutulumu görülebilmektedir. İskelet kası biyopsisi ile histopatolojik değerlendirmede artmış mitokondri sayısı ve hücre içi lipid birikimi eşlik edebilir. İskelet kasında solunum zinciri enzim analizlerinde en çok kompleks I, III ve IV'ün etkilendiği bildirilmiştir (93) (94).

RRM2B mutasyonu olan vakalarda yaşamın ilk aylarında mikrosefali, hipotoni, gelişim geriliği, laktik asidoz, tübülöpato, psikomotor gecikme, sensorinöral işitme kaybı bulguları ile progresif seyir ve birkaç ay içinde ölüm bildirilmiştir (95).

DGUOK ilişkili hepato-serebral MDS olan bireylerde yenidoğan döneminde yaşamın ilk haftasında hipoglisemi, laktik asidoz ve eşlik eden çoklu organ hasarı görülür. Karaciğer tutulumu genellikle kolestaz, asit, ödem ve koagülopati ile ilerleyen neonatal veya infantil başlangıçlı karaciğer yetersizliğine neden olabilir. Karaciğer ve kasta mitokondri sayısında artış mtDNA miktarında azalma görülür. Bu hastaların karaciğer biyopsisi ile değerlendirilmesi tanıda aydınlatıcıdır. Karaciğer histopatolojisinde tipik olarak mikroveziküler yağlanma, köprüleşme fibrozisi, dev hücreli hepatit veya siroz benzeri bulgulara rastlanır. Karaciğer dokusunda solunum zinciri enzim analizinde kompleks I, III ve IV kombine eksikliği ile karşılaşılır (96) (97).

Hepato-serebral MDS, MPV17 ilişkilidir. Bildirilen vakalarda ilk bulgularının yenidoğan döneminde görüldüğü ve en sık hepatik, nörolojik ve metabolik problemlere yol açabileceği bildirilmiştir. Vakaların çoğunda karaciğer yetersizliği, hepatomegali ile karaciğer histopatolojisinde kolestaz ve siroz bulguları görülebilir. Karaciğer ve kasta mitokondri mtDNA miktarında belirgin azalma görülür. Solunum zinciri aktivitesinde en çok kompleks I ve III'de eksiklik ile karşımıza çıkar (98).

POLG mutasyonları ile ilişkili hastalıklar erken çocukluk döneminden geç yetişkinliğe kadar uzanan geniş bir dönemde görülebilir. Hepatoserebral MDS (Alpers sendromu) progresif ensefalopati, psikomotor gerilik, nöropati ve karaciğer yetersizliği ile kendini gösterebilir (99). Etkilenen bireylerde karaciğer tutulumu hızlı bir şekilde ilerleyerek karaciğer yetersizliğine yol açabilir. Nöroradyolojik görüntülemelerde yaygın beyin atrofi ve gliosis görülebilir. Karaciğer histopatolojisinde makro ve mikroveziküler steatoz, sentrilobüler nekroz, fibrozis, siroz, safra kanalı proliferasyonu gibi bulgularla karşılaşılabılır. C10orf2'deki mutasyonlar, erken başlangıçlı hepatoserebral MDS'nin nadir bir nedenidir.

TYMP mutasyonu sonucu ortaya çıkan bir diğer mitokondriyal deplesyon sendromu olan mitokondriyal nörogastrointestinal ensefalopati sendromu (MINGIE)'nde klinik belirtiler genellikle 20 yaşından önce başlar. Bildirilen vakalarda mide bulantısı, disfaji, gastroözofageal reflü, postprandial kusma, epizodik karın ağrısı, diyare, ilerleyici gastrointestinal dismotilite en sık görülen semptomlardır. Bu hastalar klinikte karşımıza ciddi kilo kaybı ile başvurduklarından maligniteler ile karışabilir. Bazı hastalarda periferik demiyelinizan motor nöropati ve duyuşal nöropati görülebilir. Ptoz ve oftalmopleji sık görülen bulgular arasındadır. Motor ve duyuşal sinir iletim hızlarını ve miyopatik değişiklikleri göstermede EMG yol göstericidir. Nöroradyolojik görüntülemelerde lökoensefalopati olarak adlandırılan beyaz madde tutulumu sıkça görülür. İskelet kası biyopsinin histopatolojik değerlendirmesinde RRF görülebilirken, solunum zinciri enzim aktivitesi ölçümünde en sık kompleks IV eksikliği veya çoklu solunum zinciri enzim eksiklikleri görülebilmektedir (100).

2.8 Nükleer DNA ilişkili Mitokondriyal Hastalıklar

Mitokondriyal hastalığa neden olan nükleer genom kaynaklı ilk mutasyon 1995 yılında bildirilmiştir. Kompleks II'nin polipeptid alt yapılarından birini kodlayan *SDHA* geninde mutasyonun tanımlanmasının ardından, hastalığa neden olan aday genlerin belirlenmesinde yeni ve büyük adımlar atılmıştır (101). Çalışmalarda nDNA'ya bağlı OR, OD, X'e bağlı ve de novo kalıtım olabileceği bildirilmiştir.

Tam ekzom dizileme (TED) yöntemi ile yaklaşık 20 yıldır yapılan çalışmalarda birden çok etkilenmiş bireyin bulunduğu aileler taranmış ve 270’den fazla hastalık ile ilişkilendirilmiş yeni mutasyonlar tanımlanmıştır (102). Klinik olarak etkilenen dokulardaki değişken heteroplazmi nedeni ile daha ciddi klinik bulgularla seyreden vakalarda sıklıkla OR kalıtım düşünülür. Yine bu nedenle erişkin hasta grubunda mtDNA mutasyonlarının daha sık görüldüğü; bebeklik, erken çocukluk döneminde semptom veren hasta grubunda sıklıkla tabloya nDNA mutasyonlarının yol açtığı düşünülmektedir.



OXPHOS Enzymes		DNA, RNA & Protein synthesis		Substrate	Cofactors	Homeostasis
Complex I	NDUFA1	Complex II	SDHA	PDHC	Thiamine	Lipid
	NDUFA2	Complex III	SDHB		SLC19A3	TAZ
	NDUFA9		SDHC		SLC25A19	AGK
	NDUFA10		SDHD		TPK1	SERAC1
	NDUFA11					DNAJC19
	NDUFA12	Complex IV	CYC1	Krebs cycle	Liboic acid	Protein Import
	NDUFA13		UQCRB		LIAS	TIMM8A
	NDUFB3		UQCRQ		LIPT1	AIFM1
	NDUFB9		UQCRC2		DLD	GFER
	NDUFB11		MT-CYB			PMPCA
	NDUFS1	ATP synthase		Carriers	FeS clusters	Protein quality
	NDUFS2		COX4I2		BOLA3	HSPD1
	NDUFS3		COX6A1		FDX1L	CLPB
	NDUFS4		COX6B1		FXN	CLPP
	NDUFS6		COX7B		GLRX5	LONP1
	NDUFS7		COX8A	Anapl.	IBA57	PITRM1
	NDUFS8		NDUFA4		ISCA2	AFG3L2
	NDUFV1		TACO1		ISCU	SPG7
	NDUFV2		MT-CO1		LYRM4	SACS
	MT-ND1		MT-CO2		NFU1	
Complex II	MT-ND2		MT-CO3	Ketone bodies	NFS1	
	MT-ND3	ATP synthase			NUBPL	
	MT-ND4		ATP5A1			
	MT-ND4L		ATP5E			
	MT-ND5		MT-ATP6			
	MT-ND6		MT-ATP8			
				Fatty acid oxidation	ADCK3	
					ADCK4	
					COQ2	
					COQ4	
					COQ6	
Complex I	NDUFAF1	C III	BCS1L	pi	Coenzyme Q	Fission, Fusion
	NDUFAF2		LYRM7		COQ7	DNM1L
	NDUFAF3		UQCC2		COQ9	GDAP1
	NDUFAF4		UQCC3		PDSS1	MFF
	NDUFAF5		TTC19		PDSS2	MFN2
	NDUFAF6	cvt. c oxidase	SURF1	FAD	CoA	OPA1
	ACAD9		CEP89		SLC25A46	SLC25A46
	FOXRED1		COX14		SLC25A1	STAT2
	TMEM126B		COX20		SLC25A42	ATAD3A
	NUBPL		COA5			
Complex II	SDHAF1	ATP syn.	FASTKD2	SAM		
	SDHAF2		PET100			
			ATPAF2			
			TMEM70			
		Ribosomes				
Complex I		Translation regulation		FAD		
		Ribosomes				

Şekil.2.8: Mitokondriyal hastalık ilişkili mutasyon bildirilen genler: Listelenen genler, protein işlevine göre sınıflandırılmıştır ve kırmızıyla gösterilen genler mtDNA, siyahlar nDNA'yı ifade ederken, mor gölgeli genler, metabolik hastalık tablosu olmaksızın tümörgezenizde yer alan genlerdir (Mayr ve ark., 2015).

2.9 Laboratuvar ve Radyolojik Bulgular

Mitokondriyal hastalık tanısı koymada klinisyenin bu hastalığı bilmesi ve mevcut klinik bulguları doğru değerlendirerek şüphe duyması önemlidir. Fenotip, genotip korelasyonunun olmaması nedeni ile hastanın biyokimyasal analizler ve radyolojik görüntülemeler ile doğru değerlendirilmesi ve destekleyici bulgular tanıya giden yolda büyük önem taşımaktadır.

Mitokondriyal solunum zincirinin yeterli çalışmaması nedeniyle kan, idrar ve BOS'ta laktat seviyesi yüksek saptanabilir. Laktat yüksekliği yol gösterici olmakla beraber normal olması tanıyı dışlatmaz. Bazı hastalara dekstroza verildiğinde solunum zinciri bozukluğuna bağlı laktat değerlerinde yükselme görülebildiğinden, açlık ve toklukta sırasıyla bakılan laktat düzeyi yol gösterici olabilir. Yine laktat / piruvat (L/P) oranında artış görülebilir. Bazen her ikisinde de yükselme olmasına bağlı olarak özellikle PDH eksikliğinde mevcut oran normal kalabilir. BOS'da görülen laktat artışı değerlendirilirken, ensefalit, enfeksiyonlar, tiamin eksikliği, doku hipoksisine neden olabilen yeni geçirilmiş nöbet gibi durumlarda da laktat yüksekliği görülebileceğinden önce ikincil laktat artışı oluşturabilen durumlar dışlanmalı, sonra mitokondriyal hastalıklar akla gelmelidir.

Kanda aminoasit analizinde alanin aminotransferaz (ALT) tarafından piruvatın transaminasyonuna bağlı alanin düzeyinde yükseklik görülebilir (103). İdrarda organik asit analizinde laktat ya da malat, süksinat, 2-okzaloglutarat ve fumarat gibi TCA döngüsü ara ürünlerinde artış görülebilir. Hastalık nedeni ile tübülopati gelişen vakalarda jeneralize aminoasidüri olabilir. Anaerobik solunum ürünü keton cisimlerinin metabolize olmasıyla oluşan 3-hidroksi-bütirat ve asetoasetat düzeylerinin kanda ve idrarda arttığı görülebilir. (104) (105).

Plazma asil karnitin düzeyleri mitokondriyal hastalığı diğer metabolik hastalıklardan dışlamak amacıyla kullanılabilecek yardımcı bir laboratuvar yöntemi olması açısından önem taşır. Bu analizle yağ asidi oksidasyon bozukluklarını solunum zinciri hastalıklarından ayırmak mümkün olabilir (106) (107).

Mitokondriyal hastalığa sahip bazı bireylerde kemik iliği tutulumu ya da Pearson sendromunda olduğu gibi sideroblastik anemi benzeri tablo görülebildiğinden hastanın tam kan sayımının, anemi, lökopeni, trombositopeni açısından değerlendirilmesi gerekir. Aynı zamanda mevcut hastalığa eşlik edebilecek diğer sistem tutulumlarını belirlemek ya da dışlamak

amacıyla böbrek, karaciğer ve tiroid fonksiyon testlerine bakılmalı, kas tutulumu düşünülen hastalarda CK düzeyi ile rabdomiyoliz durumu ve atak anındaki değerleri izlenmelidir (105).

Mitokondriyal hastalığın tanısında son çalışmalarda fibroblast büyüme faktörü 21 (FGF21) ve büyüme farklılaşma faktörü 15 (GDF15) seviyesinin yükselebildiği ve yol gösterici olabileceği bildirilmiştir (108) (109).

Kas tutulumunun periferik nöropati açısından değerlendirilmesinde EMG yol göstericidir. Merkezi sinir sistemi bulgusu olan hastaların elektroensefalografi (EEG) ile değerlendirilmesi gerekir. Görsel uyarılmış potansiyel (VEP) ve elektroretinogram (ERG) ile göz, oto akustik emisyon (OAE) ile işitmenin değerlendirilmesi önemlidir. Kardiyak tutulum açısından elektrokardiyografi (EKG) ve EKO ile her hasta mutlaka taranmalıdır.

Mitokondriyal hastalıklar en sık kas ve merkezi sinir sistemi (MSS) bulguları ile ortaya çıktığından MSS değerlendirmesinin nöroradyolojik görüntülemeler ile desteklenmesi büyük önem taşır. Hastalarda görüntüleme bazen normal olabildiği gibi çok çeşitli bulgular gösterebilir. Sadece nöroradyolojik görüntüleme ile bu hastalıklardan şüphe duymak mümkündür. Bilateral bazal gangliyon veya gri cevher tutulumu, inme benzeri lezyonların vasküler patoloji ile açıklanamayan atipik alanlarda görülmesi, yaygın ak madde ve beyin sapı tutulumu özellikle mitokondriyal hastalığın tipik radyolojik bulgularındandır.

MRS tetkikinde oksidatif zincir kusuruna bağlı artmış laktat ya da azalmış N-asetil aspartat (NAA) düzeyinin gösterilmesi yine tanıda önem taşır (105).

2.10 Histopatolojik Bulgular

Mitokondriyal hastalık en çok kas sistemi tutulumu ile kendini gösterdiğinden özellikle tutulan doku ve o dokudan biyopsi örneğinin değerlendirilmesi büyük önem taşır. Histopatolojik değerlendirme her zaman spesifik bulgular göstermese de tanıya giden yolda önemlidir. Moleküler yöntemlerin gelişmesiyle invazif yöntemlerden her ne kadar uzaklaşmaya çalışılsa da günümüzde bu yöntemler halen önemini korumaktadır.

Histopatolojik değerlendirmede kullanılan histokimyasal boyalar mitokondriyal hastalığa bağlı miyopati bulgularını göstermede yardımcı olurlar. Hematoksilen bazik bir boya olup DNA, RNA gibi nükleik asitleri asidik yapıları mor-mavi renge boyar. Eozin asidik bir boya olup proteinler gibi bazik yapıda molekülleri pembe-kırmızı renge boyar. Kas liflerinin büyüklüğünü ve anormal birikimleri göstermede yardımcı olur.

Modifiye Gomori trikom boyası bağ dokusu, çekirdek ve mitokondriyal birikimleri göstermede yardımcı olan bir diğer histokimyasal boyadır. Subsarkolemmal birikimler, intermiyofibriller kırmızı görünür. Genişlemiş ve anormal mitokondrilerin subsarkolemmal birikimi sonucu RRF oluşur ve mitokondriyal miyopatiler açısından tanı koydurucu olabilir (110). Ancak yaşlanma, kronik polimiyozit, kas distrofisi ile giden sendromlar, kronik miyopatilerde görülebileceği ve bazı ilaçların (zidovudin, statin) kullanımı sonrası da ortaya çıkabileceği unutulmamalıdır. RRF görülmesi mitokondriyal miyopatilerde yol gösterici olmasına karşın, spesifik değildir.

Bu boyalar dışında NADH dehidrojenaz boyası kompleks I aktivitesini göstermede, SDH boyası kompleks II aktivitesini göstermede, COX boyası kompleks IV aktivitesini değerlendirmede yol göstericidir. Burada enzim aktivitesi azalmış lifler mozaik boyanma, soluk boyanma veya boyanmama (negatif kalma) gibi özellikler gösterebilirler.

Serbest yağ asitlerinin oksidasyonu yine mitokondri aracılığı ile olduğundan mitokondriyal fonksiyon bozukluğu olan bireylerde kas içi yağ oranında belirgin artış görülmektedir. Bu birikim ise “Sudan Black B” ve “Oil Red O” boyları aracılığı ile gösterilebilir. Bu boyalar yağ damlacıklarını siyah veya turuncu-kırmızı renge boyayan yağda çözünebilir boylardır. Lipit birikim miyopatisi olarak adlandırılan bu tablo mitokondriyal hastalıklara spesifik değildir. Yağ asidi oksidasyon bozuklukları ya da musküler miyopati benzeri tablolarda da sıkça karşılaşıldığı görülmüştür. Yine mitokondriyal hastalık şüphesinde mikroskopik değerlendirme ile mitokondrilerin sayısı, büyüklüğü ve yapısal özelliklerini değerlendirmek mümkündür ve yol göstericidir (111).

2.11 Solunum Zinciri Enzim Aktiviteleri

Mitokondriyal hastalık düşünülen bireylerde doku örneklerinin biyokimyasal değerlendirmesi, solunum zincirinde görev alan enzim aktivitelerinin ölçümüne dayanır. Bu ölçüm yapılırken spektrofotometrik yöntemler kullanılır. Laboratuvarlarda enzim aktivitesi ölçümlerinde “blue native gel” elektroforezinin ardından “Western blot” analizi ya da kolorimetrik ölçümler ile enzim aktiviteleri değerlendirilir (112).

Bu tetkik sonuçları değerlendirilirken enzim aktivitesi için belirlenen referans aralıklarının yaşa bağlı değiştiği göz önünde bulundurulmalı ve hafif enzim eksikliklerinin gözden kaçması ve saptanamaması olasılığı nedeniyle normal değerler dikkatle en düşük referans değere yakın olan düzeyler de göz önünde bulundurularak değerlendirilmelidir. Bu tetkik diğer tanı

yöntemleri ile birlikte değerlendirilmeli, normal olmasının mitokondriyal hastalık tanısını dışlatmayacağı unutulmamalıdır (113).

2.12 Moleküler Analizler

Günümüzde teknolojinin gelişmesi ve moleküler genetik alanında yapılan çalışmalarının önünün açılması sayesinde mitokondriyal hastalık tanısında invazif olmayan yöntemlerin önem kazandığı ve geleneksel tanı yöntemlerinden uzaklaşmaya başlanan yeni bir döneme girilmiştir.

Hastanın aile öyküsü bu konuda oldukça yol gösterici olup, mutasyonun nDNA veya mtDNA kaynaklı olup olmadığı konusunda bilgi verebilmektedir. Anne baba arasında akraba evliliği olan tek jenerasyonun etkilendiği vakalarda OR kalıtım, birden fazla etkilenmiş bireyin olduğu bir ailede ise OD kalıtım ön planda düşünülmelidir. Bir ailede sadece erkek çocuklar etkilenmişse X'e bağlı resesif kalıtım, annenin hasta olduğu çocukta da benzer hastalık görülen vakalarda maternal kalıtım düşünülmelidir. Hastanın fenotipi belli bir mitokondriyal sendrom düşündürüyorsa öncelikli olarak o sendroma en sık neden olan gen mutasyonları araştırılmalıdır (114).

Periferik kan, nDNA taramasında yeterli olurken, mtDNA analizi planlanan bireylerde hastalığın heteroplazmi özelliği nedeni ile özellikle tutulan dokudan biyopsi örneğinin daha doğru sonuç verebileceği bildirilmiştir.

Mitokondriyal solunum zinciri bozuklukları ile ilgili tanımlanmış pek çok gen mutasyonu olması karşın, henüz tanımlanmamış ya da yeni bildirilen gen mutasyonları bulunmaktadır. Hem nDNA hem mtDNA kaynaklı olması ve heteroplazmi özelliği nedeni ile moleküler analiz ile tanı konusunda halen güçlükler bulunmaktadır.

Genetik tanı için, aday genlerin tüm ekzonlarının ve ekzon-intron sınır bölgelerinin polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) yöntemi ile çoğaltılması ve sonrasında dizilenerek elektroforez aracılığı ile gösterilmesi Sanger dizileme yöntemi olarak adlandırılır. Klinik ve biyokimyasal yöntemlerle değerlendirilen hastalarda özellikle belli bir gen tutulumu düşünülüyorsa kullanımı faydalıdır. Ancak heterojen gruplarda bu yöntem ile tanıya ulaşabilmek zordur, öncesinde mutlaka aday genin belirlenmesi gerekir (115).

Sanger dizileme yönteminin pratikte kullanımının çok uğraş gerektirmesi, zaman alması ve maliyet gibi sorunlar nedeniyle yeni dizileme teknolojileri geliştirilmeye çalışılmıştır. Bu amaçla YND yöntemleri ortaya konulmuştur. Biyokimyasal mekanizması Sanger yönteminden

oldukça farklı olup floresan ile işaretlenmiş nükleotid ve elektroforez gerektirmemesi, aynı anda çok sayıda belirlenmiş gen üzerinde dizileme yapılabilmesi açısından üstünlük taşır. YND yöntemi ile hastalığa en sık sebep olduğu gösterilmiş nükleer ve mtDNA mutasyonlarının araştırılması günümüzde tercih edilmeye başlanmıştır (116).

Klinik olarak yapılan değerlendirmenin yönlendirici olmadığı ve hedef bir gen bulunmakta zorlanılan hastalarda TED en sık kullanılan dizileme yöntemidir. Ekzom protein kodlayan genom parçalarıdır. Tüm genomun %2'den azını oluşturup, hastalığa neden olan patolojik varyantların çoğunu içerir. İntron kısımlarının kırılarak ekzomların birleşiminden oluşan bu bölgelerin dizilenmesi tüm genom dizileme (TGD) yöntemine göre daha uygun bir yöntemdir. TED ve TGD henüz tanımlanmamış yeni patolojik varyantların gösterilmesinde büyük önem taşır, ancak burada elde edilen varyantların fonksiyonel çalışmalar ile doğrulanması gerekir. Tüm genom dizileme tüm yapısal varyantları ortaya koyması açısından önem taşır, ancak protein kodlayan tüm genler dizileneceği için, elde edilen verilerin filtrelenmesi ve yorumlanması oldukça zaman alır. TGD bazı açılardan TED yöntemine göre üstünlük gösterse de klinikte pratik kullanıma uygun değildir.

2.13 Prenatal Tanı ve Genetik Danışmanlık

Mitokondriyal hastalıktan sorumlu nükleer genin saptandığı vakalarda, annenin gebeliğinde 11-12. gestasyon haftasında koryon villüs örnekleme veya 15-17. gestasyon haftasında amniyosentez yapılarak aileye prenatal tanı vermek mümkündür. Ancak annedeki mtDNA'ya ait mutasyonun bilinmesi durumunda çocuğun bu hastalığı taşıyıp taşımayacağı konusunda kesin bir bilgi vermek mümkün olmaz. Homoplazmik mutasyonlar çocuğa homoplazmik iletilirken, heteroplazmik mutasyon söz konusu olduğunda çocuğa ne kadar mutasyon yükü olan mitokondrinin ovum ile aktarıldığını tahmin etmek güçtür. O yüzden prenatal tanı nDNA mutasyona sahip ancak kendi yumurtası ile gebe kalmak isteyen anne adaylarına önerilir (117).

MtDNA mutasyonu taşıyan anne adaylarında yeni bir yöntem olarak mitokondri vericiliği düşünülmektedir. Pronükleer transfer olarak bilinen bu yöntemle her iki ebeveyninin nDNA'sını içeren pronükleus döllenmiş yumurtadan çıkarılarak, sağlıklı mtDNA içeren ancak pronükleusların çıkarıldığı bir verici yumurtasına aktarılabilir ancak etik sorunlar nedeni ile günümüzde kullanımı halen tartışılmaktadır (118).

2.14 Mitokondriyal Hastalık Tanı Kriterleri

Mitokondriyal hastalığın tanısında yaşanan güçlükler nedeni ile bu süreçte yol gösterici olması amacıyla mitokondriyal hastalık tanı kriterlerinin belirlenmesi bir dönem bilim adamlarının ilgi odağı olmuştur. İlk kez 1996 yılında Walker ve arkadaşları yetişkinler için tanı kriterleri belirlemişlerdir (119). Bu kriterlerden yola çıkılarak pediatrik hastalar için kullanıma uygun mitokondriyal hastalık tanı kriterleri skrolama sistemi Wolf ve arkadaşları tarafından önerilmiştir. Bu kriterlere göre hasta klinik özellikleri, laboratuvar bulguları, metabolik tetkikleri, görüntüleme yöntemleri ve kas biyopsisi ile yapılan histopatolojik değerlendirme sonuçları ile beraber değerlendirilir ve puanlanır. Bu puanlamaya göre 1 puan “olasılık dışı”, 2-4 puan “düşük olasılık”, 5-7 puan “yüksek olasılık”, 8-12 puan “kesin” şeklinde gruplandırılır ve hastalar puanlamadan maksimum 12 puan alacak şekilde değerlendirilirler (120). (Mitokondriyal hastalık tanı kriterleri skrolama sistemi Ek-1’de gösterilmiştir.)

