

DOI: 10.13376/j.cblls/2017098

文章编号: 1004-0374(2017)08-0732-08

线粒体脑病分子遗传学基础研究若干新进展

时雯雯^{1,2}, 薛凌^{1,2*}

(1 温州医科大学检验医学院生命科学学院, 温州 325035; 2 温州医科大学浙江省医学遗传学重点实验室, 温州 325035)

摘要: 线粒体脑病是一组由各种原因引起的以线粒体氧化磷酸化功能受损为特征的遗传代谢性疾病。根据突变基因的来源不同, 其遗传方式可分为母系遗传、常染色体或性染色体遗传。近年来, 随着技术的发展以及对这些疾病的生化和分子基础知识认识的提高, 神经学专家和医生对这些遗传病的早期诊断水平有了显著的提高。然而, 由于对疾病基因层面认识的不足, 大部分患者的致病基因仍无法明确, 这为线粒体脑病的治疗带来了巨大的挑战。现以 Alpers 病、SNE 病、Menke 病、LHON 病和 MELAS 病为例阐述线粒体脑病的最新研究进展。

关键词: 脑病; 线粒体异常; 线粒体 DNA; 呼吸链缺陷

中图分类号: Q343.13; R742 **文献标志码:** A

New advances of mitochondrial encephalopathy in basic research on molecular genetics

SHI Wen-Wen^{1,2}, XUE Ling^{1,2*}

(1 School of Laboratory Medicine and Life Science, Wenzhou Medical University, Wenzhou 325035, China;

2 Zhejiang Provincial Key Laboratory of Medical Genetics, Wenzhou Medical University, Wenzhou 325035, China)

Abstract: Mitochondrial encephalopathy caused by various reasons is characterized by impaired mitochondrial oxidative phosphorylation of inherited metabolic diseases. Depending on the source of the mutated genes, the genetic models can be divided into matrilineal inheritance, autosomal or sex chromosomes genetic. Recent improvements in technology and expansion of knowledge on the biochemical and molecular basis of these disorders allow astute child neurologists and pediatricians to improve the early diagnosis of these genetically determined defects. However, due to insufficient cognize of molecular genetic aspects, most disease genes of the patients are still undefined, which is a huge challenge for therapy on the etiologies of mitochondrial encephalopathy. In this article, we expounded the latest progress of mitochondria encephalopathy through Alpers disease, SNE, Menke disease, LHON and MELAS.

Key words: encephalopathy; mitochondrial disorders; mitochondrial DNA; respiratory chain deficiencies

三磷酸腺苷 (adenosine triphosphate, ATP) 是人类最通用的高能量化合物, 主要通过氧化磷酸化合成, 是细胞维持正常功能所必需的。ATP 的不足可以导致细胞功能紊乱, 最终导致死亡。线粒体呼吸链是氧化磷酸化的场所, 由 5 种大分子跨膜蛋白复合体 (线粒体呼吸链膜蛋白复合体 I、II、III、IV、V)、介于 I / II 与 III 之间的辅酶 Q 以及介于 III 与 IV 之间的细胞色素 C 共同组成。而在 ATP 合成过程中, 来自于三羧酸循环的烟酰胺腺嘌呤二核苷酸

(nicotinamide adenine dinucleotide hydrogen, NADH) 和还原型黄素腺嘌呤二核苷酸 (reduced flavin adenine

收稿日期: 2017-03-08; 修回日期: 2017-04-13

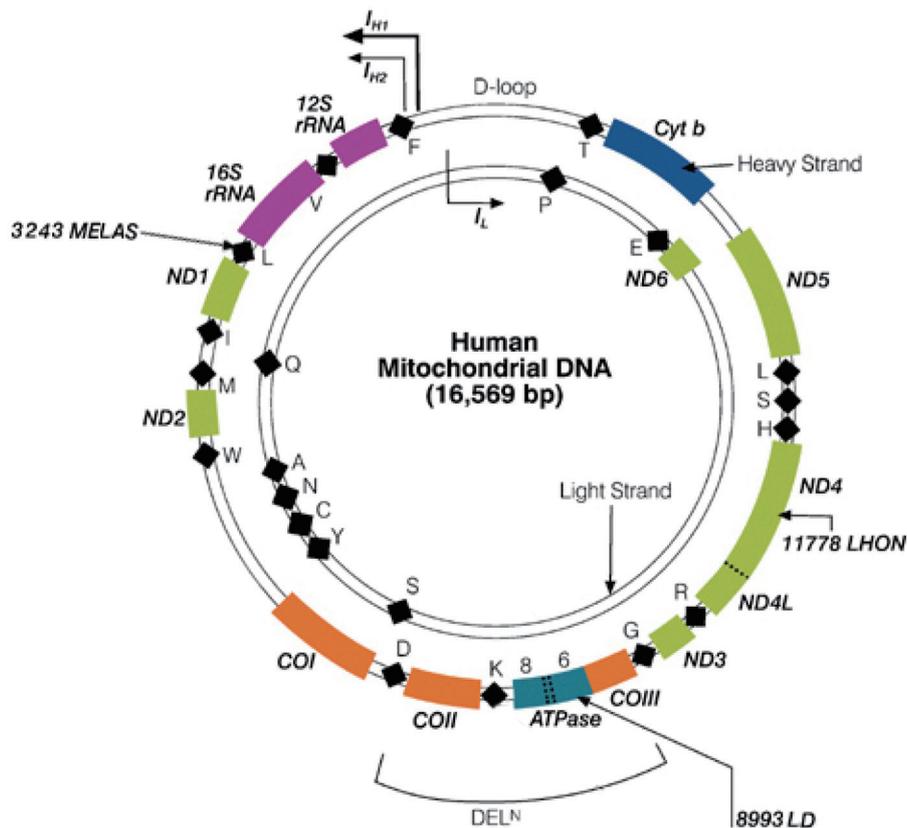
基金项目: 国家自然科学基金青年基金项目(3140-1070); 浙江省自然科学基金项目(LY17C060004); 浙江省卫生厅医药卫生科学研究基金项目(2015KYB-235