2.15 Tedavi

2.15.1 Semptomatik ve Destekleyici Tedaviler

Mitokondriyal hastalıklar bazen tek sistem tutulumu ile ortaya çıksa da sıklıkla multisistem tutulumu gösterirler. Bu hastalar değerlendirilirken sistemlerin tek tek değerlendirilmesi ve multidisipliner yaklaşımın sağlanması önem taşır.

Hastalarda uygun beslenmenin sağlanması ve besin ögesi eksikliklerin yerine konulması önem taşır. Bu hastaların önemli bir kısmında bulantı, kusma ve buna bağlı yetersiz kalori ve sıvı alımı görülebildiğinden hastaların büyüme ve gelişmesi yakından izlenmelidir. Yutma fonksiyonlarında bozukluk görülen, disfaji ve ciddi gastroözofageal reflüsü mevcut olan hastaların beslenmesine gerekli ise nazogastrik sonda (NGS) ya da perkütan gastrotomi (PEG) ve jejunostomi gibi alternatif yöntemlerle devam edilmeli, beslenme içeriği ve yöntemleri açısından aile eğitimi verilmelidir. Gastrointestinal motilite bozukluğuna bağlı kronik kabızlığı olan hastalar lifli gıdalar ile beslenme ve sıvı tüketimi konusunda uyarılmalı, gereksinim halinde osmotik laksatifler ile desteklenmelidir. Kas güçsüzlüğü, motor fonksiyonlarında bozulma olan hastalar fizik tedavi, mental geriliği olan hastalar özel eğitim açısından desteklenmelidir (121).

Merkezi sinir sistem tutulumu nedeniyle nöbet geçiren hastaların antiepileptik tedavisinin erken düzenlenerek nöbet sıklığının azaltılmaya çalışılması, nöbetlere bağlı oluşabilecek

kortikal hasarı önlemek açısından büyük önem taşır. Ancak antiepileptik tedavi düzenlenirken hasta iyi değerlendirilmelidir. POLG mutasyonu taşıyan bireylerde valproik aside bağlı hepatotoksisite görülebileceği bildirilmiş olup, tanı kesin değilse ya da hasta Alpers sendromunun fenotipik özelliklerini gösteriyor ise bu tedaviden kaçınılması gerekir (122). Bunun dışında anestezi maddelerden propofol de yine mitokondriyal hastalığı olan bireylerde hepatotoksisite yapabildiğinden kaçınılması gereken bir ajandır.

Nörolojik tutulumu olan bireylerde sık karşılaşılan diğer semptomlar spastisite ve distonidir. Bu hastalara fizik tedavi uygulanmalı, gereksinim halinde kas gevşetici ajanlar ile hasta desteklenmelidir. Baklofen pompası ve botulinum toksin enjeksiyonu dirençli ve ağır vakalarda kullanılabilmektedir (123).

Kardiyak tutulumu olan hastalarda; kardiyomiyopatiye bağlı kalp yetersizliği gelişti ise ona yönelik tedavi düzenlenmeli, atriyoventriküler bloğu olan hastalara gerekirse kalp pili takılmalıdır. Pankreas tutulumunda pankreas adacık hücre disfonksiyonuna sekonder insüline bağımlı diyabet gelişme riski mevcut olduğundan gereksinim halinde sülfonilüre ve insülin tedavisi desteği ve kan şekeri regülasyonunun yakından izlenmesi önem taşır.

Mitokondriyal hastalarda dikkat edilmesi gereken bir diğer sistem solunum sistemidir. Yutma fonksiyonlarında yetersizliğe bağlı sık aspirasyonlar, diyafram kaslarında güçsüzlük ve eşlik eden kardiyak hastalıklar, kronik solunum yetersizliğine zemin hazırlarlar. Özellikle anestezi gerektiren işlemler sonrasında kolaylıkla dekompanse olabilecekleri unutulmadan hastalar yakın izlenmelidir. Diyafragma kaslarındaki zayıflık nedeni ile oluşan solunum problemlerinin erken dönemde aralıklı noninvazif pozitif basınçlı ventilasyondan fayda gördüğü gösterilmiş olmakla beraber, trakeostomi ile mekanik ventilatör kullanımına kadar giden dirençli vakaların da olabileceği unutulmamalıdır. Solunum tutulumu olan hastalara influenza aşısı, pnömokok aşısı mutlaka önerilmeli ve primer korunma sağlanmaya çalışılmalıdır (124).

2.15.2 Mitokondriyal Hastalığa Yönelik Tedaviler

Mitokondriyal disfonksiyona bağlı gelişen laktik asidoz mitokondriyal hastalık grubunda sıkça karşılaşılan bir problemdir. Bu hastalarda asit baz dengesinin sağlanıp, asidozun düzeltilmesinde sodyum bikarbonat kullanılabılır. Laktik asidozun önlenmesinde bir diğer seçenek dikloroasetattır. Dikloroasetat, PDH kinazı inhibe ederek PDH aktivitesini artırır ve laktat düşüşünü sağlar. Ancak periferik sinir toksisitesine neden olabilen bir ajan olduğundan uzun süreli kullanımda güvenilirliği tartışmalıdır (125) (126).

Koenzim Q10 (CoQ10) biyosentez bozukluđuna bađlı olan CoQ10 eksikliđi yüksek dozla desteklenmelidir. Diđer mitokondriyal hastalıklar dűřünűlen bireylerde de antioksidan etkisinden faydalanmak amacıyla dűřűk dozdan tedavi uygulanabilir (127). Riboflavin (vitamin B₂), Kompleks I ve II'de FAD aracılıđıyla elektron tařınmasında dűngűye katkıda bulunur. Tiamin, PDH eksikliđi olan hastalarda enzim aktivitesini artırmak amacıyla kullanılır. Biotin-tiamin yanıtlı bazal gangliyon hastalıđında yüksek dozda tiamin ve biotin desteđi uygulanır. Bazı mitokondriyal hastalıklarda 5-metiltetrahidrofolat eksikliđinin gűrűlebildiđinden folik asit desteđinin faydalı olabileceđi bildirilmiřtir. Mevcut hastalıđın tanısı koymak gűç olduđundan ve zaman gerektirdiđinden, tetkikler sonuçlanana kadar klinik řűphe halinde bu destekler hastaya bařlanabilir ve klinik etkinliđi gűzlenebilir (114).

Arjinin, űzellikle MELAS sendromunda hem akut tedavi, hem de inme benzeri atakların űnlenmesinde etkinliđi kanıtlanmış bir ajandır. Arjininin nitrik oksit sentezini sađlayarak damar regűlasyonunu kontrol altına aldıđı ve bu řekilde inme benzeri atakların sıklıđını azalttıđı dűřűnűlmektedir (128).

Karnitin hűcre sitoplazmasından uzun zincirli yađ asitlerinin mitokondri iğerisine taşınmasını sağlar. Bu şekilde yađ asitlerinin beta oksidasyon ile yıkımının desteklenmesi amaçlanmıştır (129).

Mitokondriyal fonksiyonları artırılması, serbest oksijen radikallerinin azaltılması amacıyla iyi bir antioksidan olan E vitamini kullanımı dűřűnűlműř ancak biyoyararlılıđının dűřűk olması, kanda titre etmesi zorluđu ve yüksek dozda kullanımın yol aęabileceđi kardiyak komplikasyonlar nedeni ile kullanımı sınırlı kalmıřtır. Bir vitamin E analođu olarak EPI-743 ile yapılan çalıřmalarda, Leigh sendromlu hastaların yařam kalitesi ve klinik űzelliklerinde iyileřme gűsterilmiřtir (130).

Mitokondriyal TORC1 (mTORC1) protein kompleksi hűcre sitoplazmasında bulunur ve mitokondrinin rol oynadıđı anabolik olaylarda bűyűmeyi destekleyen sinyallerin tanınmasında gűrev alır. Deney hayvanları dűzeyinde yapılan bazı çalıřmalarda mTORC1 inhibitűrű rapamisin kullanımının Leigh sendromlu hastalarda klinik bulguları hafiflettiđi bildirilmiřtir (131).

Acipimox, NAD űncűlű bir molekűl olup 31 tip 2 DM tanılı hastada yapılan çalıřmada, mitokondriyal protein yapımını artırdıđı ve oksidatif fosforilasyon űzerinde olumlu etki gűsterdiđi bildirilmiřtir (132).

TK2 eksikliği olan fare modellerine deoksiribonükleik asit desteği verilmesi halinde mtDNA kopya sayısı ve solunum zinciri fonksiyonunun arttığı bildirilmiştir. Bu prensip esas alınarak TK2 mutasyonu taşıyan bireylere özgü tedavi modelleri oluşturulmaya çalışılmaktadır (133).

MINGIE’de timidin fosforilaz enzim kusuru olmasına bağlı kanda timidin ve deoksiüridin birikir. Bu hastalarda allojenik kök hücre nakli denenen tedaviler arasındadır (134). Mitokondriyal hastalıklar sıklıkla multisistemik tutulumla seyrettiğinden organ nakli önerilmemekle beraber, tek sistem tutulumu görülen sınırlı hastada solid organ nakli denenebilir (114).

2.15.3 Yeni Nesil Gen Tedavileri

Kümelenmiş Düzenli Aralıklı Kısa Palindromik Tekrarlar (CRISPR) - Cas9 sistemi, üzerinde tanımlı varyant bulunan DNA’daki ekzon bölgesinin vektör RNA aracılığı ile mutasyonlar oluşturmak veya spesifik hastalık allelini düzeltmek için düzenlemesinde yaygın olarak kullanılan bir yöntem olmakla beraber son 10 yılda bu yöntemin geliştirilmesine ve kullanılmasına sağladıkları katkılarla Charpentier ve Doudna, 2020 senesinde kimya dalında Nobel ödülüne layık görülmüşlerdir.

Spesifik hastalıkların tedavisinde umut vadeden gelişmelerden biri olan CRISPR-cas9 yöntemi ile yapılan, mtDNA kopya sayısının artırılması ve hastalığın iyileştirilmesi yönünde hayvan deneyleri bulunmakta olup bunlardan biri 2019 senesinde Karolinska Enstitüsünde fareler üzerinde denenmiştir. Mitokondriyal DNA kopya sayısını kontrol eden bir protein olan mitokondriyal transkripsiyon faktör A (TFAM)’ın ekspresyonunu CRISPR-cas 9 yöntemi ile artırılmaya çalışıldığı ve bu şekilde replikasyonun arttığı ve semptomların azaldığı gösterilmiştir (135).

LHON tanı alan hastaların yaklaşık %70’inde kompleks 1’in yapısını oluşturan *MT-ND4* proteinini kodlayan gende mutasyon görülmüş olup, retinal gangliyon hücrelerinin mitokondriyal disfonksiyona bağlı apoptotik hücre ölümüne ve ardından optik atrofiye yol açtığı gösterilmiştir. Yapılan bir diğer gen terapi yöntemi olarak; LHON tanılı hastalarda “rAAV2/2-ND4” yani insan vahşi tip ND4 proteinini kodlayan ve ekspresyonunu destekleyen modifiye edilmiş sirküler DNA (cDNA) içeren adeno ilişkili bir virüs geliştirilmiştir. Faz III çalışması olarak sınırlı sayıda vaka üzerinde intravitreal “rAAV2/2-ND4” enjeksiyonu yapılan hastaların bir kısmında görme alanında iyileşme olduğu gösterilmiştir. (136)

3. MATERYAL METOD

İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Beslenme ve Metabolizma Bilim Dalı Polikliniği'nde mitokondriyal hastalık tanısı ile izlenen 240 hastanın çalışma grubunu oluşturması ve hasta bilgilerinin geriye dönük incelenmesi planlandı. Çalışma için İstanbul Üniversitesi Tıbbi Etik Kurulu'ndan etik kurul onayı (Tarih ve Sayı: 17/08/2020-118239) alındı.

Arşiv bilgilerine göre çalışma grubuna mitokondriyal hastalık tanısı nedeniyle dahil edilmiş olan ancak dosya değerlendirmesi sonucu bu tanının dışlandığı görülen hastaların çalışma grubuna dahil edilmemesi planlandı. Mitokondriyal hastalık tanılı hastaların klinik, laboratuvar, radyolojik, biyokimyasal, histopatolojik bulgular ve moleküler analiz sonuçlarına hastane otomasyon sistemi kayıtları ve hasta dosya bilgilerinden ulaşılmasına karar verildi.

Hastaların cinsiyet, doğum haftası, doğum tartısı, ilk klinik bulgu yaşı, ailede akraba evliliği durumu, var ise derecesi, ailede benzer hastalık, bebeklik ya da yenidoğan döneminde kaybedilen kardeş ya da akraba öyküsü açısından araştırılması, yaşam ve sağlık durumunun değerlendirilmesi planlandı.

Mitokondriyal hastalıklar, değişken klinik bulgular gösterebildiğinden hastalığın multisistem ya da tek sistem tutulumlu olma durumunun ve vakaların kas, merkezi sinir, periferik sinir, hematolojik, gastrointestinal, endokrin, kalp, üriner sistem ile göz, kulak ve deri tutulumunun değerlendirilmesi planlandı.

Çalışma grubunun izlem sürecinde alınan bilgiler doğrultusunda; kronik, intermitten, progresif, kronik-intermitten ve progresif-intermitten seyirli olarak sınıflandırılması planlandı.

Kas sistemi bulgularından; ptoz ve miyopatik yüz görünümü, azalmış kas gücü, egzersiz intoleransı ve rabdomiyoliz atakları açısından hastaların değerlendirilmesi planlandı.

MSS değerlendirmesinde; kas tonusunda artış ve distoni, nöbet geçirme ve miyoklonik aktivite, yutma güçlüğü ve otonom disfonksiyon, ataksi ve tremor, inme benzeri atak, migren, psikomotor sosyal gerilik (PMSG) ve kazanılmış fonksiyon kaybı açısından hastaların değerlendirilmesi planlandı.

Hastaların kaba motor fonksiyon sınıflandırma sistemi (KMFSS) ile motor becerileri açısından sınıflandırılması (Ek-1), mental durum değerlendirmesi Çocuk Ergen Ruh Sağlığı AD'nın değerlendirmeleri esas alınarak yapılması, dosya bilgilerinde değerlendirmesi

bulunmayan hastalarda mevcut veriler yeterli ise; sosyal kriterlere göre değerlendirme yapılması planlandı (Ek-2).

Hematolojik sistem bulgularının kan sayımı değerleri ile; anemi, lökopeni, trombositopeni, pansitopeni açısından değerlendirilmesi planlandı.

Gastrointestinal sistem değerlendirmesinde, akut ya da kronik karaciğer yetmezliği, büyüme geriliği (vücut ağırlığının <3. persantil ya da -2 standart sapma (SS) altında olması), tekrarlayan kusma atakları ve açıklanamayan kronik ishal ve yardımcı beslenme yöntemlerinden NGS ve PEG uygulamasının sorgulanması planlandı.

Endokrin sistemde diyabetes mellitus, gecikmiş puberte, hipoparatiroidizm, hipotiroidi ve hormonal tetkik sonuçlarının değerlendirilmesi planlandı.

Kardiyak değerlendirmede EKG ve EKO bulguları, kardiyomiyopati, dal bloğu ve ritim problemleri verilerinin dâhil edilmesi planlandı.

Üriner sistem tutulumu için; tam idrar tahlilleri, böbrek fonksiyon testleri ve ultrasonografi (USG) görüntüleme raporları değerlendirilerek; proksimal tübüler disfonksiyon, renal kalkül ve proteinüri bulgularının sorgulanması planlandı.

Göz ve görme açısından katarakt, pigmenter retinopati, optik atrofi ve VEP-ERG değerlendirmelerinin dâhil edilmesi planlandı. İşitme için oto akustik emisyon testi, deri bulgularından vitiligo ve dirençli dermatit bulgularının değerlendirilmesi planlandı.

Hastaların biyokimyasal değerlendirmelerinde; başvuru anında metabolik asidoz, laktat yüksekliği, CK, AST, ALT, amonyak düzeyleri, idrarda keton; metabolik açıdan yapılan analizlerde ise, asilkarnitin profili, kanda piruvat, laktat/piruvat oranı, alanin yüksekliği (pirüvatın metabolize edilememesi sonucu alanine dönüşerek kandaki düzeyinin yüksek bulunması), patolojik organik asit profili (laktik asit, TCA siklus ara metabolitleri, dikarboksilik asitler vb.) ve BOS'ta laktat sonuçlarının çalışmaya dahil edilmesi planlandı.

Kraniyal MR görüntüleme bulguları, “normal”, “sinyal artışı”, “atrofi”, “kistik değişiklikler” ve “diğer” olarak sınıflandırılarak; sinyal görülme lokalizasyonlarının (bazal gangliyon, beyin sapı, ak madde, gri madde, diğer) ve MRS bulgularının değerlendirmeye alınması planlandı.

Kas biyopsilerindeki histopatolojik bulguların çalışmaya dahil edilmesi, COX, SDH gibi boyalarla hastalık ile uyumlu boyanma özelliği gösteren ya da mitokondri yapısında çap

farkı, sayısında azalma gibi patolojik bulgular mitokondriyal miyopati olarak tanımlandı ve bulguların mitokondriyal miyopati, “red ragged fibers” ve lipid birikim miyopatisi olarak sınıflandırılması planlandı.

Kan, kas ya da fibroblastlardan yurt dışındaki ya da yurt içindeki ilgili laboratuvarlarda çalışılmış olan solunum zinciri enzim aktivitelerinin çalışmaya dâhil edilmesi planlandı.

Son olarak moleküler değerlendirmesi yapılan hastaların sonuçlarının kan, kas ve fibroblast örnekleri kullanılarak yurt dışındaki ya da yurt içindeki ilgili laboratuvarlarda çalışılmış nDNA ve mtDNA analizlerinin çalışmaya dâhil edilmesi planlandı.

Çalışmamızdaki verilerin değerlendirilmesinde tanımlayıcı istatistik kullanılmış olup nitel veriler (cinsiyet, kromozom analizi sonuçları vb.) sayı ve yüzde değerleri ile sunulurken, nicel veriler (yaş, laboratuvar değerleri vb.) ortalama $\pm$ standart sapma, ortanca, minimum-maksimum değerleri ile gösterilmiştir. Analizler IBM © SPSS (Statistical Package for Social Sciences) programı 21,0 sürümü ile gerçekleştirilmiştir.

4. BULGULAR

İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Beslenme ve Metabolizma Bilim Dalı tarafından Ocak 1990 - Aralık 2020 tarihleri arasında mitokondriyal hastalık tanısı ile izlenen 240 hastanın dosya ve hastane sistemindeki verileri değerlendirildi. Dosya değerlendirmesinde mitokondriyal hastalık tanısı için yeterli tetkik ve izleminin olmaması ya da izlem sürecinde başka tanılar konulması nedeniyle 27 hasta çalışmaya dahil edilmedi. (Tablo 4.1)

Tablo 4.1: Dosyası incelenip çalışmaya alınmayanlar ve nedenleri

Çalışmaya alınmama nedeni	Hasta sayısı
Yetersiz tetkik ve izlem	11
Nörolojik bulguları olan (Psikomotor sosyal gerilik, nöbet geçirme) ancak mitokondriyal hastalık tanısı düşünülmeyen hastalar	5
Glutarik asidüri tip 2	2
Konjenital musküler distrofiler	5
Konjenital kontraktürel araknodaktili	1
Hiperkalsinosis	1
Kardeşleri hasta olduğu için mitokondriyal hastalıklar için taranan sağlıklı kardeşler	2
Toplam	27

Mitokondriyal hastalık tanısı ile izlenen toplam 213 hasta çalışmaya dahil edilmiş olup, çalışmaya alınan tüm hastaların başvuru yaşı, izlem süresi, güncel yaşı, kaybedilen hastaların yaşı ortalaması, standart sapması, minimum ve maksimum değerleri, cinsiyet, ilk klinik bulgu görülme yaşı dönemi, akraba evliliği öyküsü ve derecesi, ailede benzer hastalık durumu, kardeşte benzer hastalık durumu, ani bebek ölümü, hastalığın klinik tipi ve yaşam durumu sağ veya ölü olarak Tablo 4.2 ve Tablo 4.3’de gösterilmiştir.

Tablo 4.2: Çalışma grubunun demografik özellikleri -1

	Ortalama $\pm$ SS	Dağılım: min-maks (yıl)
Başvuru yaşı (yıl) (n=209)	4.5 $\pm$ 6.8	0 - 44
İzlem Süresi (yıl) (n=209)	5.5 $\pm$ 5.9	0 - 33
Güncel yaşı (yıl) (n=211)	16.6 $\pm$ 11.3	1.3 - 60.7
Kaybedilen hasta yaşı (yıl) (n=153)	2.5 $\pm$ 2.8	0.04 – 7.7

Yaş ortalaması ve standart sapma (SS) değerlendirmesi yapılan verilerde dağılım için minimum (min) - maksimum (maks) değerler yıl cinsinden belirtildi.

Tablo 4.3: Çalışma grubunun demografik özellikleri -2

	n (%)
Cinsiyet (n=213)	
Kız	97 (45.5)
Erkek	116 (54.5)
İlk klinik bulgu yaşı (n=209)	
Yenidoğan dönemi	45 (21.5)
1-12 ay	82 (39.2)
1-5 yaş	53 (25.4)
6-10 yaş	17 (8.1)
2. dekat ve üzeri	12 (5.7)
Akraba evliliği öyküsü(n=199)	111 (55.8)
1.derece KE	73 (67.6)
2.derece KE	23 (21.6)
3.derece KE	10 (9)
Ailede benzer hastalık (n=203)	76 (37.4)
Kardeşte hastalık durumu	10 (4.9)
Ani bebek ölümü (n=203)	29 (14.3)
Hastalığın klinik tipi (n=205)	
Kronik	89 (43.4)
İntermittan	23 (11.2)
Progresif	27 (13.2)
Kronik İntermittan	48 (23.4)
Progresif İntermittan	18 (8.8)
Yaşam durumu (n=153)	
Sağ	131 (85.6)
Ölü	22 (14.4)

KE: Kuzen evliliği; Sonuçlar n: etkilenen birey (%) olarak belirtilmiştir.

Hastalar ilk klinik bulgu gösterdikleri yaş aralığına göre; başvuru yaşı, izlem süresi, güncel yaş ve kaybedilen hastaların ölüm yaş ortalamaları, standart sapma, minimum ve maksimum yaş aralıkları, farklı yaş dönemlerinde klinik bulgu görülen vaka sayısı, kaybedilen kardeş ve vaka sayısı ve oranları Tablo 4.4 ve Tablo 4.5’de gösterilmiştir.

Tablo 4.4 İlk klinik bulgu görülme yaşı ile demografik bilgilerin değerlendirilmesi

İlk klinik bulgu yaşı Ort±SS min - maks	Neonatal dönem	1ay – 12 ay	1 yaş- 5 yaş	6-10 yaş	2. dekat ve üzeri
Başvuru yaşı (ay)	0.8 ± 1.5 (0-7.5)	2 ± 2.6 (0.16 -13.5)	4.5 ± 3.5 (1.1-18)	11.2 ±7.3 (6-35.2)	22.1±9.7 (13-44)
İzlem süresi (ay)	3.2 ± 4.1 (0-14)	5.4 ± 6 (0-33)	5.1±4.7 (0-20)	7.5±6.2 (1.8-24)	8±9 (1-30)
Güncel yaş (ay)	11.2 ± 6.1 (1.3-21.1)	12.3 ± 7 (1.58-34.3)	14.4±5.7 (5.4-27.5)	23.2±8.5 (12.1-43.1)	39.8±16.3 (19.5-65.8)
Kaybedilme yaşı (ay)	0.48 ± 0.4 (0.04 -1.3)	3.4±2.3 (0.6-7.3)	7.4 ± 0.4 (7 – 7.7)	0	0

Yaş ortalaması ve standart sapma (SS) değerlendirmesi yapılan verilerde dağılım için minimum (min) - maksimum (maks) değerler yıl cinsinden belirtildi.

Tablo 4.5 İlk klinik bulgu görülme yaşı ile demografik bilgilerin değerlendirilmesi - 2

Özellikler n (%)	Neonatal dönem	1ay – 12 ay	1 yaş- 5 yaş	6-10 yaş	2. dekat ve üzeri
Klinik bulgu görülen vaka sayısı	45 (21.5)	82 (39.2)	53 (25.4)	17 (8.1)	12 (5.7)
Kaybedilen kardeş	7 (24.1)	13 (44.8)	7 (24.1)	1 (3.4)	1 (3.4)
Kaybedilen vaka	10 (45.5)	9 (40.9)	3 (13.6)	0	0

Sonuçlar n: etkilenen birey (%) olarak belirtilmiştir.

Çalışmaya dahil edilen hastalar sistemik tutulum açısından değerlendirildiğinde %8.5 (n=18)'inde tek sistem tutulumu, %91.5 (n=195)'inde multisistem tutulumu görülmüştür. Hastalarda sistem tutulumunun klinikte en sık bulgu görülenden, an az görülene doğru sıralandığı tablo aşağıda (Tablo 4.6) verilmiştir.

Tablo 4.6. Çalışma grubundaki hastaların farklı sistem tutulumlarına göre etkilenme durumları ve oranları

Sistemler (n: değerlendirilen hasta sayısı)	n: etkilenen hasta sayısı (%)
Kas sistemi (n=210)	186 (88.6)
Merkezi sinir sistemi (n=210)	169 (80.5)
Gastrointestinal sistem (n=210)	141 (67.1)
Göz (n=205)	36 (17.6)
Kardiyak sistem (n=206)	36 (17.4)
Renal tutulum (n=206)	24 (11.6)
İşitme (n=205)	23 (11.2)
Endokrin sistem (n=210)	19 (9)
Hematolojik sistem (n=209)	15 (7.2)
Periferik sinir tutulumu (n=205)	11(5.4)
Deri (n=206)	5 (2.4)

Sonuçlar n: etkilenen birey (%) olarak belirtilmiştir.

Hastaların %88.6'sında (n=186) kas , %80.5'inde (n=169) MSS tutulumu olduğu gösterilmiş olup, tüm hastaların %75.1'inde kas ve MSS bulgularının birliktelik gösterdiği saptandı. Kas sistemi ve MSS tutulumları ile ilişkili görülen semptom ve bulguların sıklığı tablo 4.7'te belirtilmiştir.

Tablo 4.7 Çalışma grubundaki hastaların kas, merkezi ve periferik sinir sistemi semptomları

Kas sistemi semptomları (n: değerlendirilen hasta sayısı)	n (%)	Sinir sistemi semptomları (n: değerlendirilen hasta sayısı)	n (%)
Egzersiz intoleransı (n=211)	145 (68.7)	PMSG (n=210)	152 (72.4)
Azalmış kas gücü (n=210)	99 (47.1)	Kas tonusunda artış ve distoni (n=209)	98 (46.9)
Akut rabdomiyoliz atakları (n=209)	65 (31.1)	Kazanılmış fonksiyon kaybı (n=210)	87 (41.4)
Ptozis ve miyopatik yüz görünümü (n=211)	49 (23.2)	Nöbet geçirme ve miyoklonik aktivite (n=207)	72 (34.8)
		Yutma güçlüğü, otonom disfonksiyon (n=208)	67 (32.2)
		Ataksi, tremor (n=208)	36 (17.3)
		İnme benzeri atak (n=208)	8 (3.8)
		Migren (n=207)	6 (2.9)
		Periferik sinir tutulumu(n=205)	11 (5.4)

PMSG: Psikomotor sosyal gerilik, sonuçlar n: etkilenen birey (%) olarak belirtilmiştir.

Hastaların mental durum değerlendirmeleri ve motor fonksiyon kabiliyetlerinin KMFSS sınıflandırma sistemine göre değerlendirmesinin tüm hastalarda görülme sıklığı Tablo 4.8’da gösterilmiştir.

Tablo 4.8: Çalışma grubundaki hastaların mental durumlarının ve motor fonksiyon kabiliyetlerinin değerlendirilmesi

Mental durum (n=182)	n (%)	Motor fonksiyon kabiliyeti (n=197)	n (%)
Normal	54 (29.7)	Kısıtlama olmaksızın yürür.	64 (32.5)
Hafif mental gerilik	17 (9.3)	Kısıtlamalarla yürür.	20 (10.2)
Orta mental gerilik	30 (16.5)	Elle tutulan hareketlilik araçlarını kullanarak yürür.	17 (8.6)
Ağır mental gerilik	41 (22.5)	Kendi kendine hareket sınırlanmıştır. Motorlu hareketlilik aracını kullanabilir.	2 (1)
İleri mental gerilik	40 (22)	Elle itilen bir tekerlekli sandalyede taşınır.	94 (47.7)

Sonuçlar n: etkilenen birey (%) olarak belirtilmiştir.

Hastalarda kalp, endokrin, gastrointestinal, kan, böbrek ve deri tutulumu görülme durumu ve sistemlere bağlı eşlik eden semptomların sıklığı Tablo 4.9’de, göz bulguları ve işitme değerlendirme bulguları Tablo 4.10’de görülme oranlarıyla birlikte verilmiştir.

Tablo 4.9. Çalışma grubunda kardiyak, endokrin, gastrointestinal, böbrek, hematoloji ve deri tutulumu sıklığı ve bulgularının değerlendirilmesi

Kardiyak	n (%)	Böbrek	n (%)
KMP (n=207)	33 (15.9)	Tübülopati (n=190)	12 (6.3)
İletim bloğu (n=205)	4 (2)	Nefrokalsinoz (n=192)	8 (4)
		Proteinüri (n=196)	4 (2)
Endokrin		Hematoloji	
Hipoparatiroidi (n=206)	10 (4.9)	Anemi (n=193)	10 (4.9)
DM (n=206)	7 (3.4)	Lökopeni (n=200)	4 (2)
Gecikmiş puberte (n=34)	1 (2.9)	Trombositopeni (n=201)	2 (1)
Hipotiroidi (n=206)	1 (0.5)	Pansitopeni (n=201)	2 (1)
GİS		Diğer	
Tartı geriliği (n=208)	87 (41.8)	Deri tutulumu (n=206)	5 (2.4)
Hepatik disfonksiyon (n=208)	69 (33.2)		
Tekrarlayan kusma atağı, açıklanamayan ishal (n=207)	50 (24.2)		
Yardımcı yöntemler ile beslenme (n=207)	23 (11.1)		

KMP: kardiyomiopati; DM: diyabetes mellitus, GİS: gastrointestinal sistem, sonuçlar n: etkilenen birey (%) olarak belirtilmiştir.

Tablo 4.10. Çalışma grubunda göz ve işitme problemi olan hastaların bulgularının ve görülme sıklığının değerlendirilmesi

Göz	n (%)	İşitme durumu	n (%)
VEP-ERG’de anormallik (n=204)	28 (13.7)	OAE’da anormallik (n=205)	23 (11.2)
Optik atrofi (n=205)	14 (6.8)		
Retinopati (n=205)	9 (4.4)		
Katarakt (n=205)	6 (2.9)		

VEP: görsel uyarılmış potansiyel ERG: elektroretinogram OAE: oto akustik emisyon, sonuçlar n: etkilenen birey (%) olarak belirtilmiştir.

Çalışma grubundaki hastaların biyokimyasal değerlendirmelerinde; metabolik asidoz, laktat, CK, AST, amonyak değerinde yükseklik ve idrarda keton atılımı görülme sıklıkları ile ilgili tetkik sonuçlarının ortalama değeri, standart sapması ve minimum maksimum değerleri Tablo 4.11’de gösterilmiştir.

Tablo 4.11 Çalışma grubundaki hastaların biyokimyasal değerlerinin incelenmesi

Parametre	Ortalama $\pm$ SS	min - maks	n (%)
Metabolik asidoz, PH (n=180)	7.27 $\pm$ 0.07 mmHg	7.0-7.34 mmHg	71 (39.4)
Laktat yüksekliği (n=205)	5 $\pm$ 3 mmol/L	2-18 mmol/L	148 (72.2)
CK yüksekliği (n=197)	1049 $\pm$ 1496 U/L	160 – 9558 U/L	70 (35.5)
AST yüksekliği (n=203)	115 $\pm$ 92.4 U/L	42 -545 U/L	69 (34)
ALT yükselliği (n=204)	110 $\pm$ 131 U/L	20- 896 U/L	57 (27.9)
Amonyak yüksekliği (n=189)	144 $\pm$ 67.1 umol/L	70-326 umol/L	27 (14.3)
İdrarda keton atılımı (n=175)			43 (24.6)

CK: kreatin kinaz, AST: aspartat aminotransferaz, ALT: alanin aminotransferaz; sonuçlar n: etkilenen birey (%) olarak belirtilmiş olup; standart sapma (SS) değerlendirmesi yapılan verilerde ortalama $\pm$ SS değer ve minimum (min) – maksimum (max) değerler belirlendi.

Çalışma grubundaki hastaların metabolik tetkikleri; tandem MS’de patolojik bulgu; KAA’de alanin yüksekliği, kan piruvat düzeyinde yükseklik, L/P oranında artış, İOA’de anormal atılım ve BOS’ta laktat yüksekliği görülme sıklığı açısından değerlendirilmiştir. Kantitatif aminoasit tetkikinde alanin yüksekliği görülen hastaların tetkik sonuçları ortalama değer, standart sapma ve minimum maksimum düzeyleri açısından incelenmiş olup Tablo 4.12’de belirtilmiştir.

Tablo 4.12. Çalışma grubundaki hastaların metabolik tetkik sonuçlarının incelenmesi

Parametre	Ortalama±SS	n (%) / min - maks
Tandem MS'de patolojik bulgu (n=200)		18 (9)
KAA'de alanin yüksekliği (n=182)	664±246	93 (51.1) / 450 - 1866
Kan piruvat düzeyinde yükseklik (n=60)		40 (66.7)
L/P oranında artış (n=60)		45 (75)
İOA'de patolojik atılım (n=195) - Laktat - TCA ara metabolitler - Glutakonik asit, EMA		112 (57.4) 61 (31.3) 19 (9.7) 32 (16.4)
BOS'ta laktat yüksekliği (n=11)		8 (72.7)

KAA: kantitatif aminoasit, MS: kütle spektrometri, L/P: laktat/ piruvat, İOA: idrarda organik asit, TCA: trikarboksilik asit döngüsü, EMA: etilmalonik asit, BOS: beyin omurilik sıvısı ; sonuçlar n: etkilenen birey (%) olarak belirtilmiş olup; standart sapma (SS) değerlendirmesi yapılan verilerde ortalama ± SS değer ve minimum (min) – maksimum (max) değerler belirlendi.

Çalışmaya alınan kraniyal görüntüleme ile değerlendirilen hastaların kraniyal MR, MRS sonuçları Tablo 4.13'de verilmiştir.

Tablo 4.13. Çalışma grubundaki hastaların kraniyal MR, ve MRS ile nöroradyolojik değerlendirme bulguları

Kraniyal MR (n=185)	n (%)	Sinyal artışı (n=93)	n (%)	MRS laktat piki (n=83)	n (%)
Normal	51 (27.6)	Bazal gangliyonlar	52 (55.9)	Var	56 (67.5)
Sinyal artışı	93 (50.3)	Beyin sapı	12 (12.9)		
Atrofi	21 (11.4)	Ak madde	25 (26.9)		
Kistik değişiklikler	9 (4.9)	Gri madde	4 (4.3)		
Diğer	11 (5.9)				

MR: Manyetik Rezonans, MRS: Manyetik Rezonans Spektroskopisi , sonuçlar n: etkilenen birey (%) olarak belirtilmiştir.

Kas biyopsisi yapılan 164 hastanın %68.3'ünde (n=112) mitokondriyal hastalık ile uyumlu histopatolojik bulgu saptanmış olup; bunlar lipit birikim miyopatisi (%46.3; n=76), mitokondriyal miyopati ile uyumlu histopatolojik boyanma değişiklikleri (COX, SDH ile boyanma) ve mikroskopik değerlendirmede yapısal anormallikler (%20.7; n=34) ve “red ragged fibers” (%1.2; n=2)'dir. (Tablo 4.14)

Tablo 4.14: Çalışma grubundaki hastaların kas biyopsisi ile histopatolojik değerlendirme sonuçları

Kas biyopsisi (n=164)	n (%)
Normal	52 (31.7)
'Ragged red fibres'	2 (1.2)
Mitokondriyal miyopati	34 (20.7)
Lipit birikim miyopatisi	76 (46.3)

Sonuçlar n: etkilenen birey (%) olarak belirtilmiştir.

Mitokondriyal miyopati; mitokondriyal fonksiyonlarda bozulmayı gösteren süksinat dehidrojenaz (SDH) ve sitokrom oksidaz (COX) gibi histokimyasal değerlendirmede kullanılan boyalarla anormal boyanma ve/veya elektrom mikroskopide (EM) kas lifleri arası çap farkı, atrofi gibi yapısal bozuklukların gösterildiği durumlardır. 'Red ragged fibres' de mitokondriyal miyopati ile uyumlu bir histopatolojik bulgu olmasına karşın hastalık için özgüllüğünün yüksek olması nedeniyle ayrı bir parametre olarak değerlendirilmiştir. Mitokondriyal miyopati ile uyumlu değişiklikleri olan “red ragged fibers” dahil 36 hastanın fenotip özelliklerinin değerlendirilmesi Tablo 4.15'te verilmiştir.

Hasta No	İlk bulgu yaşı*	Aile Öyküsü**	Hastalığın Türü***	Multisistem bulguları ****					Biyokimyasal bulgular*****			MRG ^a	Kas bx ^b	Solunum Zinciri Enzim Aktivitesi ^c	Gen/Mutasyon/Fenotip ^d	Sağlık Durumu ^e
				Kas	MSS	GIS	Kalp	Göz	Asidoz ve L artışı	KAA'de Alanin yüksekliği	İOA'de uyumlu atılım					
65-EÇ	4	+	2	+	-	+	-	-	+	+	+	-	2		MTTL1/m.3243A>G/MELAS	S, Sa
167-GK	4	-	1	+	-	-	-	-					2			S, Sa
15-SE	2	+	1	+	+	-	+	-	+	+	+	1	1	1-4	- /MELAS	S, HMR
97-FD	2	+	3	+	+	+	-	-	-	+	-	2-4	1		COQ4/c.437T>G/MELAS	S, AMR
7-İP	2	+	5	+	+	+	-	-	+	-	-	1	1	4	SURF-1/- / Leigh	Ö, AMR
71-MAG	2	-	4	+	+	+	+	+	+	+	+	1	1	-	PDHA1/c.615C>G/Leigh	S, AMR
48-OÜ	3	+	3	+	+	+	-	-	-	-	+	1-4	1		- /Leigh	S, AMR
187-JB	4	-	4	+	+	-	-	-	+		+	1-4	1		- /Leigh	S, OMR
199-GÖ	5	+	5	+	+	+	-	-	+	-	+	-	1		TK2/c.323C>T	S, OMR
138-DÖ	4	+	5	+	+	+	-	-	+	+	+	-	1		TK2/c.323C>T	S, Sa
184-PT	4	-	1	+	+	+	+	+	+	-	+	1-4	1		MtDNA/del/Kearns-Sayre	S, AMR
101-MA	5	+	1	-	-	+	-	-	-	-	+		1		TYMP/c215G>A/MINGIE	S, Sa
195-BMA	2	-	2	+	+	+	-	+	+	-	-	-	1	2-3		S, OMR
9-İKŞ	3	+	3	+	+	+	-	-					1			S, AMR
16-MÖ	5	+	4	+	+	+	-	-	+	+	-	2	1			S, HMR
18-MK	1	+	1	+	+	+	-	-	+	+	+	4-5	1			S, OMR
28-EY	3	+	5	+	+	-	+	-	+	+	+	-	1	-		S, Sa
29-MKY	2	+	1	-	+	-	-	+	+		+	-	1			S, HMR
37-ÖME	3	-	1	-	+	-	-	-	+	+	+	-	1			S, OMR
40-KŞ	3	+	3	+	+	+	-	-	-	+	-	-	1	-		S, OMR
41-İĞ	2	+	4	+	+	+	-	-	+	+	+	1-4	1			S, AMR
44-RD	1	+	4	+	+	+	+	-	+	-	-	5	1			Ö,
46-HK	5	+	1	+	+	-	+	-	+	+	+	1	1			S, Sa
73-İP	3	+	1	+	+	+	-	-	-	-	-	4	1			,AMR
74-GGY		-	1	+	-	-	-	-	+	+	-		1			S, Sa
85-ZT	3	+	4	+	+	+	-	-	+	+	+	1	1	-		S, AMR
89-RH	3	+	5	+	-	+	-	-	+	+	-	-	1			S, Sa
115-NB	2	+	1	+	+				-			2-4	1			S, OMR
120-MA	2	-	1	+	+	-	-	-	-	-	-	-	1			S, OMR
136-EK	2	+	1	+	+	+	-	-	-	-	+	-	1			/
149-GD	1	-	3	+	+	-	-	-	+	+	+	-	1			S, AMR
155-ET	2	-	2	+	+	-	-	-	+	+	+	1-2	1			Ö, AMR
158-AY	3	+	1	+	+	-	+	+	+	+	+	-	1			S, OMR
168-ERA	3		4	+	+	+	-	-	-	-	+	2	1			S, AMR
185-YS	3		5	-	+	+	-	+	-		-	1	1			S, OMR
192-ND	5	+	1	+	+	-	-	-	+		-		1			S, Sa

Tablo 4.15: Çalışma grubunda kas biyopsi ile histopatolojik değerlendirme sonucu mitokondriyal miyopati ile uyumlu bulguları saptanan hastaların fenotip ve genotip özellikleri

İlk bulgu yaşı: 1) neonatal, 2) 1ay-12ay, 3) 1yaş-5yaş, 4) 6yaş-10yaş, 5) 2. dekat; ** Aile öyküsünde; ailede akraba evliliği, benzer hastalık durumu ya da yenidoğan döneminde kaybedilen kardeş öyküsünün bulunması “+”; *Hastalığın türü: 1) kronik, 2) intermittan, 3) progresif, 4) kronik-intermittan, 5)progresif-intermittan; ****Multisistem bulguları: kas, merkezi sinir sistemi (MSS), gastrointestinal sistem (GİS), kalp ve göz sistemi; *****Biyokimyasal bulgular: asidoz ve laktat (L) artışı, kantitatif aminoasitte (KAA) alanin yüksekliği, idrar organik asitte (İOA) uyumlu atılım; ^aManyetik rezonans görüntüleme (MRG): 1) sinyal artışı, 2) atrofi, 3)inme benzeri atak, 4) manyetik rezonans spektroskopide laktat piki, 5) kistik değişiklikler; ^b Kas biyopsi (kas bx) değerlendirmesi: 1) mitokondriyal miyopati, 2) ”red ragged fibers”, 3)Lipit depo miyopatisi; “Solunum zinciri aktivitesi için bildirilen kompleks eksikliğinin numarası yazıldı. Piruvat dehidrojenaz (PDH) eksikliği görüldüyse ayrıca belirtildi. ^dGenetik değerlendirmede; gen bölgesi, nükleotid değişimi ve tanımlandıysa mitokondriyal sendrom fenotipi sırasıyla yazıldı. (del: delesyon) ^eSağlık durumu: S: sağ, Ö: ölü, Sa: sağlıklı, HMR: hafif mental retarde, OMR: orta mental retarde, AMR: ağır mental retarde ; Var olan bulgular “+”, olmayan bulgular “-” ile gösterildi, yapılmayan ya da hasta evraklarında yeterli bilgi bulunmayan parametreler boş bırakıldı.*

Çalışmaya grubundaki 61 hastanın solunum zinciri enzim aktivitesi yapılmış olup bu hastaların %55.7'sinde (n=34) hastalık ile uyumlu kompleks aktivitelerinde azalma görülmüştür.

Solunum zincir enzim aktivitelerinde düşüklük saptanan hastaların %28'inde (n=9) kompleks I eksikliği, %28'inde (n=9) kompleks IV eksikliği görülmüştür. Hastaların %12.5'inde (n=4) kompleks I-IV eksikliği olduğu gösterilmiş olup, üç hastada kompleks II-III eksikliği, iki hastada kompleks I-III eksikliği, üç hastada PDH eksikliği, bir hastada kompleks V eksikliği, bir hastada kompleks I ve PDH eksikliği birlikte görülmüş ve iki hastada kombine kompleks eksikliği saptanmıştır.

Kompleks I eksikliği olan 2 hastalardan birinde *NDUFA6* geninde *c.409 – 410 del* gen delesyonu ve Leigh sendromu, diğerinde ise *MTND1* geninde; *m.3697G>A* nükleotid değişimi ve buna bağlı MELAS sendromu görülmüştür. Kompleks IV eksikliği olan 9 hastanın beşinin klinik fenotip olarak Leigh ile benzerlik gösterdiği ve bunlardan ikisinde moleküler yöntemler ile *SURF 1* gen mutasyonu olduğu gösterilmiştir. Kombine I-II-III-IV eksikliği olan bir hastada *FBLX4* geni üzerinde *c1444C>T* nükleotid değişimi olduğu gösterilmiştir.

Solunum zinciri enzim aktiviteleri açısından tetkik edilen ve kompleks eksikliği bildirilen hastaların fenotip ve genotip özelliklerinin değerlendirilmesi Tablo 4.16'te verilmiştir.

Hasta No	İlk bulgu yaşı*	Aile Öyküsü**	Hastalığın Türü***	Multisistem bulguları ****					Biyokimyasal bulgular*****			MRG ^a	Kas bx ^b	Solunum Zinciri Enzim Aktivitesi ^c	Gen/Mutasyon/Fenotip ^d	Sağlık Durumu ^e
				Kas	MSS	GIS	Kalp	Göz	Asidoz ve L artışı	KAA'de Alanin yüksekliği	İOA'de uyumlu atılım					
81-ÖAS	2	+	1	+	+	-	-	-	+	-	-	1-3	-	1	MTND1/m.3697G>A/MELAS	S, OMR
180-ZG	2	+	5	+	+	+	-	-	+	-	-	1		1	NDUF6A*/Leigh	S, OMR
3-BE	1	+	4	+	+	+	-	-	-	+	+	-	3	1		S, AMR
19-AK	5	+	2	+	-	-	-	-	+	+	-	-	3	1		S, Sa
23-OE	3	-	5	+	+	+	+	-	-	-	-	2	-	1		S, AMR
30-SY	5	+	5	+	+	-	+	-	-	-	-	2	3	1		S, Sa
49-KO	1	-	4	+	+	+	+	+	+	+	-	1-4	-	1		S, AMR
164-BÖ	2	+	5	+	+	-	-	-	+	+	+	1-4	-	1		S, OMR
202-EA	3	-	3	+	+	+	-	-	+	+	-	1	3	1		S, AMR
4-İA	2	-	1	+	+	+	-	+	+	-	-	1	3	1-3		S, HMR
26-SA	2	+	1	-	+	+	-	+	+	-	+	1-4	-	1-3		S, OMR
15-SE	2	+	1	+	+	-	+	-	+	+	+	1	1	1-4	- / - / MELAS	S, HMR
95-CK	3	+	4	+	+	+	-	-	+	-	-	1-4	-	1-4		Ö, AMR
130-MŞ	3	+	4	+	+	+	-	+	+	-	+	2	-	1-4	- / - / Leigh	S, AMR
146-ETA	2	-	1	+	+	-	-	-	+	+	+	1	3	1-4		S, OMR
76-CT	2	-	3	+	+	-	-	-	+	+	-			1-2-3		S, AMR
123-BY	2	+	1	+	+	+	+	-	+	+	+	1	2	1-2-3-4	FBLX4/	S, AMR
17-BK	2	+	3	+	+	+	-	-	+	+	-	1	3	1-PDH		Ö, AMR
157-ZG	3	-	2	+	+	+	-	-	+	+	+	1	3	2-3	- / - / Kearns-Sayre	S, OMR
195-BMA	2	-	2	+	+	+	-	+	+	-	-	-	1	2-3		S, OMR
214-İK	4	-	1	+	+	+	-	-	+	+	-	-	3	2-3		S, Sa
7-İP	2	+	5	+	+	+	-	-	+	-	-	1	1	4	SURF-1/-/Leigh	Ö, AMR
45-YK	2	+	4	+	+	+	-	-	+	-	-	1-4	3	4		Ö, AMR
77-İB	2	+	4	+	+	+	-	-	+	+	+			4	- / Leigh	Ö, AMR
78-FSB	3	+	4	+	+	-	-	-	+	+	+	1	3	4	- / Leigh	Ö, AMR
82-Rİ	3	+	1	+	+	+	-	+	+	+	+	1	3	4	- / Leigh	S, AMR
83-BC	2	+	1	+	+	+	-	-	+	+	-	1-4	2	4	SURF1/c.367delA/Leigh	S, AMR
156-DD	3	+	1	+	+	-	+	-	+	+	+	4	-	4		S, HMR
163-BA	2	+	2	+	+	+	-	-	+	-	+	1-4	3	4		S, OMR
196-NÖ	2	-	1	+	+	+	+	-	+	+	+	1-4	3	4		S, OMR
58-YEB	2	-	5	+	+	+	+	+	+	+	+		-	5	TMEM70/c.535C>T	S, AMR
25-BY	1	+	4	+	+	+	-	-	+	-				PDH		Ö, OMR
35-RB	2	-	4	+	+	+	+	+	+	+	+	1	1	PDH	PDHA1/c.836C>G/Leigh	S, AMR
75-YÇ	2	+	3	+	+	+	-	-	+	+	-	2	3	PDH		S, AMR

Tablo 4.16: Çalışma grubunda solunum zinciri enzim aktivitelerinde hastalık ile uyumlu kompleks ve PDH aktivitelerinde düşüklük saptanan hastaların fenotip ve genotip özelliklerine göre değerlendirilmesi

İlk bulgu yaşı: 1) neonatal, 2) 1ay-12ay, 3) 1yaş-5yaş, 4) 6yaş-10yaş, 5) 2. dekat; ** Aile öyküsünde; ailede akraba evliliği, benzer hastalık durumu ya da yenidoğan döneminde kaybedilen kardeş öyküsünün bulunması “+”; *Hastalığın türü: 1) kronik, 2) intermittan, 3) progresif, 4) kronik-intermittan, 5)progresif-intermittan; ****Multisistem bulguları: kas, merkezi sinir sistemi (MSS), gastrointestinal sistem (GİS), kalp ve göz sistemi; *****Biyokimyasal bulgular: asidoz ve laktat (L) artışı, kantitatif aminoasitte (KAA) alanin yüksekliği, idrar organik asitte (İOA) uyumlu atılım; ^aManyetik rezonans görüntüleme (MRG): 1) sinyal artışı, 2) atrofi, 3)inme benzeri atak, 4) manyetik rezonans spektroskopide laktat piki, 5) kistik değişiklikler; ^b Kas biyopsi (kas bx) değerlendirmesi: 1) mitokondriyal miyopati, 2) ”red ragged fibers”, 3)Lipit depo miyopatisi; ^cSolunum zinciri aktivitesi için bildirilen kompleks eksikliğinin numarası yazıldı. Piruvat dehidrojenaz (PDH) eksikliği görüldüyse ayrıca belirtildi. ^dGenetik değerlendirmede; gen bölgesi, nükleotid değişimi ve tanımlandıysa mitokondriyal sendrom fenotipi sırasıyla yazıldı. (del: delesyon) ^eSağlık durumu: S: sağ, Ö: ölü, Sa: sağlıklı, HMR: hafif mental retarde, OMR: orta mental retarde, AMR: ağır mental retarde; Var olan bulgular “+”, olmayan bulgular “-” ile gösterildi, yapılmayan ya da hasta evraklarında yeterli bilgi bulunmayan parametreler boş bırakıldı.*

Farklı moleküler analiz yöntemleriyle hastaların %48.8'inde (n=104) genetik değerlendirmenin yapılmış olduğu ve bunların %29.8'inde (n=31) mitokondriyal hastalık ile ilişkili solunum zincir bozukluğuna neden olan gen değişikliğinin saptandığı görülmüştür. Hastalık ile ilişkili gen değişimi saptanan hastaların %25'inde (n=8) sadece mtDNA değerlendirilmiş olup, %13'ünde (n=4) sadece nDNA, %61'inde (n=19) ise hem mtDNA hem nDNA değerlendirmesi yapılmıştır. Bu hastaların %25.8'inde (n=8) mtDNA kaynaklı gen değişikliği, %74.1'inde (n=23) nDNA kaynaklı gen değişikliği olduğu gösterilmiştir.

Hastalık ile uyumlu gen değişikliği saptanmayan 73 hastanın %90'ında (n=66) sadece mtDNA değerlendirilmiş olup, %1.37'sinde (n=1) sadece nDNA, %8,2'sinde ise hem mtDNA hem nDNA değerlendirmesi yapılmıştır.

Hastaların %46.2'sinde (n=48) moleküler genetik çalışma materyali olarak kan, %40.4'ünde (n=42) kas, %8.7'sinde (n=9) kas ve kan, %4.8'inde (n=5) fibroblast kullanılmıştır.

Çalışmaya alınan hastaların tümü klinik özellikleri ile mitokondriyal sendromlar açısından değerlendirilmiş olup, uyumlu gen tutulumu görülen 31 hastanın %64.5'inde (n=20) eşlik eden mitokondriyal sendrom fenotipi görülmüştür. Hastalarda tanımlanan mitokondriyal sendrom fenotipleri ve görülme sıklıkları aşağıdaki tabloda (Tablo 4.17) belirtilmiştir.

Tablo 4.17. Çalışma grubundaki hastalarda tanımlanan mitokondriyal sendromlar

	Tüm hastalar (n=47)	Genetiği kanıtlanmış hastalar (n=31)
Leigh	25 (53.1)	11 (35.4)
LHON	4 (8.5)	2 (6.4)
MELAS	7 (14.8)	3 (9.6)
Pearson Sendromu	1 (2.1)	1 (3.2)
Alpers Sendromu	6 (12.7)	
Kearn Sayre Sendromu	2 (4.2)	1 (3.2)
MINGIE sendromu	2 (4.2)	2 (6.4)

LHON: Leber'in hereditör optik nöropatisi, MELAS: Mitokondriyal miyopati, ensefalopati, laktik asidoz ve inme benzeri ataklar, MINGIE: Mitokondriyal nörogastrointestinal ensefalopati, sonuçlar n: etkilenen birey (%) olarak belirtilmiştir.

Çalışma grubunda mitokondriyal hastalık ile ilişkili solunum zincir bozukluğuna neden olan uyumlu gen değişikliği moleküler yöntemler ile kanıtlanmış 31 hastanın fenotip ve genotip özellikleri tablo 4.18’te belirtilmiştir.



Hasta No	İlk bulgu yaşı*	Aile Öyküsü**	Hastahğin Türü***	Multisistem bulguları ****					Biyokimyasal bulgular*****			MRG ^a	Kas bx ^b	Solunum Zinciri Enzim Aktivitesi ^c	Gen/Mutasyon/Fenotip ^d	Sağlık Durumu ^e
				Kas	MSS	GİS	Kalp	Göz	Asidoz ve L artışı	KAA'de Alanin yüksekliği	İOA'de uyumlu atılım					
160-AS	3	+	5	+	+	-	-	-	+	+	+	4-5			NDUFV1/c.479G>A/Leigh	S, OMR
180-ZG	2	+	5	+	+	+	-	-	+	-	-	1		1	NDUFA6/c.409_410del/Leigh	S, OMR
31-ÖA	3	-	5	+	+	+	-	-	-	-	-	1	-	-	NDUFA6/c.420+784C>T,c.479delA/Leigh	S, İMR
83-BC	2	+	1	+	+	+	-	-	+	+	-	1-4	3	4	SURF1/c.367delA/Leigh	S, İMR
7-İP	2	+	5	+	+	+	-	-	+	-	-	1	1	4	SURF-1/ - / Leigh	Ö, İMR
141-MA	3	+	3	+	+	+	-	-				1			SURF-1/ - /Leigh	
165-OA	2	+	5	+	+	+	-	-	+	-	-	1	-	-	SURF-1/c.252del/Leigh	Ö, İMR
177-AEE	2	+	1	+	+	-	-	-	+	-	+	1			MTND3/m.10158T>C / Leigh	S, HMR
194-ÖS	2	+	3	+	+	+	+	-	+	+	+	1	-	-	MTATP6/m.8993T>C/Leigh	S, İMR
71-MAG	2	-	4	+	+	+	+	+	+	+	+	1	1	-	PDHA1/c.615C>G/Leigh	S, AMR
35-RB	2	+	3	+	+	+	-	+	+	+	-	2	3	-	PDHA1/c.836C>G/Leigh	S, İMR
97-FD	2	+	3	+	+	+	-	-	-	+	-	2-4	1		COQ4/c.437T>G/MELAS	S, AMR
65-EÇ	4	+	2	+	-	+	-	-	+	+	+	-	2		MTTL1/m.3243A>G/MELAS	S, Sa
81-ÖAS	2	+	1	+	+	-	-	-	+	-	-	1-3	-	1	MTND1/m.3697G>A/MELAS	S, OMR
2-SD	5	-	1	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	MTND6/m.14484T>C/LHON	S, Sa
11-YB	5	-	1	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	MTND4/ - /LHON	S, Sa
184-PT	4	-	1	+	+	+	+	+	+	-	+	1-4	1		MtDNA/del/Kearns-Sayre	S, AMR
38-KB	3	-	2	+	+	-	-	-	+	+	+	1	-	-	MtDNA/del/Pearson	S, HMR
111-BYK	4	+	1	+	-	+	-	-	+	-	-	1			TYMP/IVS6+1G>C/MINGIE	S, Sa
101-MA	5	+	1	-	-	+	-	-	-	-	+		1		TYMP/c215G>A/MINGIE	S, Sa
208-DD	1	+	1	+	+	+	-	-	+	-	+	1	3	-	SCL19A3/c116T>C/TYBGH	S, Sa
107-RTY	4	+	1	+	+	+	-	-	+	-	+	-	3		POLG/c.911T>G/	S, AMR
108-ÖNY	4	+	1	+	+	+	-	-	+	-	+	-			POLG/ c.911T>G/	S, Sa
199-GÖ	5	+	5	+	+	+	-	-	+	-	+		1		TK2/c.323C>T	S,
138-DÖ	4	+	5	+	+	+	-	-	+	+	+	-	1		TK2/c.323C>T	S, Sa
170-DMÖ	1	-	1	+	+	+	-	-	+	-	+		3		EARS2/c.319C>T,c.1283delC	S, AMR
123-BY	2	+	1	+	+	+	+	-	+	+	+	1	3	1-2-3-4	FBLX4/c1444C>T	S, AMR
207-MHA	1	+	3	+	+	+	-	-	+	+	+	3			MICOS13/c.260-2A>G	Ö, OMR
134-OS	2	-	1	+	+	-	-	-	-	-	+	2	3		USP9X/c.2746C>T	S,AMR
58-YEB	2	-	5	+	+	+	+	+	+	+	+		-	5	TMEM70/c.535C>T	S, AMR
140-MEG	3	+	1	+	+	+	-	-	+	-	+	-	3		AMDP1/c.1041T>G	S, AMR

Tablo 4.18: Genotip bilgisi olan hastaların fenotip özellikleri

İlk bulgu yaşı: 1) neonatal, 2) 1ay-12ay, 3) 1yaş-5yaş, 4) 6yaş-10yaş, 5) 2. dekat; ** Aile öyküsünde; ailede akraba evliliği, benzer hastalık durumu ya da yenidoğan döneminde kaybedilen kardeş öyküsünün bulunması “+”; *Hastalığın türü: 1) kronik, 2) intermittan, 3) progresif, 4) kronik-intermittan, 5)progresif-intermittan; ****Multisistem bulguları: kas, merkezi sinir sistemi (MSS), gastrointestinal sistem (GİS), kalp ve göz sistemi; *****Biyokimyasal bulgular: asidoz ve laktat (L) artışı, kantitatif aminoasitte (KAA) alanin yüksekliği, idrar organik asitte (İOA) uyumlu atılım; ^aManyetik rezonans görüntüleme (MRG): 1) sinyal artışı, 2) atrofi, 3)inme benzeri atak, 4) manyetik rezonans spektroskopide laktat piki, 5) kistik değişiklikler;^b Kas biyopsi (kas bx) değerlendirmesi: 1) mitokondriyal miyopati, 2) ”red ragged fibers”, 3)Lipit depo miyopatisi; ^cSolunum zinciri aktivitesi için bildirilen kompleks eksikliğinin numarası yazıldı. Piruvat dehidrojenaz (PDH) eksikliği görüldüyse ayrıca belirtildi. ^dGenetik değerlendirmede; gen bölgesi, nükleotid değişimi ve tanımlandıysa mitokondriyal sendrom fenotipi sırasıyla yazıldı. (del: delesyon) ^eSağlık durumu: S: sağ, Ö: ölü, Sa: sağlıklı, HMR: hafif mental retarde, OMR: orta mental retarde, AMR: ağır mental retarde; Var olan bulgular “+”, olmayan bulgular “-” ile gösterildi, yapılmayan ya da hasta evraklarında yeterli bilgi bulunmayan parametreler boş bırakıldı.*

5. TARTIŞMA

Mitokondriyal hastalıklar kalıtsal metabolik hastalıkların önemli bir grubunu oluşturmaktadır. Ancak hastalığın klinik olarak heterojen özellik göstermesi, hem nDNA hem mtDNA kaynaklı olabilmesi ve heteroplazmi özelliği nedeniyle ilk bulgu yaşı ve klinik semptomların şiddeti konusundaki belirsizlik hastalığın tanısını zorlaştırmaktadır. Çalışmamızda mitokondriyal hastalıklarda; demografik, klinik, laboratuvar, radyolojik görüntüleme ve kas örneklerinin histopatolojik ve enzimatik değerlendirme bulguları retrospektif olarak değerlendirilmiş, moleküler analiz yöntemi ile mitokondriyal solunum zincir bozukluğu gösterilmiş hastalarda fenotip, genotip ilişkisinin değerlendirilmesi ve literatürle kıyaslanması amaçlanmıştır.

Bu çalışmamızdaki 213 hastanın %54.5'inin (n=116) erkek, %45.5'inin (n=97) kız olduğu görülmüştür. Erkek/kız oranı 1,2 saptanmıştır. Araştırmalarda cinsiyet açısından hastalık görülme sıklığında anlamlı bir farklılık saptanmamasına karşın erkeklerde daha sık görüldüğü gösterilmiştir. Skladal ve arkadaşlarının 2003 senesinde 75 çocuk hasta üzerinde yaptıkları bir çalışmada bu oran 1,7 olarak gösterilmiştir (137). Scalia ve arkadaşlarının 2004 senesinde 113 hasta üzerinde yaptıkları diğer bir çalışmada hastaların %58'inin erkek ve %42'sinin kız olduğu görülmüş ve erkek/kız oranı 1,4 olarak bildirilmiştir. Debray ve arkadaşlarının 2007 senesinde 73 hasta üzerinde yaptıkları çalışmada da yine erkeklerde daha sık olduğu gösterilmiştir (138) (139).

Hastaların ilk klinik bulgu yaşı değerlendirildiğinde en sık 1 ay – 12 ay arası (%39.2, n=82) yani erken bebeklik döneminde bulguların başladığı görülmüştür. Bunu 2. sıklıkla 1 yaş – 5 yaş arası dönem (%25.4, n=53) ve 3. sıklıkta neonatal dönem (%21.5, n=45) takip etmektedir. 2003 yılında Skladal ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada solunum zincir aktivitesinde bozukluk görülerek kesin tanı alan hastalarda klinik bulgu yaşı ortalamasının 4 ay olduğu görülmüştür (16). 2018 senesinde Ankara, Hacettepe Üniversitesi'nde 193 hasta üzerinde yapılan bir çalışmada hastaların klinik bulgu görülme yaş ortalamasının 12 ay olduğu gösterilmiştir (140). Debray ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise 0-16 yaş grubu arasındaki hastalar değerlendirildiğinde ilk belirtilerin ortalama 7 aylıkken başladığı kaydedilmiştir (139). Bizim çalışmamızda hastalığın en sık 1-12 ay arası dönemde bulgu verdiği gösterilmiş olup dönem olarak mevcut veriler ile uyumlu olduğu görülmüştür ancak çalışmamızda hastalar yaş

grupları içinde değerlendirildiğinden klinik tanı yaşı için ortalama bir değer vermek mümkün olmamıştır.

Hastaların kliniğe başvuru yaşlarına bakıldığında Scaglia ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ortalama başvuru yaşı 40 ay olarak bildirilmiş olup (138), bizim çalışmamızda hastaların ortalama başvuru yaşının 50 ay olduğu gösterilmiştir. Çalışmamızda sağ olarak izlenen hastaların güncel yaş ortalaması 16 yaş (hasta grubu yaş aralığı: 0-44 yaş) olmakla beraber Portekiz'in Centro şehrinde 78 hasta üzerinde yapılan bir çalışmada sağ olarak izlenen hastaların güncel yaşı 11 yaş (hasta grubu yaş aralığı: 19 ay- 28 yaş) olarak gösterilmiştir (139) (141). Çalışmamızda literatürle kıyaslandığında hastaların ilk klinik bulgu yaşı ve hastaneye başvuru yaşları arasında korelasyon olmakla beraber, güncel yaş ortalaması için bir benzerlik görülmemiştir. Bu durum, çalışmalara dahil edilen hasta gruplarının yaş aralıklarının farklı olmasından kaynaklanıyor olabilir.

Hastaların aile öyküsü değerlendirildiğinde; akraba evliliği görülme sıklığının tüm hastalarda %55.8 (n=111) olduğu ve hastaların %37.4'ünde (n=76) ailede benzer hastalık saptandığı görülmüştür. Akraba evliliği olan hasta grubu kendi içinde değerlendirildiğinde en sık %68.8 birinci derece kuzen evliliği, ardından %22 sıklıkta ikinci derece kuzen evliliği gelmektedir. Akraba evliliği derecesinin arttıkça hastalık riskinin yükseldiği gösterilmiştir. Debray ve arkadaşlarının 73 hasta üzerinde yaptıkları çalışmada %28 oranla aile öyküsü olduğu bunlardan %21'inde ailede akrabalık, %10'unda (n=7) ise ailede benzer hastalık öyküsü olduğu gösterilmiştir (139). Çalışmamızda gösterdiğimiz oranların bildirilenden daha yüksek olduğu dikkat çekmektedir. Çalışmamızda akraba evliliği oranının yüksek olması kalıtım tipi olarak mtDNA mutasyonlarına oranla otozomal resesif kalıtmı nDNA mutasyonlarını daha sık görmeyi beklememize neden olmaktadır. Çalışmamızda hastalık ile ilişkili gen mutasyonu bildirilen 31 hastanın 8'inde (%25.8) mtDNA kaynaklı gen değişikliği, 23 tanesinde ise (%74.1) nDNA kaynaklı gen değişikliği olduğu gösterilmiştir.

Çalışma grubu mortalite açısından değerlendirildiğinde, 153 hasta içerisinde bu oranın %14,4 (n=22) olduğu ölüm yaş ortalamasının 2.5 ± 2.8 yaş olduğu (1 gün - 20 yaş) görülmüştür. Ölen 22 hastadan 19 tanesinin yaşamın ilk 1 yılı içerisinde bulgu verdiği görülmüştür. Yenidoğan döneminde ilk kez bulgu veren 10 hastanın ortalama ölüm yaşı 0.48 yıl (5.7 ay) olmasına karşın; 1-12 ay arasında semptom veren hastalarda ortalama ölüm yaşı 3.4 yıl (41 ay) olarak gösterilmiştir. Hastalığın mortalite durumunun değerlendirildiği diğer çalışmalara bakıldığında Deboray ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ölüm oranı %48 olarak, ortalama

ölüm yaşı 13 ay (1 gün – 20 ay) olarak gösterilmiştir, Diogo ve arkadaşlarının Portekiz’de yaptıkları bir çalışmada ise mortalite oranı %29 olarak gösterilmiş olup ortalama ölüm yaşı 8 ay (1 gün - 12 yıl) olarak bildirilmiştir (141). Güney Kore’nin Seul kentinde 221 hasta üzerinde yapılan başka bir çalışmada mortalite oranı %14 olarak bulunduğu ve ölen hastaların %75’inin 3-9 yaş aralığında olduğu söylenmiştir (142). Bu verilerle kıyaslandığında her ne kadar çalışmamızdaki mortalite sıklığı bazı veriler ile uygunluk sağlasa da mortalite oranının ve mortalite yaşının farklı popülasyonlarda değişkenlik gösterebileceği söylenebilir.

Hastalar sistem tutulumu açısından değerlendirildiğinde; çalışmamızda değerlendirilen 213 hastanın %91.5’inde (n=195) hastalığın multisistem bulgularla seyrettiği görülmüştür. Hastalarda en sık kas sistemi tutulumu (%88.6, n=186), 2. en sık merkezi sinir sistemi tutulumu (%80.5, n=169) gözlenmiştir. Bohm ve arkadaşlarının 2006 senesinde COX eksikliği olan 180 hasta üzerinde yaptıkları çalışma ile Debrah, Skladal ve Scaglia’nın çalışmalarında da hastaların multisistem bulgularla seyrettiği, en sık nörolojik ve kas sistemi tutulumunun görüldüğü gösterilmiştir (137) (138) (139) (143).

Hastalarda merkezi sinir sistemi tutulumunda PMSG, hipotonisite, nöbet geçirme öyküsü gibi semptomların en sık olduğu bildirilmiştir. Çalışmada hastaların %72.4 (n=152)’sinde PMSG olduğu, %47.1’inde (n=99) hipotonisite, kas gücünde azalma olduğu, %34.8’inde (n=72) nöbet geçirme öyküsü olduğu görülmüştür. Scaglia ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 113 hastanın yarısında nörolojik sistem semptomları görülmüş olup, Diogo ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada hastaların %71’inde PMSG, %52’sinde hipotonisite ve %37’sinde nöbet öyküsü olduğu gösterilmiştir (141).

Çalışmamızda ayrıca beslenme probleminin de sıkça karşılaşılan bir sorun olduğu dikkat çekmektedir. Bu yüzden hastalarda hem büyüme gelişme ve tartı alımının izlenmesi; hem de yutma fonksiyon bozukluğuna bağlı beslenme problemlerinin değerlendirilmesi önemlidir. Bohm ve arkadaşlarının COX eksikliği olan 180 hasta üzerinde yaptığı çalışmada hastaların %67’sinde büyüme geriliği olduğu gösterilmiştir (143). Bizim çalışmamızda bu oran %41.8 olarak gösterilmiş olup; bu durumla ilişkili olarak %24.2 (n=50) hastada tekrarlayan kusma atağı, açıklanamayan ishal olduğu gösterilmiştir.

Kardiyak sistem tutulumu açısından yapılan değerlendirmede; bizim çalışmamızda hastaların %17.4’ünde (n=36) kardiyak sistem tutulumu görülmüş olup, bunların %91’i (n=33) kardiyomiyopati olarak değerlendirilmiştir. Scaglia’nın 2004 senesinde 113 hasta üzerinde yaptığı çalışmada hastaların %29’unda kardiyak tutulum olduğu ve bunların %78’inin

kardiyomiyopati olarak bildirildiği görülmüştür (138). Yaplio-Lee ve arkadaşlarının 2007 senesinde 89 hasta üzerinde yaptıkları bir çalışmada hastaların %33'ünde kardiyak tutulum olduğu ve bunların %75.8'inin kardiyomiyopati ile uyumlu olduğu gösterilmiştir. Her üç çalışmadaki kalp tutulumu görülme prevelansı benzer olmakla beraber her üç hasta grubuna bakıldığında kalp tutulumunun klinikte büyük ölçüde kardiyomiyopati ile karşımıza çıktığı görülmüştür.

Çalışmamızda 205 hasta üzerinde yapılan değerlendirmede %17.6 (n=36)'sında göz tutulumu olduğu gösterilmiş olup Scaglia ve arkadaşlarının 113 hasta üzerinde yaptıkları çalışmada hastaların %32'sinde (n=22) göz tutulumu olduğu gösterilmiştir (138) Göz tutulumu saptadığımız 14 hastada (%6,8) ise optik atrofi saptanmıştır. Optik atrofisi olan 4 hastanın ikisinde LHON ile uyumlu mtDNA mutasyonu, birinde Kearns-Sayre sendromu ile uyumlu mtDNA delesyonu saptanmıştır, diğer gösterilen mutasyon ise nükleer DNA kaynaklıdır. Genetik olarak doğrulanmış ya da şüphelenilen mtDNA mutasyonları olan 59 hastada yapılan çalışmada hastaların %81'inde (n=47) patolojik göz bulgularının olduğu gösterilmiştir (144). Yine LHON'un da mtDNA mutasyonları ile kalıtılması bu hipotezi desteklemektedir.

İşitme ile ilgili Chennupati ve arkadaşlarının bilinen mitokondriyal hastalık tanısı olan 26 çocuk hasta üzerinde yaptıkları çalışmada %58'inde (n=15) işitme kaybının olduğu saptanmıştır (145) Scaglia ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise bu oran %21 olarak bildirilmiştir. Çalışmamızda OAE testi kullanılarak yapılan değerlendirmede hastaların %11.2 (n=23)'sinde işitme kaybı olduğu gösterilmiştir. Çalışmamızda görülen görme ve işitme kaybı sıklığının literatürdekine oranla düşük olmasının sebebinin hastaların oftalmolojik ve odiyometrik değerlendirmelerinin yapılmamış olması ya da dosya kayıt bilgilerinin eksik olması ile açıklanabilir.

Endokrin sistem sorunları mitokondriyal hastalıklarda diğer klinik bulgulara kıyasla nadir olduğundan belirli bir sıklık söylemek güçtür. 2017 senesinde Shamima Rahman'ın da içinde bulunduğu Chow ve arkadaşlarının yayınladığı bir bildiride mitokondriyal hastalığı olan bireylerde endokrin sorunlar hakkında klinisyenin farkındalığı artırılmaya çalışılmıştır (146). Çalışmamızda 7 hastada DM, 9 hastada hipotiroidi ve 1 hastada hipoparatiroidi görülmüştür.

Çalışmamızda hastaların %10,7 (n=24)'sinde renal tutulum gözlenmiş olup; bunların 12 tanesi tübülopati, 8 tanesi nefrokalsinozis, 4 tanesi izole proteinüri, 1 tanesi ise kronik böbrek yetmezliği ile klinikte karşımıza çıkmıştır. Emma ve arkadaşların 2012 senesinde mitokondriyal hastalığı olan bireyler üzerinde yaptıkları genel bir derlemede hastalarda en sık

görülen bulgunun renal tübüler disfonksiyon olduğu ancak hastaların proteinüri, nefrotik sendrom, tübülointerstisyel nefrit, miyoglobininüri, böbrek yetmezliği gibi geniş bir spektrumda seyredebileceğinden bahsedilmiştir (147). Bizim çalışmamızda da renal tutulum görülen hastaların yarısında renal tübüler disfonksiyon görülmüştür.

Mitokondriyal hastalıkta hematolojik sistem tutulumuna baktığımızda; nadir bir tutulum olduğundan hastalık üzerinde bildirilen bir prevalans çalışmasına rastlanmamıştır. Bizim çalışmamızda hastaların %7,2'sinde (n=15) hematolojik bulguya rastlanmış olup, en sık kronik hastalığa ve beslenme problemlerine bağlı anemi ile karşılaşıldığı görülmüştür. Hastalarımızdan bir tanesinde sideroblastik anemi görülmüş ve klinik olarak Kearns Sayre fenotipi ile uyumlu olduğu gösterilmiştir. 2019 senesinde Tesarova ve arkadaşlarının 421 hastadan oluşan kohortta yaptıkları bir çalışmada 8 hastada sideroblastik anemi saptanmış olup bunlardan 3 tanesinin mtDNA delesyonunun eşlik ettiği Pearson sendromu tanımlı hastalar olduğu bildirilmiştir (148).

Hastaneye ilk başvuruda hastalarda en sık laktik asidoz ile karşılaşıldığı yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (149) (150). Bizim çalışmamızda hastaların %72.2'sinde (n=148) laktat yüksekliği görülmüş olup, kanda aminoasit düzeylerinden, alanin değerinin %51.1'inde (n=93) yüksek olduğu saptanmıştır. Bohm ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada hastaların %85'inde kanda laktat ve %65'inde alanin artışı bildirilmiştir (143).

Çalışmamızda 11 hastada BOS değerlendirmesi yapılmış olup, 8 tanesinde (%72) laktat yüksekliğinin eşlik ettiği gösterilmiştir. Benzer şekilde; Debray ve arkadaşları tarafından 37 hasta üzerinde yapılan çalışmada hastaların %88'inde BOS'ta laktat yüksekliğinin eşlik ettiği görülmüştür (139) .

Metabolik açıdan anlamlı olabilecek, daha spesifik biyokimyasal değerlendirmelere baktığımızda, L/P oranı değerlendirilen 60 hastanın %75'inde (n=45) bu oranın belirlenen referans değerinin üzerinde olduğu gösterilmiştir. Portekiz'de Diogo ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada hastaların 45'inde L/P oranı değerlendirilmiş olup bunlardan %84'ünde oran yüksek saptanmıştır (141).

İdrar organik asit değerlendirmesi bu hastalarda normal olabileceği gibi; laktat atılımı, TCA siklus ürünlerinde atılım, glutakonik asit ve etilmalonik asit gibi asitlerin atılımı da eşlik edebilmektedir. Çalışmamızda 195 hastanın değerlendirmesinde hastaların %57.4'ünde (n=112) hastalık ile uyumlu patolojik atılımın olduğu gösterilmiş ve anormal atılım gösterilen 112 hastadan 80'inde (%71,4) laktat veya TCA siklus ara ürünlerinin atılımı olduğu

gösterilmiştir. Diogo ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 78 hastada İOA değerlendirmesinde hastalık ile uyumlu atılım oranı %20 olarak görülmüşken anormal atılım saptanan 16 hastanın %75'inde (n=12) laktat veya TCA siklus ürünü atılımı olduğu gösterilmiştir (141). Bu iki çalışma beraber değerlendirildiğinde mitokondriyal hastalığı olan bireylerde idrarda organik asit atılımlarından en sık laktat ve TCA siklus ara ürünleri atılımının olduğunu söylemek mümkündür.

Çalışmamızda 185 hastanın kraniyal MR görüntülemelerinde %27.6 (n=51) sonucun normal olduğu, patolojik bulgu saptanan görüntülemelerde literatürde bilinen ile benzer şekilde en sık sinyal artışı görüldüğü (%50.3, n=93) ve bunun da en sık bazal gangliyonlarda olduğu (%55.9, n=52) gösterilmiştir. Hastalarda 2. en sık görülen bulgu %11.4 (n=21) ile atrofidir. Mitokondriyal hastalığı olduğu gösterilmiş ancak sendromik olmayan 33 çocuğa 2011 senesinde Ching-Shiang Chi ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada MR görüntüleme yapılmış, %33 (n=11)'ünde normal, %66 (n=22)'sında anormal bulgular görülmüştür. Anormal bulgular görülen hastalar içinde en sık bulgu atrofi olup (%45.5, 15/33), diğer hastalarda bilateral bazal gangliyonlarda sinyal artışı görülmüştür (%18.2, 6/33). Bu hastaların ilerleyen dönemde yapılan kontrol görüntülemelerinde daha önce normal olan hastalarda da bulgular görülebileceği, atrofi ve bazal gangliyon tutulumu olan hastaların görüntüleme bulgularında ilerleme olabileceği gösterilmiştir (151). Her iki hasta grubu değerlendirildiğinde MR görüntülemede hastalık ile uyumlu tutulum görülme oranlarının yakın olduğunu söylemek mümkündür, Görüntüleme özellikleri farklı olsa da özellikle bazal gangliyonlarda sinyal artışı ve atrofinin her iki grupta sık görülmesi dikkat çekmektedir; ancak hastalığın ilerlemesi ile radyolojik bulgular zaman içerisinde değişebileceğinden kesin bir oran söylemek zordur. Valanne ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 8 yaşında MELAS tanısı olan bir hastanın kraniyal görüntülemeleri değerlendirildiğinde hastanın ilk başvurusunda bilateral bazal gangliyonlarda sinyal artışının olduğu, 10 yaşında bu bulguların tamamen gerilediği ve serebral atrofi görüldüğü, 15 yaşında ise geçirilmiş nöbet sonrası sekel olabileceği düşünülen sol parietoksipital bölgede hiperintens görünüm saptanmıştır (152).

Mitokondriyal hastalığı olanlarda MRS değerlendirmesinde artmış laktat, azalmış NAA düzeylerinin gösterilmesi beklenen bulgulardan biridir (153). Çalışmamızdaki 78 hasta MRS ile değerlendirilmiş olup bunların %70'inde (n=55) hastalık ile uyumlu laktat piki saptanmıştır. Diogo ve arkadaşlarının çalışmasında 17 hasta MRS ile değerlendirilmiş olup bunların %43'ünde (n=7), Hacettepe Üniversitesi'nde yapılan bir diğer çalışmada 32 hastanın 21'inde (%65.6) laktat piki olduğu gösterilmiştir (140).

Çalışmamızda 164 hasta kas biyopsisi ile değerlendirilmiş olup; kas biyopsi yapılan hastaların %68.3'ünde (n=112) mitokondriyal hastalık ile uyumlu histopatolojik bulguya rastlanmıştır. Hastalarda en sık %46,3 (n=76) lipid birikim miyopatisi, 2. sıklıkta %20.7 (n=34) mitokondriyal miyopati ile uyumlu histopatolojik boyanma ve mikroskopi ile yapılan değerlendirmede kas lifleri ve mitokondriyal morfolojik bulgularda değişikliklerle karşılaşmıştır. Literatürde 118 hasta üzerinde yapılan çalışmada RRF görülme sıklığının %2,5 olduğu gösterilmiş olup bizim çalışmamızda 164 hasta üzerinde bu oran %1,2 (n=2) olarak saptanmıştır (154).

Çalışmamızda solunum zincir enzim aktivitesinin değerlendirmesinde; 61 hastada solunum zinciri enzim aktivitesi çalışılmış olup bunlardan 34 tanesinde (%55.7) eşlik eden kompleks eksikliği olduğu görülmüştür. Çalışmada solunum zincir enzim aktivitesinde düşüklük saptanan hastaların %28 inde n=9 kompleks I eksikliği, %28 inde n=9 kompleks IV eksikliği görülmüştür. Hastaların %12.5 'unda (n=4) kompleks I-IV eksikliği olduğu gösterilmiş olup iki hastada kombine kompleks eksikliğine rastlanmıştır. Diogo ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada kompleks eksikliği gösterilmiş 72 hasta içerisinde %29'unda n=21 kompleks I eksikliği, %18'inde kompleks IV eksikliği ve %15'inde kompleks I-IV eksikliği olduğu gösterilmiştir (141). von Kleist-Retzow ve arkadaşlarının 157 hasta üzerinde yapmış oldukları başka bir çalışmada, hastaların %33'ünde kompleks I eksikliği, %28'inde kompleks IV eksikliği ve %28'inde kompleks I-IV eksikliği gösterilmiştir (155). Scaglia ve arkadaşlarının mitokondriyal hastalık tanılı 113 çocuk hasta üzerinde yaptıkları çalışmada hastaların 102 tanesine kas biyopsisi yapıldığı ve %71'inde eşlik eden kompleks eksikliği olduğu gösterilmiş, bunların %32'sinde kompleks I eksikliği, %26'sında kompleks I-III-IV eksikliği ve %19'unda kompleks IV eksikliği olduğu gösterilmiştir (138). Değişik hasta grupları ile kıyaslandığında literatürle uyumlu olarak en sık izole kompleks eksikliklerinin ve bunlardan da en sık kompleks I ve kompleks IV eksikliğinin görüldüğünü çalışmamız desteklemektedir.

Çalışmamızda kompleks I eksikliği saptanan 9 hasta fenotipik özellikleri açısından değerlendirildiğinde MSS tutulumuna kas sistemi tutulumunun eşlik ettiği görülmüştür. Kompleks I eksikliğinde çocuklarda nörolojik sistem tutulumunun ön planda olduğu multisistemik hastalık paterni sıkça görülür (156). Lökoensefalopati sık karşılaşılan fenotip özelliklerinden biri olarak bildirilmiştir. Kompleks I eksikliğinin Leigh veya Leigh benzeri sendrom ile seyredebildiğini gösteren pek çok vaka serisi bulunmakla birlikte 1999 senesinde kompleks I eksikliği olan 51 hastanın %37'sinin fenotipinin Leigh ile uyumlu olduğu

gösterilmiştir (157). Bizim çalışmamızda kompleks I eksikliği olan 9 hastanın 5'inin ilk beş yaşta bulgu verdiği, 5'inin progresif yada progresif intermittan karakterde olduğu, MR görüntüleme bulgularında en sık bilateral bazal gangliyonlarda sinyal artışı olduğu gösterilmiştir. Kompleks I eksikliği saptanan 9 hastanın ikisinde hastalık ile uyumlu gen tutulumu saptanmış olup bir tanesi nDNA (*NDUFA6 geninde c.409 – 410 del*) kaynaklıdır ve Leigh ile benzerlik gösterir, diğeri mtDNA kaynaklıdır (*MTND1 geninde; m.3697G>A nükleotid değişimi*) ve MELAS ile benzer fenotiptedir. Yine Leigh benzeri fenotip gösteren ve kompleks I eksikliğinin eşlik ettiği *NDUFB8* ve *NDUFC2* gibi genlerde hastalık ile ilişkilendirilmiş yeni varyantlar bildirilmiştir (158) (159).

Çalışmamızda kompleks IV eksikliği bulunan 9 hastanın fenotip özelliklerine bakıldığında hastaların sıklıkla 1-12 ay arasında bulgu verdiği ve kraniyal MR görüntülemelerinde 9 hastanın 7'sinde bazal gangliyonlarda bilateral sinyal artışı ve 5 hastada MRS'de laktat piki olduğu gösterilmiştir. 9 hastanın 5'i klinik olarak Leigh sendromu ile benzer özellikler göstermekte olup bunlardan ikisinde SURF 1 gen mutasyonu saptanmıştır. Hastaların yaşam durumuna bakıldığında kompleks IV eksikliği görülen hastalarda mortalite oranının daha yüksek olduğu dikkat çekmektedir. Kompleks IV eksikliğine klinikte sıklıkla; ağır PMSG, nöbet geçirme, beslenme problemleri ve malnutrisyon ile karşılaşmakla beraber Leigh sendromunun bu hastalarda en yaygın görülen fenotip olduğu gösterilmiştir (160).

Çalışmamızda kombine kompleks eksikliği görülen hastalardan bir tanesinde *FBLX4 geni* üzerinde *c1444C>T* nükleotid değişimi görülmüştür. Solunum zincirinde kombine kompleks eksiklikleri MELAS ve CPEO'da sık görülürken non-sendromik grup içinde; miyopati, nöbet geçirme, kazanılmış fonksiyon kaybı ve nöropati ile karşımıza çıkabilir. Bu fenotipin genelde mitokondriyal DNA deplesyonuna bağlı gen mutasyonu ile ortaya çıktığı bildirilmiştir (161).

Çalışmamızda 2000-2020 yılları arasında Sanger yöntemi ile tek gen dizileme, YND yöntemi ile mtDNA analizi, ve nükleer genom için panel gen veya TED analizleri gibi moleküler yöntemler ile değerlendirilen 104 hastanın sonuçları geriye yönelik tarandığında 31 tanesinde (%29.8) mitokondriyal hastalık ile uyumlu nükleer (%74, n=23) ve mitokondriyal (%26, n=8) gen mutasyonları saptandığı gösterilmiştir.

Scaglia ve arkadaşlarının 2004 senesinde yaptıkları çalışmada 113 hastanın 20'sinde (%17.3) klinik olarak mitokondriyal sendrom düşünülmüş olup; bunların içerisinde en sık %30 (n=6) Leigh sendromuna rastlanmıştır. (138) Bizim çalışmamızda 213 hastanın klinik

değerlendirmesinde 47 hastada (%22) klinik olarak mitokondriyal sendrom fenotipi düşünülmüş olup; bunların içerisinde en sık Scaglia'nın çalışması ile uyumlu olarak Leigh sendromu düşünülmüştür ve görülme oranı %53.1(n=25)'tir.

Çalışmamızda hastalık ile uyumlu gen değişikliği saptanan 31 hastanın %65'inde (n=20) hastalığın klinik fenotipinin mitokondriyal sendromlar ile ilişkilendirildiği gösterilmiş olup, gen değişikliği saptanan tüm hastalarda fenotip genotip ilişkisi değerlendirilmiştir.

Hastaların 11'i klinik olarak Leigh sendromuna benzer fenotip özellikleri göstermektedir. Bu hastalarda saptanan patolojik varyantlardan ikisinde mitomapte tanımlı mtDNA değişiklikleri gösterilmiştir. Hastalardan birinde *MTND3* geninde *m.10158T>C* nükleotid değişimi gösterilmiştir, bu gen değişimi ile ilgili literatürde bildirilen vakalar klinik olarak hızlı ilerleyen mitokondriyal ensefalopati ile bildirilmişler ve fenotipleri Leigh ile uyumlu görülmüştür (162). Bu mutasyonu taşıyan hastamızda hipotonisite, PMSG, nöbet geçirme ve orta düzeyde mental retardasyon görülmektedir, ailede benzer hastalık öyküsü mevcuttur ancak hastamız izleminde kronik seyir göstermiştir. *MTATP6* geninde *m.8993T>C* nükleotid değişikliği ile bildirilen vakalarda da yine Leigh fenotipi ile bildirilmiş olup; bizim hastamızın fenotipi ile uyum göstermektedir, bu hastamızın klinik seyir tipi progresif olup hastada ağır mental retardasyon, kas, MSS ve GİS tutulumu dikkat çekmektedir (163).

Hastaların 8'inde nDNA kaynaklı varyasyonlar gösterilmiş olup en sık *SURF-1* (%50, n=4) gen mutasyonu gösterilmiştir. *SURF-1* gen mutasyonu, OR kalıtım gösterip, sitokrom oksidaz c'yi kodlayan gen bileşiminde yer aldığından hastalarda buna bağlı semptomlar gelişmesine neden olur (164). Bu hastalara kompleks IV eksikliği eşlik edebilir (155). Çalışmamızda *SURF-1* gen mutasyonu olan 4 hastanın üçünde solunum zinciri aktivitesi çalışılmış olup ikisinde kompleks IV eksikliği gösterilmiştir. Çalışmamızda iki hastada *SURF-1* geninde mutasyon olduğu bildirilmiş ancak gen lokalizasyonuna dair bilgiye rastlanmamıştır, diğer iki hastada bildirilen varyantlar: *c.252del* ve *c.367del* gen bölgesindeki delesyonlarla gösterilmiş ve hastalık ilişkisi önceden bildirilmiştir. Hastaların dördünün klinik özellikleri değerlendirildiğinde 4 hastadan üçünde ilk klinik bulgunun yaşamın ilk yılı içinde gerçekleştiği, hepsinde aile öyküsü olduğu, 4 hastadan üçünün de progresif ya da progresif intermittan seyrettiği, hepsinin ileri düzey mental retarde olduğu ve kas, MSS, GİS tutulumlarının ön planda olduğu dikkat çekmektedir. Tiranti ve arkadaşları bildirdikleri vaka serilerinde hastaların mevcut fenotip özelliklerini bildirmişlerdir (165).

Hastalardan ikisinde *NDUFA6* geninde mutasyona rastlanmıştır. *NDUFA6* gen bölgesi kompleks I'deki alt birimlerden birini kodlamaktadır, bu nedenle solunum zincirindeki elektron akışında bozulmaya neden olarak mevcut fenotipin gelişmesine yol açarlar (166). Hastalarımızdan; birinde *c.409_410del* değişimi bulunmuştur, bu değişim daha önce “Human Gene Mutation Database” (HGMD)’de bildirilmemiş olup hastanın klinik fenotipinin uyumlu olması ve toplumda çok nadir görünen bir varyant olması nedeni ile yüksek olasılıkla ilişkili olduğu bildirilmiştir. Diğer hastada *c.420+784C>T* nükleotid değişimi ile beraber *c.479delA* delesyonu gösterilmiş olup hastalık ile ilişkisi kanıtlanmıştır.

Leigh kliniği ile benzer özellik gösteren iki hastadan birinde *PDHA1* geninde *c.615C>G* nükleotid değişimi ve diğerine *PDHA1* geninde *c.836C>G* nükleotid değişimi gösterilmiştir. Bu gen bölgesinin X’e bağlı kalıtım gösterdiği ve hastalık ile ilişkilendirildiği bildirilmiş olmakla beraber hastalarımızda eşlik eden varyantlar henüz HGMD’de bildirilmemiştir; ancak hastalık ile ilişkili klinik oluşturabileceği düşünülen nadir varyantlar olarak belirlenmiştir (167). Bu hastalardan biri klinik özellikleri ile Leigh düşündürmekle beraber MR görüntülemesinde atrofi ile uyumlu görünüm olması tabloyu tam karşılamamaktadır; ancak MR bulgularının hastalığın seyrine göre zaman içerisinde değişebileceği unutulmamalıdır (152).

Kliniğini Leigh olarak değerlendirdiğimiz son hastamızda ise *NDUFV1* geninde henüz HGMD’de bildirilmemiş *c.479G>A* nükleotid değişimi görülmüştür. Hastanın klinik bulgularına bakıldığında; aile öyküsü olması, klinik seyir tipinin progresif intermittan karakterde olması, laktik asidoz, KAA’de alanin yüksekliği ile beraber MRS’de laktat piki görülmesi ve hastalığın ön planda kas ve MSS sistem semptomlarıyla seyretmesi Leigh kliniği ile uyumlu görülmüştür. Mevcut değişikliğin normal toplumda nadir görülen bir varyant olması hastalık ile muhtemel ilişkili olabileceğini düşündürdüğünden hasta çalışmaya dahil edilmiştir. *NDUFV1*, NADH’yi oksitleyen flavin kofaktörünü bağlayarak, kompleks I aracılı reaktif oksijen ürünlerinin üretiminin yapıldığı yerdir. Otozomal resesif geçiş gösterir. Bu gen bölgesinde meydana gelen mutasyonların kompleks I aktivitesinde azalmaya yol açarak hastalık patogenezinde rol alabileceği literatürde gösterilmiştir (168) (169).

Hastaların üçü klinik olarak MELAS ile uyumlu olup ikisinde daha önce mitomapte tanımlanmış gen mutasyonlarına rastlanmıştır. *MTTL1* geninde *m.3243A>G* nükleotid değişimine sahip hastada ilk klinik bulgu 6-10 yaş aralığında görülmüş olup, aile öyküsü mevcuttur ve hastalığın seyri intermittan özellik göstermiştir. Hastanın kas biyopsisinde “red ragged fibres” ile uyumlu değişiklikler saptanmıştır (170). *MTND1* geninde *m.3697G>A*

nükleotid değişimi görülen hastada ise; ilk klinik bulgu yaşamın ilk senesinde görülmüş olup, aile öyküsü mevcuttur ve hastalık kronik seyirli olmuştur. Hastanın kas biyopsisinin histopatolojik değerlendirmesi normal olup, solunum zinciri enzim aktivite değerlendirmesinde kompleks I eksikliğinin eşlik ettiği görülmüştür. Genetik veya klinik olarak MELAS sendromu gösterilen vakalarda kompleks I eksikliği ile karşılaşılabilceğini bildiren çalışmalar mevcuttur (171) (172).

Hastalardan birinde *COQ4* geninde *c.437T>G* nükleotid değişimi gösterilmiştir, bu tanımlanmış varyant, ACMG (American College of Medical Genetics)'nin kriterlerine göre sınıf 1 patojenik olabileceği tahmin edilen ancak HGMD'de hastalık ilişkisi henüz bildirilmemiş varyantlardan biridir. *COQ4* geni koenzim Q biyosentezinde görev aldığından, bu bölgede meydana gelen bir mutasyon koenzim Q10 eksikliğine neden olarak solunum zincirinde elektron akışında aksamalara neden olur. Bizim hastamız erken başlangıçlı (1-12 ay) kliniğe sahip olup, hastada aile öyküsünde benzer vaka mevcuttur. Kas, MSS, GİS tutulumunun ön planda olduğu görülmüştür. Kas biyopsisi; mitokondriyal miyopati ile uyumlu olan hastanın kraniyal MR görüntülemesinde atrofi, MRS'inde laktat piki saptanmıştır. Hastalığın klinik seyri progresif olup ağır mental retardasyon gösterilmiştir. Otozomal resesif geçişli olan bu mutasyonunun; erken başlangıçlı ve ağır seyirli giden bir klinik ile ortaya çıktığı bildirilmiştir (173).

Hastalarımızın ikisinde LHON ile uyumlu klinik ve yine hastalık ile ilgili daha önce tanımlanmış ve mitomapte bildirilmiş, *MTND4* geninde mutasyon ve *MTND6* geninde *m.14484T>C* nükleotid değişimi olduğu gösterilmiştir (174). Yine iki hastada Kearns Sayre sendromu ve Pearson sendromu ile uyumlu kliniğe eşlik eden *mtDNA delesyonları* gösterilmiştir (175).

İki hasta 1. ve 2. dekatta tartı alamama, kaşeksi, kas güçsüzlüğü nedeniyle tarafımıza başvurmuş olup fenotipik özellikleri MINGIE lehine değerlendirilmiştir. Bu hastalardan bir tanesinde daha önce bildirilmemiş *TYMP* geninde *c215G>A* değişimi gösterilmiş olup ekson 3'ün başlangıç nükleotidi olduğundan yanlış kırılmaya neden olabileceği; diğer hastada *TYMP* geninde *IVS6+1G>S* homozigot değişimi gösterilmiş olup, daha önce bildirilmemiş ancak mRNA kodlayan kesimini etkileyebilecek bir pozisyonda olduğundan hastalık ile ilişkisinin muhtemel olduğu düşünülen yeni varyantlar gösterilmiştir. *TYMP* genindeki mutasyonlar OR geçiş gösterir (176).

Çalışmadaki hastalardan biri neonatal dönemde başını tutmada gecikme ve nöbet geçirme şikayeti ile tarafımıza başvurmuş olup anamnezinde hastanın yenidoğan döneminde metabolik dekompanseasyon ve sepsis şüphesiyle progresif bir klinikle kaybedilen kardeş öyküsü olduğu öğrenilmiştir. Hastanın MR görüntülemesinde bilateral bazal gangliyonlarda sinyal artışı mevcut olup, 1 aylıkken yapılan kas biyopsisinde mitokondriyal miyopati ile uyumlu değişimler saptanmıştı. Hastanın hastanede laktat yüksekliği için yapılan tiamin replasmanı sonrası nöbetlerinin tekrarlamadığı görülmüştür. Hastadan moleküler analizde tiaminin hücre içine taşınmasında görev alan proteini kodlayan, OR kalıtılan, *SCL19A3* geninde tiamin-biotin yanıtı bazal gangliyon hastalığı ile uyumlu kliniği açıklayan *c116T>C* değişimi görülmüştür. Mevcut nükleotid değişimi ve oluşturduğu klinik tablo 2013 senesinde Gerard ve arkadaşları tarafından erken başlangıçlı ve ölümcül seyreden Leigh sendromunun yeni nedenlerinden biri olarak bildirilmiştir (177).

Kas ve MSS semptomları ile çocukluk çağında tarafımıza başvuran iki kardeşe yapılan TED sonucunda her ikisinde de *POLG* geninde *c.911T>G* nükleotid değişimi olduğu gösterilmiştir. Literatürde *POLG* mutasyonu taşıyan bireylerin juvenil çağlarda epilepsi, ataksi, erişkin çağlarda ilerleyici oftalmopleji ve bazı bireylerde ağır klinikle seyreden Alpers sendromuna kadar geniş bir spektrumda olabileceği gösterilmiştir (178). Çalışmadaki hastalarımızda egzersiz intoleransı, kas gücünde azalma ve rabdomiyoliz atakları görülmüş olup, hastalarda nöbet geçirme dışında mental gerilik saptanmamış, kraniyal MR görüntülemelerinin normal olduğu gösterilmiştir. Hastalarda periferik nöropati ve GİS tutulumuna bağlı beslenme toleransında bozulma ve tartı alımında yetersizlik görülmüştür. Hastalar fenotipik özellikleri ile Alpers sendromunu karşılamamaktadır; ancak *POLG* mutasyonuna sahip bireylerde klinikte değişik fenotiplerle karşılaşılabilen unutulmamalıdır.

Çalışmadaki iki kardeş 1. ve 2. dekat arasında ortaya çıkan bulgularla tarafımıza başvurmuş olup TED analizinde her iki kardeşte daha önce hastalık ile ilişkisi bildirilmiş *TK2* geninde ekson 5'te homozigot *c.323C>T* nükleotid değişimi gösterilmiştir. Mitokondriyal depleksiyon sendromlarından biri olan *TK2* gen mutasyonları OR geçiş gösterirler, klinikle sıklıkla bir yaşından sonra yürümede gecikme ve kas güçsüzlüğü ile başvuran hastalarda kas biyopsisinde mitokondriyal miyopati ile prezente oldukları bildirilmiştir (179). Hastalarda kas biyopsisi de mitokondriyal miyopati ile uyumlu olup, bildirilenden farklı olarak daha ileri yaşlarda ve hızlı ilerleyen semptomların görüldüğü gösterilmiştir, mevcut gen mutasyonu anne ve babada heterozigot olarak gösterilmiştir.

Neonatal başlangıçlı ve hızlı progresyon gösteren, ağır PMSG ve nöbetlerle seyreden, beslenme problemleri gelişen bir hastamızda *EARS2* geninde *ekzon 3'te* heterozigot *c.319C>T* nükleotid değişimi ve *ekzon 7'de* heterozigot *c.1283delC* nokta delesyonu saptanmıştır ve hastalık ile ilişkisi gösterilmiştir. Mitokondriyal deplesyon sendromlarından biri olan *EARS2* gen mutasyonu literatürde kombine oksidatif fosforilasyon eksikliği tip 12 olarak ifade edilmektedir. Neonatal başlangıçlı, hipotonisite ve gelişim geriliği ile bildirilmiş vakalar mevcut olup, hastamızın kliniğiyle uyumludur (180). Yüksek laktat değerleri ve lökoensefalopati tablosu ile karşımıza çıkabilmektedir (181).

Çalışmadaki hastalardan birinde mtDNA deplesyon sendromlarından biri olarak tanımlanmış (tip13) *FBXL4* geninde *c.1444C>T* değişimi saptanmıştır. Gai ve arkadaşları tarafından 2013 senesinde tanımlanan bu varyantın erken başlangıçlı mitokondriyal ensefalopati ile seyrettiği gösterilmiştir olup hastanın kliniği literatürle uyumludur (182).

Mitokondriyal iç membrandaki krista yapısı ve mitokondriyal temas bölgelerinin oluşumuna etki ettiği gösterilen *MICOS13* gen bölgesi ilk defa 2015 yılında Guarani ve arkadaşları tarafından tanımlanmıştır (183). Literatürde karaciğer yetmezliği ile seyreden erken başlangıçlı ölümcül mitokondriyal ensefalopati kliniği ile seyrettiği gösterilmiş olup, çalışmada bir hastada hastalık ile uyumlu *c.260-2A>G* nükleotid değişikliği gösterilmiştir. Hastamız değerlendirildiğinde; ailesinde 1. derece kuzen evliliği olduğu, neonatal dönemde şikayetlerinin başladığı, dirençli metabolik asidoz ve laktat yüksekliği ile seyrettiği, KCFT'nin normalin 3-4 katı kadar yükseklikte olduğu gösterilmiştir. Hastanın kraniyal görüntülemesinde tekrarlayan inme benzeri ataklara sekonder olduğu düşünülen kistik alanlar ve serebellar vermis hipoplazisi gösterilmiş olup, 18 aylıkken hasta metabolik dekompanseasyon nedeni ile kaybedilmiştir. Mevcut bilgilerle kıyaslandığında hastanın bildirilen klinik fenotip ile benzer özellikte seyrettiği görülmüştür.

Çalışmadaki hastalardan birinde *USP9X* (*Ubiqinon spesifik proteaz 9 – X aracılı*) geninde *c.2746C>T* nükleotid değişimi gösterilmiştir, bu gen X'e bağlı kalıtımla seyretmekte olup bildirilen mutasyonlarda zeka geriliği ve mental retardasyon fenotipi gösterilmiştir. Bu gende meydana gelen mutasyon nedeni ile ubiqlinonun solunum zincirinde geri dönüşümlü kullanılması aksayacağından elektron taşınmasında meydana gelecek bozukluk hastalığa zemin hazırlar (184). Hastamızda gösterilen gen değişimi henüz HMGD'de bildirilmemiş olup, değişimin stop kodon meydana getirmesi ve toplumda nadir görülen bir varyant olarak gösterilmesi hastalık ile muhtemelen ilişkili olabileceğini düşündürmektedir.

Çalışmadaki hastalarımızdan birinde *TMEM70* (transmembran protein 70) geninde *c.535C>T* değişimi gösterilmiştir. *TMEM 70*, otozomal resesif kalıtılan, kompleks V (ATP sentaz)'i kodlayan bir gen bölgesi olup buradan kaynaklanan gen değişikliklerinin mitokondriyal hastalığa neden olabileceği gösterilmiştir. 2006 yılında Calvo ve arkadaşları tarafından tanımlanan bu gen mutasyonunda hastaların neonatal başlangıçlı MSS, kalp ve kas tutulumunun eşlik ettiği progresif seyirli bir fenotip izledikleri gösterilmiştir. Bizim hastamızın da bunlara uygun olarak ilk bulgusu 1. aydan sonra farkedilmiş olup, kas güçsüzlüğü, ağır PMSG geriliği, nöbet geçirme, yutma disfonksiyonuna bağlı beslenme güçlüğü ve kardiyomiopatinin eşlik ettiği görülmüştür. Hastanın aile öyküsünde özellik olmayıp, mevcut gen değişikliği anne ve babada heterozigot, hastamızda da homozigot olarak gösterilmiştir. Kliniğin literatürle uyumlu olması, hastanın solunum zinciri enzim aktivitesinde kompleks V eksikliğinin görülmesi ve mevcut değişikliğin nadir bir varyant olduğunun gösterilmesi hastalık ile ilişkili olduğunu göstermektedir (185).

Çalışmamızda mitokondriyal hastalık tanısı ile izlenen, kas bulguları ön planda olmak üzere hafif mental retardasyon eşlik eden bir hastamızın MR görüntülemesi ve MRS'i normal olup, kas biyopsisi lipit birikim miyopatisi saptanmıştır. Bu hastanın TED analizinde; *AMDP1* geninde *c.1041T>C* nükleotid değişikliği gösterilmiştir. Bu değişiklik daha önce HMGD'de bildirilmemiş olup, normal toplumda görülme sıklığı oldukça düşüktür, mevcut gen üzerinde meydana gelen değişikliklerin hastalık ile ilişkili olduğu literatürde gösterildiğinden muhtemel patolojik varyantlardan biri olabileceği düşünülmüş ve tarafımızca bildirilmiştir. *AMDP1* geninde; görülen yeni varyantların literatürde dönem dönem bildirildiği görülmüştür (186) (187).

Mitokondriyal solunum zincir bozukluklarıyla ilişkilendirilmiş 31 hastanın fenotip genotip ilişkisinin değerlendirmesinde; hastalık ile ilişkili son 10 yıl içerisinde tanımlanmış pek çok gen değişikliği olduğunu ve her geçen gün yeni saptanan varyantların literatüre bildirildiğini söylemek mümkündür. Mitokondriyal hastalık etiyolojisinde geçmişte daha yaygın olarak mtDNA analizi kullanılmasına karşın, günümüzde gelişen YND yöntemleri ile kısa sürede çok sayıda ekson bölgesinin taranması mümkün olduğundan, mtDNA ve nDNA analizi için pratik bir şekilde kullanımını mümkün kılmıştır. Çalışmalara bakıldığında aile öyküsü olan hastalarda nDNA kaynaklı mutasyonların göz ardı edilemeyecek şekilde sık olduğu gözlenmiştir.

Çalışma grubunda önceden yapılan analizler değerlendirildiğinde eskiden anlamlı kabul edilmediği halde günümüzde tanımlanmış gen mutasyonlarının olduğu gözlenmiştir. Bu

sebeple eski analizlerinin günümüz genetik veri tabanı kullanılarak tekrar değerlendirilmesi mutlak önem taşır. Yine aynı şekilde her ne kadar henüz bildirilmemiş olsa da, toplumda nadir görülen ve klinik fenotipi ilgili gen mutasyonu ile benzer nitelikte görülen hastalarda saptanan varyantların tanımlanarak sunulması, genetik çalışmalara katkı sağlayacaktır. Bu şekilde yeni yöntemlerden akıllıca yararlanmak ve tanı sürecini kısaltmak önümüzdeki yıllarda çok daha mümkün olacaktır.



6. SONUÇLAR

Bu çalışmada İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Beslenme ve Metabolizma Bilim Dalı tarafından Ocak 1990 - Aralık 2020 tarihleri arasında mitokondriyal hastalık tanısı ile izlenen 240 hastanın dosya ve hastane sistemindeki verileri değerlendirildi. Dosya değerlendirmesinde mitokondriyal hastalık tanısı için yeterli tetkik ve izleminin olmaması ya da izlem sürecinde başka tanılar konulması nedeniyle 27 hasta çalışmaya dahil edilmedi. Çalışmamızda 213 hasta üzerinden yapılan geriye dönük değerlendirmede aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir.

1. Çalışmamızda hastaların ortalama başvuru yaşının $4.5 \text{ yıl} \pm 6.8$ olduğu, yaşam durumu bilinen 153 hasta içinden sağ olan 131 (%85.6) hastanın güncel yaş ortalamasının $16 \text{ yaş} \pm 11.3$ olduğu gösterilmiştir.
2. Hastaların %54.5'inin (n=116) erkek, %45.5'inin (n=97) kız olduğu görülmüştür. Erkek/ kız oranı 1,2 saptanmıştır.
3. Hastaların ilk klinik bulgu görülen yaş aralığı; en sık 1 ay – 12 ay arası dönemde %39.2, ikinci sıklıkla 1 yaş – 5 yaş arası dönemde %25.4 ve üçüncü olarak %21.5 sıklıkta neonatal dönemdedir.
4. Yaşam durumu bilinen 153 hastada mortalite oranının %14.4 (n=22) olduğu görülmüş, ölüm yaşı ortalamasının $2.5 \text{ yıl} \pm 2.8$ olduğu (dağılım: 1 gün - 20 yaş) gösterilmiştir.
5. Kaybedilen hastaların ilk klinik bulgu görülme yaşlarına göre oranları değerlendirildiğinde; neonatal dönemde bulgu veren hastaların %45 (n=10)'ünün, 1 ay -12 ay arası bulgu veren hastaların %40.9 (n=9)'ünün, 1-5 yaş arası bulgu veren hastaların %13.6 (n=3)'ünün kaybedildiği görülmüştür.
6. Hastalarda akraba evliliği görülme sıklığının %55.8 (n=111) olduğu, akraba evliliği olan hastalar kendi içinde değerlendirildiğinde en sık %68.8 birinci derece kuzen evliliği, ardından %22 sıklıkta ikinci derece kuzen evliliği geldiği görüldü.
7. Hastaların %37.4'ünde ailede benzer hastalık, %4.9'unda kardeşte benzer hastalık ve %14.3'ünde ailede yenidoğan döneminde açıklanamayan ani bebek ölümü olduğu gösterilmiştir.
8. Çalışmamızda akraba evliliği oranının yüksek olması nDNA mutasyonlarını daha sık görmemize neden olup mutasyonu bildirilen 31 hastanın 23 tanesinde ise (%74.1) nDNA ve 8'inde (%25.8) mtDNA gen değişikliği gösterilmiştir.

9. Hastalıkların klinik seyir tipi; kronik %43.3, kronik intermittan %23.4, progresif %13.2, intermittan %11.2 ve progresif intermittan %8.8 olarak gösterilmiştir.
10. Hastaların %91.5'i multisistem tutulumlu olup en sık kas (%88.6) ve merkezi sinir sistemi (%80.5) tutulumu görülmüştür.
11. Kas ve MSS tutulumunda en sık PMSG %72.4, hipotonisite %47.1, nöbet geçirme %34.8 gösterilmiştir.
12. Hastalarda %67.1'inde gastrointestinal, %17.6'sında göz, %17.4'ünde kardiyak , %11.6'sında renal, %11.2'sinde işitme problemleri, %9'unda endokrin sistem, %7.2'sinde hematolojik, %5.4'ünde periferik sinir sistemi tutulumu ve %2.4'ünde deri bulguları gösterilmiştir.
13. Kalp tutulumu olan hastaların %91'inde kardiyomiyopati, göz tutulumu olan hastaların %38'inde optik atrofi, böbrek tutulumu olan hastaların %50'sinde proksimal tübül disfonksiyonu gösterilmiştir.
14. Gastrointestinal bulgulardan hastaların %41.8'inde tartı alımında gerilik, %24.2'sinde tekrarlayan kusma atakları ve açıklanamayan ishal, tüm hastaların %15.1'inde yardımcı yöntemler ile beslenme gereksinimi gösterilmiştir.
15. Hastaların laboratuvar değerlendirmelerinde; en sık %72.2 laktat yüksekliği, %51.1'inde alanin yüksekliği ve %39.4'ünde metabolik asidoz görülmüştür.
16. Çalışmamızda 11 hastanın BOS değerlendirmesinde, 8 hastada (%72) laktat yüksekliği gösterilmiştir.
17. Çalışmamızda 185 hasta kraniyal MR görüntülemelerinde, %27.6 (n=51)'sında normal olduğu, patolojik bulgu saptanan görüntülemelerde en sık sinyal artışı görüldüğü (%50.3, n=93) ve bunun da en sık bazal gangliyonlarda olduğu (%55.9, n=52) gösterilmiştir. Hastalarda 2. en sık görülen bulgu %11.4 (n=21) ile atrofidir. Çalışmamızdaki 78 hasta MRS ile değerlendirilmiş olup bunların %70'inde (n=55) hastalık ile uyumlu laktat piki saptanmıştır.
18. Çalışmamızda 164 hastanın kas biyopsisinde %68.3'ünde (n=112) mitokondriyal hastalık ile uyumlu histopatolojik bulguya rastlanmıştır. Hastalarda en sık %46.3 (n=76) lipid birikim miyopatisi, 2. sıklıkta %20.7 (n=34) mitokondriyal miyopati ve %1.2 (n=2) ile 'red ragged fibres' görüldüğü bildirilmiştir.
19. Çalışmamızda 61 hastada solunum zincir enzim aktivitelerinin değerlendirmesinde; 34'ünde (%55.7) eşlik eden kompleks eksikliği olduğu görülmüştür. Çalışmada solunum zincir enzim aktivitelerinde düşüklük saptanan hastaların %28'inde n=9 kompleks I eksikliği, %28'inde n=9 kompleks IV eksikliği görülmüştür. Hastaların

- %12.5'inde (n=4) kompleks I-IV eksikliği olduğu gösterilmiş olup, üç hastada kompleks II-III eksikliği, iki hastada kompleks I-III eksikliği, üç hastada PDH eksikliği, bir hastada kompleks V eksikliği, bir hastada kompleks I ve PDH eksikliği birlikte görülmüş ve iki hastada kombine kompleks eksikliği saptanmıştır.
20. Kompleks I eksikliği olan iki hastadan birinde *NDUFA6* geninde c.409 – 410 del gen delesyonu ve Leigh sendromu, diğerinde ise *MTND1* geninde; m.3697G>A nükleotid değişimi ve buna bağlı MELAS sendromu görülmüştür.
21. Kompleks IV eksikliği olan 9 hastanın beşinin klinik fenotip olarak Leigh ile benzerlik gösterdiği ve bunlardan iki tanesinde moleküler yöntemler ile *SURF 1* gen mutasyonu olduğu gösterilmiştir.
22. Kombine I-II-III-IV eksikliği olan bir hastada *FBLX4* geni üzerinde c1444C>T nükleotid değişimi olduğu gösterilmiştir.
23. Çalışmamızda 2000-2020 yılları arasında moleküler yöntemler ile değerlendirilen 104 hastanın sonuçları incelenmiş olup, 31'inde (%29.8) mitokondriyal hastalık ile uyumlu nükleer (%74, n=23) ve mitokondriyal (%26, n=8) gen mutasyonları olduğu gösterilmiştir.
24. Hastalık ile uyumlu gen değişikliği saptanmayan 73 hastanın %90'ında (n=66) sadece mtDNA değerlendirilmiş olup, %1.37'sinde (n=1) sadece nDNA, %8,2'sinde ise hem mtDNA hem nDNA değerlendirmesi yapıldığı gösterilmiştir.
25. Daha önce tanımlanmış mitokondriyal sendromlar açısından (Leigh, LHON, MELAS, Alpers sendromu, MINGIE vs.) hastalar incelendiğinde; çalışmaya alınan 213 hastanın 47 (%22)'sinde mevcut fenotipler düşünülmüş olup; bunların arasında en sık %53.1 (n=25) ile Leigh sendromunun görüldüğü dikkat çekmiştir.
26. Hastalık ile uyumlu gen değişikliği saptanan 31 hastanın; %65'inde (n=20) klinik fenotipinin mitokondriyal sendromlar ile ilişkilendirildiği gösterilmiş olup bunlardan 11 (%35)'inde yine Leigh sendromu ile uyumlu gen tutulumu olması dikkat çekmektedir.
27. Leigh sendromu düşünülen 11 hastanın ikisinde daha önce mitomapte bildirilmiş; *MTND3* geninde m.10158T>C ve *MTATP6* geninde m.8993T>C nükleotid değişikliği gösterilmiş olup hastaların kliniğinin bildirilenle uyumlu olduğu gösterilmiştir.
28. Leigh sendromuna neden olan nDNA kaynaklı mutasyonlara bakıldığında dört hastada *SURF1* geninde, iki hastada *PDHA1* geninde ve iki hastada *NDUFA6* geninde nükleotid değişimi olduğu gösterilmiştir.

29. Çalışmamızda *SURF 1* geninde mutasyon olduğu gösterilen dört hastadan, ikisinde *SURF-1* geninde mutasyon olduğu bildirilmiş ancak dosyalarda gen lokalizasyonuna dair bilgiye rastlanmamıştır, diğer iki hastada bildirilen varyantlar: *c.252del* ve *c.367del* gen bölgesindeki delesyonlarla gösterilmiş ve hastalık ilişkisi önceden bildirilmiştir.
30. Moleküler değerlendirmesinde; *NDUFA6* geninde değişiklik olan iki hastadan birinde *c.420+784C>T* nükleotid değişimi ile beraber *c.479delA* delesyonu gösterilmiş olup hastalık ile ilişkisi kanıtlanmıştır. Diğerinde ise; *c.409_410del* değişimi bulunmuştur, bu değişim daha önce HGMD’de bildirilmemiş olup hastanın klinik fenotipinin mevcut gen tutulumu ile uyumlu olması ve toplumda çok nadir görülen bir varyant olması nedeni ile muhtemelen ilgili olarak kabul edilmiştir.
31. Leigh kliniği ile benzer özellik gösteren iki hastadan birinde *PDHA1* geninde *c.615C>G* nükleotid değişimi ve diğerine *PDHA1* geninde *c.836C>G* nükleotid değişimi gösterilmiştir. Bu gen bölgesinin X’e bağlı kalıtım gösterdiği ve hastalık ile ilişkilendirildiği bildirilmiş olmakla beraber hastalarımızda eşlik eden varyantlar henüz HGMD’de bildirilmemiştir; ancak hastalık ile ilişkili klinik oluşturabileceği düşünülen nadir varyantlar olarak belirlenmiştir.
32. Kliniğini Leigh olarak değerlendirdiğimiz bir hastamızda *NDUFV1* geninde *c.479G>A* nükleotid değişimi görülmüştür. Henüz HGMD’de bildirilmemiş olmasına rağmen mevcut değişikliğin normal toplumda nadir görülen bir varyant olması hastalık ile muhtemel ilişkili olabileceğini düşündürdüğünden hasta çalışmaya dahil edilmiştir. Hastanın kliniği mevcut gende bildirilen fenotiplerle uyumludur.
33. Kliniği MELAS ile uyumlu olan üç hastadan iki tanesinde daha önce mitomapte bildirilmiş, *MTTL1* geninde *m.3243A>G* ve *MTND1* geninde *m.3697G>A* nükleotid değişiklikleri gösterilmiş olup; bu genlerin MELAS kliniğine neden olabileceği önceden bildirilmiş. Bu hastalardan birinde kas biyopsisinde ‘red ragged fibres’ tutulumu gösterilmiş, diğerinde mitokondriyal miyopati ile uyumlu görünüm ve kompleks I eksikliği saptanmıştır. MELAS olarak bildirilen vakalarda kompleks I eksikliği görülebileceği daha önce bildirilmiş olup, hastaların kliniği ile bildirilen fenotip uygunluk göstermiştir.
34. Kliniği MELAS ile uyumlu olan üçüncü hastada daha önce HGMD’de bildirilmemiş *COQ4* geninde *c.437T>G* nükleotid değişimi gösterilmiştir. Bu hasta literatürde ACMG’nin kriterlerine göre sınıf 1 patojenik olabileceği tahmin edilen

- varyantlardan biri olduğundan hastalık açısından anlamlı kabul edilmiştir. Otozomal resesif geçişli olan bu mutasyonunun; erken başlangıçlı ve ağır seyirli giden bir klinik ile ortaya çıktığı bildirilmiş olup hastamızın kliniğinde de benzer özellikler tarif edilmiştir.
35. Hastalarımızın ikisinde LHON ile uyumlu klinik ve yine hastalık ile ilgili daha önce tanımlanmış ve mitomapte bildirilmiş, *MTND4* geninde mutasyon ve *MTND6* geninde *m.14484T>C* nükleotid değişimi olduğu gösterilmiştir.
36. İki hastada Kearns Sayre sendromu ve Pearson sendromu ile uyumlu kliniğe eşlik eden *mtDNA delesyonları* olduğu bildirilmiştir.
37. Klinik fenotipi MINGIE ile uyumlu olan iki hastanın yapılan moleküler analizinde; her ikisinde *TYMP* geninde meydana gelen değişiklikler gösterilmiştir. Bu hastalardan bir tanesinde *TYMP* geninde *c215G>A* değişimi gösterilmiş olup ekson 3'ün başlangıç nükleotidi olduğundan yanlış kırılmaya neden olabileceği; diğer hastada *TYMP* geninde *IVS6+1G>S* homozigot değişimi gösterilmiş olup, mRNA kodlayan kesimini etkileyebilecek bir pozisyonda olduğundan hastalık ile ilişkisinin muhtemel olduğu düşünülmüştür. Böylece MINGIE ile fenotipi uyumlu hastalarda, hastalığın fenotip özelliklerini oluşturan gen üzerinde iki yeni varyant tanımlanmıştır.
38. Yenidoğan döneminde bulgu veren ve nöbet şikayeti ile başvuran, metabolik asidozu ve laktat yüksekliği saptanan ailede yenidoğan döneminde kaybedilen benzer kardeş öyküsü olan bir hastamızda, *SCL19A3* geninde tiamin-biotin yanıtı bazal gangliyon hastalığı ile uyumlu *c.116T>C* değişimi görülmüştür. Mevcut nükleotid değişimi ve oluşturduğu klinik tablo daha önce erken başlangıçlı ve ölümcül seyreden Leigh sendromunun yeni nedenlerinden biri olarak bildirilmiştir.
39. Kas ve MSS semptomları ile çocukluk çağında başvuran iki kardeşten her ikisinde de *POLG* geninde *c.911T>G* nükleotid değişimi olduğu gösterilmiştir. Bu gen mutasyonu mitokondriyal sendromlardan; Alpers sendromunda sıklıkla görülmektedir; ancak Alpers sendromu klinikte progresif nörodejenerasyon, tedaviye dirençli nöbetler ve karaciğer disfonksiyonu ile seyretmekte olup, bizim hastalarımız kronik seyirli, karaciğer enzim değerleri normal aralıkta ve nöbetleri tedaviye yanıtı olan vakalardır. Bu nedenle mevcut sendromun kliniğini karşılamamaktadır. Ancak bildirilen vakalarda *POLG* geninde meydana gelen değişimlerin geniş spektrumda bir klinikle karşımıza çıkabileceği gösterilmiştir.

40. Çalışmamızda iki kardeşin kliniğe 1. ve 2. dekat arasında ortaya çıkan kas ve MSS bulgularıyla başvurdukları ve kliniklerinin progresif-intermittan seyirli olduğu gösterilmiştir. Her iki hastada mitokondriyal miyopati ile uyumlu görünüm saptanmış, hastaların moleküler değerlendirmesinde daha önce hastalık ile ilişkisi bildirilmiş *TK2* geninde ekson 5'te homozigot *c.323C>T* nükleotid değişimi gösterilmiştir. Ancak bu gen değişimi bildirilen hastaların sıklıkla bir yaşından sonra yürümede gecikme ve kas güçsüzlüğü ile kliniğe başvurdukları ve kas biyopsisinde mitokondriyal miyopati ile uyumlu görünüm bildirilmiştir. Çalışmamızda literatürden farklı olarak ilk klinik bulgu yaşının daha ileri olabileceği gösterilmiştir.
41. Neonatal başlangıçlı ve hızlı ilerleme gösteren, ağır PMSG ve nöbetlerle seyreden, beslenme problemleri gelişen bir hastamızda *EARS2* geninde ekzon 3'te heterozigot *c.319C>T* nükleotid değişimi ve ekzon 7'de heterozigot *c.1283delC* nokta delesyonu saptanmıştır ve hastalık ile ilişkisi gösterilmiştir. Daha önce literatürde bildirilen vakalar ile hastamızın fenotipi uyumludur.
42. Hastalardan birinde *FBXL4* geninde *c.1444C>T* değişimi saptanmıştır. Bu varyantın erken başlangıçlı mitokondriyal ensefalopati ile seyrettiği gösterilmiştir olup hastamızın kliniği mevcut gen değişimi ile bildirilen diğer vakalarla uyumludur.
43. Neonatal dönemde bulgu vermeye başlayan, ailesinde birinci derece kuzen evliliği olduğu bildirilen; dirençli metabolik asidoz ve laktat yüksekliği ile seyreden, AST,ALT değerleri normalin 3-4 katı kadar yükseklikte olduğu gösterilen bir hastamızda *MICOS13* geninde hastalık ile uyumlu *c.260-2A>G* nükleotid değişikliği gösterilmiştir. Mevcut gen değişikliği ile bildirilen klinik ile hastamızın benzer özellikte seyrettiği görülmüştür.
44. Çalışmadaki hastalardan birinde *USP9X* geninde *c.2746C>T* nükleotid değişimi gösterilmiştir, bu gen X'e bağlı kalıtımla seyretmekte olup bildirilen mutasyonlarda hastamızın kliniği ile uyumlu olarak zeka geriliği ve mental retardasyon fenotipi gösterilmiştir. Bu gen değişimi henüz HMGD'de bildirilmemiş olup, değişimin stop kodon meydana getirmesi ve toplumda nadir görülen bir varyant olarak gösterilmesi hastalık ile muhtemelen ilişkili olabileceğini düşündürmektedir.
45. Çalışmadaki hastalarımızdan birinde *TMEM70* geninde *c.535C>T* değişimi gösterilmiştir. Bu gen mutasyonunda, hastalarda neonatal başlangıçlı MSS, kalp ve kas tutulumunun eşlik ettiği progresif seyirli bir fenotip izledikleri gösterilmiştir. Bizim hastamızın da bunlara uygun olarak ilk bulgusu 1. aydan sonra fark edilmiş

olup, kas güçsüzlüğü, ağır PMSG geriliği, nöbet geçirme, yutma disfonksiyonuna bağlı beslenme güçlüğü ile kardiyomiyopatinin eşlik ettiği görülmüştür. Kliniğin literatürle uyumlu olması, hastanın solunum zinciri enzim aktivitesinde *TMEM70* gen değişikliğine eşlik edebileceği gösterilen kompleks V eksikliğinin görülmesi ve mevcut değişikliğin nadir bir varyant olduğunun gösterilmesi henüz HGMD’de bildirilmemiş dahi olsa hastalık ile ilişkili olabileceğini göstermektedir.

46. Son hastamızda yapılan moleküler analizde *AMDP1* geninde *c.1041T>C* nükleotid değişikliği gösterilmiştir. Hastamız kas bulguları ön planda olmak üzere hafif mental retardasyon, normal MR görüntülemesi ve MRS’i ve kas biyopsisinde lipit birikim miyopatisi görülmüştür. Tanımlanan gen ile ilgili benzer vakalar bildirilmiştir. Bu mutasyon daha önce HGMD’de bildirilmemiş olup, normal toplumda görülme sıklığı düşük olduğundan hastalıkla ilişkili olabileceği düşünülmüştür.
47. Yeni nesil dizileme yöntemleri ile kısa sürede çok sayıda ekson bölgesinin taranması mümkün olduğundan, mtDNA ve nDNA analizi için pratik bir şekilde kullanımını mümkün kılmıştır. Bu nedenle hastalık ile ilişkili son 10 yıl içerisinde tanımlanmış pek çok gen değişikliği olduğunu ve çalışma grubumuzda olduğu gibi her geçen gün yeni saptanan varyantların literatüre bildirildiğini söylemek mümkündür.
48. Bu çalışma bize yeni tanımlanan genetik tanı yöntemlerinin geliştirilmesinin ve onlardan akıllıca yararlanmanın çalışmaları uzun süre ve emek isteyen dokuda histopatolojik değerlendirme ve kompleks aktivitelerinin tayini gibi klasik tanı yöntemlerine göre mitokondriyal hastalıkların tanı sürecini kısaltmada önümüzdeki yıllarda çok daha öncelikli olacağını düşündürmektedir.

Kısıtlamalar ve Öneriler:

Çalışmamızda 213 hasta dosyası detaylıca değerlendirilmiş olup, bazı dosyalardaki verilere; eksik dökümantasyon olması ve hastane otomasyon sisteminin değişmiş olması nedeniyle ulaşılamamıştır. Hastaların bir kısmının son yıllarda hastane başvurusu olmaması ve iletişim bilgilerinin değişmiş olması nedeniyle, güvenilir bulunmayan parametreler çalışmaya dahil edilmemiştir.

Retrospektif çalışmalar mevcut hastalık ile ilgili her türlü verinin geniş bir kitle üzerinde değerlendirilmesine ve özellikle nadir hastalıkların tanınmasına olanak sağlar. Bu nedenle hasta ile ilgili verilerin açık bir dille ifade edilmesi ve kolay ulaşılabilir olması çalışmaların güvenilirliği açısından oldukça önemlidir.

7. KAYNAKÇA

1. Vakifahmetoglu-Norberg H, Ouchida AT, Norberg E. The role of mitochondria in metabolism and cell death. *Biochem Biophys Res Commun*. 2017;482(3):426-31.
2. Luft R, Ikkos D, Palmieri G, Ernster L, Afzelius B. A case of severe hypermetabolism of nonthyroid origin with a defect in the maintenance of mitochondrial respiratory control: a correlated clinical, biochemical, and morphological study. *J Clin Invest*. 1962;41(9):1776-1804.
3. Anderson S, Bankier AT, Barrell BG, de Bruijn MH, Coulson AR, Drouin J, et al. Sequence and organization of the human mitochondrial genome. *Nature*. 1981;290(5806):457-65.
4. Boggan RM, Lim A, Taylor RW, McFarland R, et al. Resolving complexity in mitochondrial disease: Towards precision medicine. *Molec Genet Metab*. 2019;128(1-2):19-29.
5. Altmann R. Die Elementarorganismen und ihre Beziehungen zu den Zellen: Veit;1984.
6. Benda C. Ueber die spermatogenese der vertebraten und höherer evertibraten, II. Theil: Die histiogenese der spermien. *Arc Anat Physiol*. 1898;73:393-8.
7. Warburg O, Negelein E. Über das Absorptionsspektrum des Atmungsferments. *Biochem Z*. 1929;214:64-100.
8. Keilin D. On cytochrome, a respiratory pigment, common to animals, yeast, and higher plants. *Proc R Soc Lond B*. 1925;98(690):312-39.
9. Krebs HA, Kornberg HL, Burton K. A survey of the energy transformations in living matter. *Ergeb Physiol*. 1957;49(1):212-98.
10. Nass MM, Nass S. Intramitochondrial fibers with DNA characteristics: I. Fixation and electron staining reactions. *J Cell Biol*. 1963;19(3):593-611.
11. McLean JR, Cohn GL, Brandt IK, Simpson MV. Incorporation of labeled amino acids into the protein of muscle and liver mitochondria. *J Biol Chem*. 1958;233(3):657-63.
12. Mitchell P. Coupling of phosphorylation to electron and hydrogen transfer by a chemi-osmotic type of mechanism. *Nature*. 1961;191(4784):144-8.
13. Schon EA, Bonilla E, DiMauro S. Mitochondrial DNA mutations and pathogenesis. *J Bioenerg Biomembr*. 1997;29(2):131-49.

14. DiMauro S. Mitochondrial encephalomyopathies: back to Mendelian genetics. *Ann Neurol.* 1999;45(6):693-4.
15. Darin N, Oldfors A, Moslemi AR, Holme E, Tulinius M. The incidence of mitochondrial encephalomyopathies in childhood: clinical features and morphological, biochemical, and DNA abnormalities. *Ann Neurol.* 2001;49(3):377-83.
16. Skladal D, Halliday J, Thorburn DR. Minimum birth prevalence of mitochondrial respiratory chain disorders in children. *Brain.* 2003;126(8):1905-12.
17. Arpa J, Cruz Martínez A, Campos Y, Gutiérrez Molina M, García Rio F, Pérez Conde C, et al. Prevalence and progression of mitochondrial diseases: a study of 50 patients. *Musc Nerve.* 2003;28(6):690-5.
18. Palade GE. An electron microscope study of the mitochondrial structure. *J Histochem Cytochem.* 1953;1(4):188-211.
19. Bartolak Suki E, Imsirovic J, Nishibori Y. Regulation of Mitochondrial Structure and Dynamics by the Cytoskeleton and Mechanical Factors. *Int J Mol Sci.* 2017;18(8):1812.
20. Ardail D, Privat J, Egret Charlier M, Levrat C, Lerme F, Louisot P. Mitochondrial contact sites. Lipid composition and dynamics. *J Biol Chem.* 1990;265(31):18797-802.
21. Bayrhuber M, Meins T, Habeck M, Becker S, Giller K, Villinger S, et al. Structure of the human voltage-dependent anion channel. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2008;105(40):15370-5.
22. Shoshan-Barmatz V, Israelson A, Brdiczka Da, Sheu S. The voltage-dependent anion channel (VDAC): function in intracellular signalling, cell life and cell death. *Curr Pharm Des.* 2006;12(18):2249-70.
23. Neupert W, Herrmann JM. Translocation of proteins into mitochondria. *Annu Rev Biochem.* 2007;76(1):723-49.
24. Arco AD, Satrustegui J. New mitochondrial carriers: an overview. *Cell Mol Life Sci.* 2005;62(19-20):2204-27.
25. Frey TG, Mannella CA. The internal structure of mitochondria. *Trends Biochem Sci.* 2000;25(7):319-24.
26. Koehler CM, Beverly KN, Leverich EP. Redox pathways of the mitochondrion. *Antioxid Redox Signal.* 2006;8(5-6):813-22.
27. Rustin P, Bourgeron T, Parfait B, Chretien D, Munnich A, Rotig A. Inborn errors of the Krebs cycle: a group of unusual mitochondrial diseases in human. *Biochim Biophys Acta.* 1997;1361(2):185-97.

28. DiMauro S, Schon EA. Mitochondrial respiratory-chain diseases. *N Engl J Med*. 2003;348(26):2656-2668.
29. Smith AC, Robinson AJ. A metabolic model of the mitochondrion and its use in modelling diseases of the tricarboxylic acid cycle. *BMC Syst Biol*. 2011;5(1):102.
30. Sun F, Huo X, Zhai Y, Wang A, Xu J, Su D, et al. Crystal structure of mitochondrial respiratory membrane protein complex II. *Cell*. 2005;121(7):1043-57.
31. Alvarez-Paggi D, Zitare U, Murgida DH. The role of protein dynamics and thermal fluctuations in regulating cytochrome c/cytochrome c oxidase electron transfer. *Biochim Biophys Acta*. 2014;1837(7):1196-207.
32. Guo R, Gu J, Zong S, Wu M, Yang M. Structure and mechanism of mitochondrial electron transport chain. *Biomed J*. 2018;41(1):9-20.
33. Stewart JB, Chinnery PF. The dynamics of mitochondrial DNA heteroplasmy: implications for human health and disease. *Nat Rev Genet*. 2015;16(9):530-42.
34. Alston CL. Improving the genetic diagnosis of mitochondrial disease using custom next-generation sequencing strategies. Doctoral dissertation, Newcastle University. 2017.
35. Brown GC, Murphy MP, Scott I, Youle RJ. Mitochondrial fission and fusion. *Essays in Biochem*. 2010;47:85-98.
36. Gorman GS, Chinnery PF, DiMauro S, Hirano M, Koga Y, McFarland R, Turnbull DM. Mitochondrial diseases. *Nat Rev Dis Primers*. 2016;2(1):1-22.
37. Fish J, Raule N, Attardi G. Discovery of a major D-loop replication origin reveals two modes of human mtDNA synthesis. *Science*. 2004;306(5704):2098-101.
38. Kunze M, Berger J. The similarity between N-terminal targeting signals for protein import into different organelles and its evolutionary relevance. *Frontie in Physi*. 2015;6:259.
39. Gorman GS, Chinnery PF, DiMauro S, et al. Mitochondrial Diseases. *Nat Rev Dis Primers*. 2016;2:16080.
40. Fuste JM, Shi Y, Wanrooij S, Zhu X, Jemt E, Persson Ö, Falkenberg M. In vivo occupancy of mitochondrial single-stranded DNA binding protein supports the strand displacement mode of DNA replication. *PLoS Genet*. 2014;10(12):e10048.
41. McKinney EA, Oliveira MT. Replicating animal mitochondrial DNA. *Genet Mol Biol*. 2013;36(3):308-15.
42. Reyes A, Kazak L, Wood SR, Yasukawa T, Jacobs HT, Holt IJ. Mitochondrial DNA replication proceeds via a 'bootlace' mechanism involving the incorporation of processed transcripts. *Nucleic acids research*. 2013;41(11):5837-5850.

43. Kornblum C, Nicholls TJ, Haack TB, Schöler S, Peeva V, Danhauser K, Wieland, T. Loss-of-function mutations in MGME1 impair mtDNA replication and cause multisystemic mitochondrial disease. *Nature genetics*. 2013;45(2):214.
44. Uhler JP, Thörn C, Nicholls TJ, Matic S, Milenkovic D, Gustafsson CM, & Falkenberg M. MGME1 processes flaps into ligatable nicks in concert with DNA polymerase γ during mtDNA replication. *Nucleic acids research*. 2016;44(12):5861-5.
45. Alexeyev M, Shokolenko I, Wilson G, LeDoux S. The maintenance of mitochondrial DNA integrity critical analysis and update. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*. 2013;5(5):a012641.
46. Brown WM, Prager EM, Wang A, Wilson AC. Mitochondrial DNA sequences of primates: tempo and mode of evolution. *J Mol Evol*. 1982;18(4):225-39.
47. Chu CT. A pivotal role for PINK1 and autophagy in mitochondrial quality control: implications for Parkinson. *Hum Mol Genet*. 2010;19:28-37.
48. Payne BA, Wilson IJ, Yu-Wai-Man P, Coxhead J, Deehan D, Horvath R, et al. Universal heteroplasmy of human mitochondrial DNA. *Hum Mol Genet*. 2012;22(2):384-90.
49. Li M, Schonberg A, Schaefer M, Schroeder R, Nasidze I, Stoneking M. Detecting heteroplasmy from high-throughput sequencing of complete human mitochondrial DNA genomes. *Am J Hum Genet*. 2010;87(2):237-49.
50. Shoffner JM, Wallace DC. Oxidative Phosphorylation Diseases and Mitochondrial DNA Mutations: Diagnosis and Treatment. *Annu Rev Nutr*. 1994;14:535-68.
51. Wong L-JC. Diagnostic challenges of mitochondrial DNA disorders. *Mitochondrion*. 2007;7(1-2):45-52.
52. Trifunov S, Pyle A, Valentino ML, Liguori R, Yu-Wai-Man P, Burte F, et al. Clonal expansion of mtDNA deletions: different disease models assessed by digital droplet PCR in single muscle cells. *Sci Rep*. 2018;8(1):11682.
53. Cree LM, Samuels DC, de Sousa Lopes SC, Rajasimha HK, Wonnapijit P, Mann JR, et al. A reduction of mitochondrial DNA molecules during embryogenesis explains the rapid segregation of genotypes. *Nat Genet*. 2008;40(2):249-54.
54. Cao L, Shitara H, Horii T, Nagao Y, Imai H, Abe K, et al. The mitochondrial bottleneck occurs without reduction of mtDNA content in female mouse germ cells. *Nat Genet*. 2007;39(3):386-90.
55. Khan NA, Govindaraj P, Meena AK, Thangaraj K. Mitochondrial disorders: challenges in diagnosis & treatment. *Indian J Med Res*. 2015;141(1):13-26.

56. Haas RH, Zolkipli Z. Mitochondrial disorders affecting the nervous system. *Semin Neurol.* 2014;34(3):321-40.
57. Nascimento A, Orteiz C, Jou C, O'Callaghan M, Ramos F, Garcia-Cazorla A. Neuromuscular Manifestations in Mitochondrial Diseases in Children. *Semin Pediatr Neurol.* 2016;23(4):290-305.
58. Khan NA, Govindaraj P, Meena AK, Thangaraj K. Mitochondrial disorders: challenges in diagnosis & treatment. *Indian J Med Res.* 2015;141(1):13-26.
59. Finsterer J, Kothari S. Cardiac manifestations of primary mitochondrial disorders. *Int J Cardiol.* 2014;177(3):754-63.
60. Fraser JA, Biousse V, Newman NJ. The neuro-ophthalmology of mitochondrial disease. *Surv Ophthalmol.* 2010;55(4):299-334.
61. Rahman S. Gastrointestinal and hepatic manifestations of mitochondrial disorders. *J Inherit Metab Dis.* 2013;36(4):659-73.
62. Maechler P. Mitochondrial function and insulin secretion. *Mol Cell Endocrinol.* 2013;379(1-2):12-8.
63. O'Toole JF. Renal manifestations of genetic mitochondrial disease. *Int J Nephrol Renovasc Dis.* 2014;7:57-67.
64. Finsterer J, Frank M. Haematological abnormalities in mitochondrial disorders. *Singapore Med J.* 2015;56(7):412-9.
65. Gold M, Rapin I. Non-Mendelian mitochondrial inheritance as a cause of progressive genetic sensorineural hearing loss. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 1994;30(2):91-104.
66. Bodemer C, Rötig A, Rustin P, Cormier V, Niaudet P, Saudubray J-M, et al. Hair and skin disorders as signs of mitochondrial disease. *Pediatrics.* 1999;103(2):428-33.
67. Giles RE, Blanc H, Cann HM, Wallace DC. Maternal inheritance of human mitochondrial DNA. *Proceedings of the National academy of Sciences.* 1980;77(11):6715-6719.
68. Stewart JB, Chinnery PF. The dynamics of mitochondrial DNA heteroplasmy: implications for human health and disease. *Nat Rev Genet.* 2015;16(9):530-42.
69. Man PYW, Turnbull D, Chinnery P. Leber hereditary optic neuropathy. *J Med Genet.* 2002;39(3):162-9.
70. Matthews L, Enzinger C, Fazekas F, Rovira A, Ciccarelli O, Dotti MT, et al. MRI in Leber's hereditary optic neuropathy: the relationship to multiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2015;86(5):537-42.

71. Marotta R, Chin J, Chiotis M, Shuey N, Collins SJ. Long-term screening for primary mitochondrial DNA variants associated with Leber Hereditary Optic Neuropathy: incidence, penetrance and clinical features. *Mitochondrion*. 2020.
72. Sofou K, De Coo IF, Isohanni P, Ostergaard E, Naess K, De Meirleir L, et al. A multicenter study on Leigh syndrome: disease course and predictors of survival. *Orphanet J Rare Dis*. 2014;9(1):52.
73. Rahman S, Blok RB, Dahl HH, Danks DM, Kirby DM, Chow CW, et al. Leigh syndrome: clinical features and biochemical and DNA abnormalities. *Ann Neurol*. 1996;39(3):343-51.
74. Lake NJ, Compton AG, Rahman S, Thorburn DR. Leigh syndrome: one disorder, more than 75 monogenic causes. *Ann. Neurol*. 2015;79:190-203.
75. Claeys KG, Abicht A, Häusler M, Kleinle S, Wiesmann M, Schulz JB, et al. Novel genetic and neuropathological insights in neurogenic muscle weakness, ataxia, and retinitis pigmentosa (NARP). *Muscle Nerve*. 2016;54(2):328-33.
76. Lorenzoni PJ, Scola RH, Kay CS, Arndt RC, Silvado CE, Werneck LC. MERRF: Clinical features, muscle biopsy and molecular genetics in Brazilian patients. *Mitochondrion*. 2011;11(3):528-32.
77. Berkovic S, Carpenter S, Evans A, Karpatis G, Shoubridge E, Andermann F, et al. Myoclonus epilepsy and ragged-red fibres (MERRF) 1. A clinical, pathological, biochemical, magnetic resonance spectrographic and positron emission tomographic study. *Brain*. 1989;112(5):1231-60.
78. Shoffner JM, Lott MT, Lezza AMS, Seibel P, Ballinger SW, Wallace DC. Myoclonic epilepsy and ragged-red fiber disease (MERRF) is associated with a mitochondrial DNA tRNA-lys mutation. *Cell*. 1990;61:931-937.
79. Sproule DM, Kaufmann P. Mitochondrial encephalopathy, lactic acidosis, and stroke like episodes. *Ann N Y Acad Sci*. 2008;1142(1):133-58.
80. Malfatti E, Laforêt P, Jardel C, Stojkovic T, Behin A, Eymard B, Meune C. High risk of severe cardiac adverse events in patients with mitochondrial m. 3243A> G mutation. *Neurology*. 2013;80(1):100-105.
81. Kaufmann P, Shungu DC, Sano M, Jhung S, Engelstad K, Mitsis E, et al. Cerebral lactic acidosis correlates with neurological impairment in MELAS. *Neurology*. 2004;62(8):1297-302.
82. Yoon KL, Aprille JR, Ernst SG. Mitochondrial tRNA-thr mutation in fatal infantile respiratory enzyme deficiency. *Biochem. Biophys. Res. Commun*. 1991;176:1112-1115.

83. Mancuso M, Orsucci D, Angelini C, Bertini E, Carelli V, Comi GP, Mongini T. Redefining phenotypes associated with mitochondrial DNA single deletion. *Journal of neurology*. 2015;262(5):1301-1309.
84. Filosto M, Mancuso M, Nishigaki Y, Pancrudo J, Harati Y, Gooch C, Hirano M. Clinical and genetic heterogeneity in progressive external ophthalmoplegia due to mutations in polymerase γ . *Archives of neurology*. 2003;60(9):1279-1281.
85. Yu M, Yu L, Wang Z-X. Diagnosis and Management of Kearns-Sayre Syndrome Rely on Comprehensive Clinical Evaluation. *Chin Med J*. 2016;129(20):2519-2520.
86. Farruggia P, Di Marco F, Dufour C. Pearson syndrome. *Expert Rev Hematol*. 2018;11(3):239-46.
87. Rötig A, Bourgeron T, Chretien D, Rustin P, Munnich A. Spectrum of mitochondrial DNA rearrangements in the Pearson marrow-pancreas syndrome. *Hum Mol Genet*. 1995;4(8):1327-30.
88. Topaloglu R, Lebre AS, Demirkaya E, Kuskonmaz B, Coskun T, Orhan D, et al. Two new cases with Pearson syndrome and review of Hacettepe experience. *Turk J Pediatr*. 2008;50(6):572-6.
89. Broomfield A, Sweeney MG, Woodward CE, Fratter C, Morris AM, Leonard J, et al. Paediatric single mitochondrial DNA deletion disorders: an overlapping spectrum of disease. *J Inherit Metab Dis*. 2015;38(3):445-57.
90. Suomalainen A, Isohanni P. Mitochondrial DNA depletion syndromes many genes, common mechanisms. *Neuromuscul Disord*. 2010;20(7):429-37.
91. Spinazzola A. Mitochondrial DNA mutations and depletion in pediatric medicine. *Semin Fetal Neonatal Med*. 2011;16(4):190-6.
92. Pons R, Andreetta F, Wang CH, Vu TH, Bonilla E, DiMauro S, et al. Mitochondrial myopathy simulating spinal muscular atrophy. *Pediatr Neurol*. 1996;15(2):153-8.
93. Ostergaard E, Schwartz M, Batbayli M, Christensen E, Hjalmarson O, Kollberg G, et al. A novel missense mutation in SUCLG1 associated with mitochondrial DNA depletion, encephalomyopathic form, with methylmalonic aciduria. *Eur J Pediatr*. 2010;169(2):201-5.
94. Elpeleg O, Miller C, HersHKovitz E, Bitner-Glindzicz M, Bondi-Rubinstein G, Rahman S, et al. Deficiency of the ADP-forming succinyl-CoA synthase activity is associated with encephalomyopathy and mitochondrial DNA depletion. *Am J Hum Genet*. 2005;76(6):1081-6.

95. Bourdon A, Minai L, Serre V, Jais J-P, Sarzi E, Aubert S, et al. Mutation of RRM2B, encoding p53-controlled ribonucleotide reductase (p53R2), causes severe mitochondrial DNA depletion. *Nat Genet.* 2007;39(6):776-80.
96. Mandel H, Szargel R, Labay V, Elpeleg O, Saada A, Shalata A, et al. The deoxyguanosine kinase gene is mutated in individuals with depleted hepatocerebral mitochondrial DNA. *Nat Genet.* 2001;29(3):337-41.
97. Labarthe F, Dobbelaere D, Devisme L, De Muret A, Jardel C, Taanman J-W, et al. Clinical, biochemical and morphological features of hepatocerebral syndrome with mitochondrial DNA depletion due to deoxyguanosine kinase deficiency. *J Hepatol.* 2005;43(2):333-41.
98. El-Hattab AW, Li FY, Schmitt E, Zhang S, Craigen WJ, Wong LJ. MPV17-associated hepatocerebral mitochondrial DNA depletion syndrome: new patients and novel mutations. *Mol Genet Metab.* 2010;99(3):300-8.
99. Saneto RP, Naviaux RK. Polymerase gamma disease through the ages. *Dev Disabil Res Rev.* 2010;16(2):163-74.
100. Hirano M, Silvestri G, Blake DM, Lombes A, Minetti C, Bonilla E, et al. Mitochondrial neurogastrointestinal encephalomyopathy (MNGIE): clinical, biochemical, and genetic features of an autosomal recessive mitochondrial disorder. *Neurology.* 1994;44(4):721-7.
101. Bourgeron T, Rustin P, Chretien D, Birch-Machin M, Bourgeois M, Viegas-Péquignot E, Rötig A. Mutation of a nuclear succinate dehydrogenase gene results in mitochondrial respiratory chain deficiency. *Nature genetics.* 1995;11(2):144-149.
102. Nouws J, Nijtmans L, Houten SM, van den Brand M, Huynen M, Venselaar H, Willams P. Acyl-CoA dehydrogenase 9 is required for the biogenesis of oxidative phosphorylation complex I. *Cell metabolism.* 2010;12(3):283-294.
103. El-Hattab AW, Adesina AM, Jones J, et al. MELAS syndrome: clinical manifestations, pathogenesis, and treatment options. *Mol Genet Lab.* 2015;38:427-35.
104. Wortmann SB, Duran M, Anikser Y, et al. Inborn errors of metabolism with 3-methylglutaconic aciduria as discriminative feature: proper classification and nomenclature. *J Inherit Met Dis.* 2013;36:923-8.
105. Parikh S, Goldstein A, Koenig MK, et al. Diagnosis and management of mitochondrial disease: a consensus statement from the Mitochondrial Medicine Society. *Genet Med.* 2015;17(9):689-701.
106. Tiranti V, Briem E, Lamantea E, et al. ETHE1 mutations are specific to ethylmalonic encephalopathy. *J Med Genet.* 2006;43:340-6.

107. Peters H, Ferdinandusse S, Ruiter JP, et al. Metabolite studies in HIBCH and ECHS1 defects: implications for screening. *Mol Genet Metab.* 2015;115:168-73.
108. Lehtonen JM, Forsström S, Bottani E, et al. FGF21 is a biomarker for mitochondrial translation and mtDNA maintenance disorders. *Neurology.* 2016;87:2290-9.
109. Yatsuga S, Fujita Y, Ishii A, et al. Growth differentiation factor 15 as a useful biomarker for mitochondrial disorders. *Ann Neurol.* 2015;78:814-23.
110. Ozawa M, Nonaka I, Goto Y-i. Single muscle fiber analysis in patients with 3243 mutation in mitochondrial DNA: comparison with the phenotype and the proportion of mutant genome. *J Neurol Sci.* 1998;159(2):170-5.
111. Bourgeois JM, Tarnopolsky MA. Pathology of skeletal muscle in mitochondrial disorders. *Mitochondrion.* 2004;4(5-6):441-52.
112. Jha P, Wang X, Auwerx J. Analysis of mitochondrial respiratory chain supercomplexes using blue native polyacrylamide gel electrophoresis (BN PAGE). *Curr Protoc Mouse Biol.* 2016;6(1):1-14.
113. Honzik T, Wenchich L, Bohm M, Hansikova H, Pejznochova M, Zapadlo M, et al. Activities of respiratory chain complexes and pyruvate dehydrogenase in isolated muscle mitochondria in premature neonates. *Early Hum Dev.* 2008;84(4):269-76.
114. Davison JE, Rahman S. Recognition, investigation and management of mitochondrial disease. *Arch Dis Child.* 2017;102(11):1082-1090.
115. Shendure J, Ji H. Next-generation DNA sequencing. *Nature biotechnology.* 2008;26(10):1135-1145.
116. Rahman J, Noronha A, Thiele I, et al. Leigh map: a novel computational diagnostic resource for mitochondrial disease. *Ann Neurol.* 2017;81:9-16.
117. Amato P, Tachibana M, Sparman M, Mitalipov S. Three-parent in vitro fertilization: gene replacement for the prevention of inherited mitochondrial diseases. *Fertil Steril.* 2014;101(1):31-5.
118. Craven L, Tuppen HA, Greggains GD, Harbottle SJ, Murphy JL, Cree LM, et al. Pronuclear transfer in human embryos to prevent transmission of mitochondrial DNA disease. *Nature.* 2010;465(7294):82-5.
119. Walker UA, Collins S, Byrne E. Respiratory chain encephalomyopathies: a diagnostic classification. *Eur Neurol.* 1996;36(5):260-7.
120. Wolf NI, Smeitink JA. Mitochondrial disorders A proposal for consensus diagnostic criteria in infants and children. *Neurology.* 2002;59(9):1402-5.

121. Montgomery MK, Turner N. Mitochondrial dysfunction and insulin resistance: an update. *Endocr Connect*. 2015;4(1):R1-R15.
122. Finsterer J, Mahjoub SZ. Epilepsy in mitochondrial disorders. *Seizure*. 2012;21(5):316-21.
123. Baik R, Chae JH, Lee YM, Kang HC, Lee JS, Kim HD. Electrocardiography as an early cardiac screening test in children with mitochondrial disease. *Korean J Pediatr*. 2010;53(5):644-7.
124. Parikh S, Goldstein A, Karaa A, Koenig MK, Anselm I, Brunel-Guitton C, et al. Patient care standards for primary mitochondrial disease: a consensus statement from the Mitochondrial Medicine Society. *Genet Med*. 2017;19(12).
125. Pfeiffer G, Majamaa K, Turnbull DM, et al. Treatment for mitochondrial disorders. *Cochrane Database Syst Rev*. 2012;4:CD004426.
126. Kanabus M, Heales SJ, Rahman S. Development of pharmacological strategies for mitochondrial disorders. *Br J Pharmacol*. 2014;171:1798-817.
127. Gempel K, Topaloglu H, Talim B, Schneiderat P, Schoser BG, Hans VH, et al. The myopathic form of coenzyme Q10 deficiency is caused by mutations in the electron transferring flavoprotein dehydrogenase (ETFDH) gene. *Brain*. 2007;130(8):2037-44.
128. Koenig MK, Emrick L, Karaa A, et al. Recommendations for the management of stroke like episodes in patients with mitochondrial encephalomyopathy, lactic acidosis and stroke like episodes. *JAMA Neurol*. 2016;73:591-4.
129. Parikh S, Goldstein A, Koenig MK, Scaglia F, Enns GM, Saneto R, et al. Practice patterns of mitochondrial disease physicians in North America. Part 2: treatment, care and management. *Mitochondrion*. 2013;13(6):681-7.
130. Kerr DS. Review of clinical trials for mitochondrial disorders: 1997–2012. *Neurotherapeutics*. 2013;10(2):307-19.
131. Johnson SC, Yanos ME, Kayser E-B, Quintana A, Sangesland M, Castanza A, et al. mTOR inhibition alleviates mitochondrial disease in a mouse model of Leigh syndrome. *Science*. 2013;342(6165):1524-8.
132. Van De Weijer T, Phielix E, Bilet L, Williams EG, Ropelle ER, Bierwagen A, et al. Evidence for a direct effect of the NAD⁺ precursor acipimox on muscle mitochondrial function in humans. *Diabetes*. 2015;64(4):1193-201.

133. Garone C, Garcia Diaz B, Emmanuele V, Lopez LC, Tadesse S, Akman HO, et al. Deoxypyrimidine monophosphate bypass therapy for thymidine kinase 2 deficiency. *EMBO Mol Med*. 2014;6(8):1016-27.
134. Boschetti E, D'Alessandro R, Bianco F, Carelli V, Cenacchi G, Pinna AD, et al. Liver as a source for thymidine phosphorylase replacement in mitochondrial neurogastrointestinal encephalomyopathy. *PLoS One*. 2014;9(5):e96692.
135. Filograna R, Koolmeister C, Upadhyay M, et al. Modulation of mtDNA copy number ameliorates the pathological consequences of a heteroplasmic mtDNA mutation in the mouse. *Sci Adv*. 2019;5(4):eaav9824. Published 2019 Apr 3.
136. Vignal C, Uretsky S, Fitoussi S, et al. Safety of rAAV2/2-ND4 Gene Therapy for Leber Hereditary Optic Neuropathy. *Ophthalmology*. 2018;125(6):945-947.
137. Skladal D, Sudmeier C, Konstantopoulou V, Stockler-Ipsiroglu S, Plecko, Startinig B, Bernert G, et al. The clinical spectrum of mitochondrial disease in 75 pediatric patients. *Clin Pediatr (Phila)*. 2003;42(8):703-10.
138. Scaglia F, Towbin JA, Craigen WJ, Belmont JW, Smith EO, Neish SR, et al. Clinical spectrum, morbidity and mortality in 113 pediatric patients with mitochondrial disease. *Pediatrics*. 2004;114(4):925-31.
139. Debray FG, Lambert M, Chevalier I, Robitaille Y, Decarie JC, Shoubbridge EA, et al. Long-term outcome and clinical spectrum of 73 pediatric patients with mitochondrial diseases. *Pediatrics*. 2007;119(4):722-33.
140. Yeke B, Talim B. Role of Muscle Biopsy in the Diagnosis of Mitochondrial Myopathy, Hacettepe University Faculty of Medicine, Thesis in Pediatrics. Ankara, 2018.
141. Diogo L, Grazina M, Garcia P, et al. Pediatric Mitochondrial Respiratory Chain Disorders in Centro Region of Portugal, *Ped Neurol*. 2009;(40)5:351-356.
142. Eom S, Lee HN, Lee S, Kang HC, Lee JS, Kim HD, et al. Cause of Death in Children With Mitochondrial Diseases. *Pediatr Neurol*. 2017;66:82-8.
143. Bohm M, Pronicka E, Karczmarewicz E, Pronicki M, Piekutowska-Abramczuk D, Sykut-Cegielska J, et al. Retrospective, multicentric study of 180 children with cytochrome C oxidase deficiency. *Pediatr Res*. 2006;59(1):21-6.
144. Gronlund MA, Honarvar AK, Andersson S, Moslemi AR, Oldfors A, Holme E, et al. Ophthalmological findings in children and young adults with genetically verified mitochondrial disease. *Br J Ophthalmol*. 2010;94(1):121-7.

145. Chennupati SK, Levi J, Loftus P, Jornlin C, Morlet T, O'Reilly RC. Hearing loss in children with mitochondrial disorders. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 2011;75(12):1519-24.
146. Chow J, Rahman J, Achermann JC, Dattani MT, Rahman S. Mitochondrial disease and endocrine dysfunction. *Nat Rev Endocrinol*. 2017;13(2):92-104.
147. Emma F, Montini G, Salviati L, Dionisi-Vici C. Renal mitochondrial cytopathies. *Int J Nephrol*. 2011;2011:609213.
148. Tesarova M, Vondracka A, Stufkova H, et al. Sideroblastic anemia associated with multisystem mitochondrial disorders. *Pediatr Blood Cancer*. 2019;66(4):e27591.
149. Koenig MK. Presentation and diagnosis of mitochondrial disorders in children. *Pediatr Neurol*. 2008;38(5):305-13.
150. Munnich A, Rotig A, Chretien D, Cormier V, Bourgeron T, Bonnefont JP, et al. Clinical presentation of mitochondrial disorders in childhood. *J Inher Metab Dis*. 1996;19(4):521-7.
151. Chi CS, Lee HF, Tsai CR, Chen CC, Tung JN. Cranial magnetic resonance imaging findings in children with nonsyndromic mitochondrial disease. *Pediatr Neurol*. 2011;44(3):171-176.
152. Valanne L, L Ketonen, Majander A, et al. Neuroradiologic findings in children with mitochondrial disorders. *Am Jour Neuro*. 1998(19)2;369-377.
153. Kingsley PB, Shah TC, Woldenberg R. Identification of diffuse and focal brain lesions by clinical magnetic resonance spectroscopy. *NMR in Biomed*. 2006;19(4):435-62.
154. Rollins S, Prayson RA, McMahon JT, Cohen BH. Diagnostic yield of muscle biopsy in patients with clinical evidence of mitochondrial cytopathy. *Am J Clin Pathol*. 2001;116(3):326-30.
155. von Kleist-Retzow JC, Cormier-Daire V, de Lonlay P, et al. A high rate (20%-30%) of parental consanguinity in cytochrome-oxidase deficiency. *Am J Hum Genet*. 1998;63(2):428-435.
156. Loeffen JL, Smeitink JA, Trijbels JM, Janssen AJ, Triepels RH, Sengers RC, et al. Isolated complex I deficiency in children: clinical, biochemical and genetic aspects. *Hum Mutat*. 2000;15(2):123-34.
157. Kirby DM, Crawford M, MA Cleary, et al. Respiratory chain complex I deficiency. *Neurol*. 1999;52(6): 1255.
158. Alahmad A, Nasca A, Heidler J, et al. Bi-allelic pathogenic variants in *NDUFC2* cause early-onset Leigh syndrome and stalled biogenesis of complex I. *EMBO Mol Med*. 2020;12(11):e12619.

159. Piekutowska-Abramczuk D, Assouline Z, Matakovic L, et al. Mitochondrial Complex I Deficiency in Individuals with Leigh-like encephalomyopathy. *Am J Hum Genet.* 2018;102(3):460-467.
160. F, Diaz. Cytochrome c oxidase deficiency: patients and animal models. *Biochim Biophys Acta.* 2010;1802(1):100-10.
161. Mayr JA, Haack TB, Freisinger P, Karall D, Makowski C, Koch J, et al. Spectrum of combined respiratory chain defects. *J Inherit Metab Dis.* 2015;38(4):629-40.
162. mcFarland R, Kirby DM, Fowler KJ, et al. De novo mutations in the mitochondrial ND3 gene as a cause of infantile mitochondrial encephalopathy and complex I deficiency. *Ann Neurol.* 2004;55(1):58-64.
163. Santorelli FM, Shanske S, Jain KD, Tick D, Schon EA, DiMauro, et al. T>C mutation at nt 8993 of mitochondrial DNA in a child with Leigh syndrome. *Neurology.* 1994;44(5):972-974.
164. Salvati L, Freehauf C, Sacconi S, DiMauro S, Thoma J, Tsai AC. Novel SURF1 mutation in a child with subacute encephalopathy and without the radiological features of Leigh Syndrome. *AJ Med Genet A.* 2004;128A(2):195-198.
165. Tiranti V, Hoertnagel K, Carrozzo R, et al. Mutations of SURF 1 in Leigh Disease Associated with Cytochrome Oxidase. *Am Journ Hum Genet.* 1998;63(6):1609-1621.
166. Alston CL, Heidler J, Dibley MG, et al. Bi-allelic Mutations in NDUFA6 Establish Its Role in Early-Onset Isolated Mitochondrial Complex I deficiency. *Am J Hum Genet.* 2018;103(4):592-601.
167. Lissens W, De Meirleir L, Seneca S, et al. Mutations in the X-linked pyruvate dehydrogenase (E1) alpha subunit gene (PDHA1) in patients with a pyruvate dehydrogenase complex deficiency. *Hum Mutat.* 2000;15(3):209-219.
168. Bénit P, Chretien D, Kadhom N, et al. Large-scale deletion and point mutations of the nuclear NDUFV1 and NDUF51 genes in mitochondrial complex I deficiency. *Am J Hum Genet.* 2001;68(6):1344-1352.
169. Varghese F, Atcheson E, Bridges HR, Hirst J. Characterization of clinically identified mutations in NDUFV1, the flavin-binding subunit of respiratory complex I, using a yeast model system. *Hum Mol Genet.* 2015;24(22):6350-6360.
170. Chomyn A, Martinuzzi A, Yoneda M, et al. MELAS mutation in mtDNA binding site for transcription termination factor causes defects in protein synthesis and in respiration but no change in levels of upstream and downstream mature transcripts. *Proc Natl Acad.* 1992;89(10):4221-4225.

171. Kirby DM, McFarland R, Ohtake A, et al. Mutations of the mitochondrial ND1 gene as a cause of MELAS. *J Med Genet.* 2004;41(10):784-789.
172. Ma YY, Li XY, Li ZQ, et al. Clinical, biochemical, and genetic analysis of the mitochondrial respiratory chain complex I deficiency. *Medicine (Baltimore).* 2018;97(32):e11606.
173. Chung WK, Martin K, Jalas C, et al. Mutations in COQ4, an essential component of coenzyme Q biosynthesis, cause lethal neonatal mitochondrial encephalomyopathy. *J Med Genet.* 2015;52(9):627-635.
174. Johns DR, Heher KL, Miller NR, Smith KH. Leber's hereditary optic neuropathy. Clinical manifestations of the 14484 mutation. *Arch Ophthalmol.* 1993;111(4):495-498.
175. Goldstein A, Falk MJ. Mitochondrial DNA Deletion Syndromes. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA ve ark. *GeneReviews®*. Seattle. (WA): University of Washington, Seattle; December 17, 2003.
176. Hirano M, Silvestri G, Blake DM, et al. Mitochondrial neurogastrointestinal encephalomyopathy (MNGIE): clinical, biochemical, and genetic features of an autosomal recessive mitochondrial disorder. *Neurology.* 1994;44(4):721-727.
177. Gerards M, Kamps R, van Oevelen J, et al. Exome sequencing reveals a novel Moroccan founder mutation in SLC19A3 as a new cause of early-childhood fatal Leigh syndrome. *Brain.* 2013;136(Pt 3):882-890.
178. Ferrari G, Lamantea E, Donati A, et al. Infantile hepatocerebral syndromes associated with mutations in the mitochondrial DNA polymerase-gammaA. *Brain.* 2005;128(Pt 4):723-731.
179. Mancuso M, Filosto M, Bonilla E, et al. Mitochondrial myopathy of childhood associated with mitochondrial DNA depletion and a homozygous mutation (T77M) in the TK2 gene. *Arch Neurol.* 2003;60(7):1007-1009.
180. Talim B, Pyle A, Griffin H, et al. Multisystem fatal infantile caused by a novel homozygous EARS2 mutation. *Brain.* 2013;(2)136:228.
181. Steenweg EM, Ghezzi D, Haack T, et al. Leukoencephalopathy with talamus and brainstem involvement and high lactate 'LTBL' caused by EARS2 mutations. *Brain.* 2012;(5)135:1387-1394.
182. Gai X, Ghezzi D, Johnson MA, et al. Mutations in FBXL4, encoding a mitochondrial protein, cause early-onset mitochondrial encephalomyopathy. *Am J Hum Genet.* 2013;93(3):482-495.

183. Guarani V, Jardel C, Chrétien D, et al. QIL1 mutation causes MICOS disassembly and early onset fatal mitochondrial encephalopathy with liver disease. *Elife*. 2016;5:e17163. Published 2016 Sep 13.
184. Reijnders MR, Zachariadis V, Latour B, et al. De Novo Loss-of-Function Mutations in USP9X Cause a Female-Specific Recognizable Syndrome with Developmental Delay and Congenital Malformations. *Am J Hum Genet*. 2016;98(2):373-381.
185. Cízková A, Stránecký V, Mayr JA, et al. TMEM70 mutations cause isolated ATP synthase deficiency and neonatal mitochondrial encephalocardiomyopathy. *Nat Genet*. 2008;40(11):1288-1290.
186. Abe M, Higuchi I, Morisaki H, Morisaki T, Osame M. Myoadenylate deaminase deficiency with progressive muscle weakness and atrophy caused by new missense mutations in AMPD1 gene: case report in a Japanese patient. *Neuromuscul Disord*. 2000;10(7):472-477.
187. Castro-Gago M, Gómez-Lado C, Pérez-Gay L, et al. Primary adenosine monophosphate (AMP) deaminase deficiency in a hypotonic infant. *J Child Neurol*. 2011;26(6):734-737.

8. EKLER

Ek-1: Kaba Motor Fonksiyon Sınıflandırma Sistemi (KMFSS)

- SEVİYE I: Kısıtlama olmaksızın yürür.
- SEVİYE II: Kısıtlamalarla yürür.
- SEVİYE III: Elle tutulan hareketlilik araçlarını kullanarak yürür.
- SEVİYE IV: Kendi kendine hareket sınırlanmıştır. Motorlu hareketlilik aracını kullanabilir.
- SEVİYE V: Elle itilen bir tekerlekli sandalyede taşınır.

Ek-2: Mental Durum Değerlendirmesi:

Hafif:

- IQ düzeyi 50/55-70 aralığındadır.
- Bir miktar konuşma geriliği olabilir.
- Çok karmaşık olmayan günlük işleri yerine getirir.
- Motor gelişmeleri genellikle normaldir. Günlük fiziksel ihtiyaçlarını yardım olmadan yerine getirebilirler.
- Zeka sorunu okul öğrenimi sırasında belirginleşmeye başlar. 10'lu yaşlardan sonra eğitimin devamında ilkokul 6. Sınıftan itibaren sorun çıkmaya başlar. Soyut düşünce yetisinde yetersizlik ile yaşlılarından kolaylıkla ayrılırlar.
- Erişkin yaşlarında kendi başlarına yaşamaya yetecek toplumsal ve mesleki becerilere sahip olurlar ancak alışılmışın dışında toplumsal ve ekonomik sorunla karşılaştıklarında denetim , destek ihtiyacı duyarlar.

Orta:

- IQ düzeyi 35/40- 50/55 aralığındadır.
- Hafif zeka geriliğinden daha erken tanı konur.
- Anlama, dil becerisi, kendine bakma ve motor becerilerinde gerilik vardır.
- Orta derecede zeka geriliğine sahip bireyler genellikle erken çocukluk döneminde konuşma becerisi kazanırlar.

- Mesleki eğitimden fayda görür ve belli bir denetimle kişisel günlük ihtiyaçlarını görebilirler.
- Özel eğitimle ancak ilkokul 2. Sınıf düzeyine kadar eğitim alabilirler.
- Bildikleri alanlarda tek başlarına bulunabilseler de , basit sosyal aktiviteleri gerçekleştirebilirler de bu hastalarda yaşamları boyunca denetim gereklidir.

Ağır:

- IQ düzeyi 20/25-30/35 aralığındadır.
- Dil gelişimi çok geç başlar ve çok sınırlıdır. Bazıları okul döneminde konuşma becerisini az da olsa geliştirip kendini ifade edebilir.
- Sadece okul öncesi eğitim düzeyinde sınırlı kalırlar.
- Hayatları boyunca denetim ve bakıma muhtaçlardır.

İleri derecede:

- IQ düzeyi 20/25'in altındadır.
- Basit talimatları güçlükle anlayabilirler yada anlayamazlar.
- Ağır motor gerilik ve sakatlık nedeniyle hareketsiz kalır yada ancak yardımla hareket ederler.
- Bunlarda beyin zedelenmesi fazla olup , nöbet geçirme , görme kaybı işitme kaybı gibi eşlik eden ağır bulgular olabilir.

EK-3 Etik Kurul Onayı

Tarih ve Sayı: 17/08/2020-118239



T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
İstanbul Tıp Fakültesi Dekanlığı



Sayı :29624016-050.99- 1034
Konu :Prof. Dr. Gülden Fatma GÖKÇAY
hk.

Sayın Prof. Dr. Gülden Fatma GÖKÇAY
Çocuk Beslenme ve Metabolizma

İlgi :Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalının 06/07/2020 gün ve 112172 sayılı yazısı

Sorumlu araştırmacılığını üstlendiğiniz ve Dr. Fulya ÖZDEMİRCİOĞLU' nun yürüteceği 2020/975 dosya numaralı "Mitokondriyal Hastalıklarda Retrospektif Değerlendirme ile Fenotip, Genotip İlişkisinin Belirlenmesi" başlıklı çalışma, kurulumuzun 17/07/2020 tarih ve 18 sayılı toplantısında görüşülerek etik yönden uygun bulunmuş olup, tutanaklar ekte sunulmuştur.

Bilgilerinizi rica ederim.

e-İmzalı
Prof. Dr. Ali Yağız ÜRESİN
Kurul Başkanı

Doğrulamak için:<http://194.27.128.66/envision.Sorgula/belgedogrulama.aspx?V=BENFRMNV>

Ayrıntılı bilgi için irtibat : Cihan KILIÇ Dahili : 31346

İstanbul Tıp Fakültesi Dekanlığı Çapa/Fatih/İSTANBUL
Tel : 0 212 414 21 38/414 20 00-31561 Faks : 0 212 414 21 38 / 635 11 93
e-posta : itf-dekanlik@istanbul.edu.tr Elektronik Ağ : <http://istanbultip.istanbul.edu.tr>



EK-4 ÖZGEÇMİŞ

Ad-Soyad : Fulya Özdemircioğlu

Doğum Tarihi : 27.06.1989

Doğum Yeri : Bursa

Ev Adresi : Göztepe Mah. Batışehir Cad. Batışehir Sitesi B blok Daire:139
Bağcılar / İstanbul

Telefon : (536) 350 50 28

E-posta adresi : oz_fulya@hotmail.com

Eğitim Bilgileri :

2016-(*Güncel*) **Tıpta Uzmanlık Öğrencisi**, İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Çocuk
Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı

2008 - 2014 Tıp Eğitimi, İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi

2003 – 2007 Lise, Bursa Milli Piyango Anadolu Lisesi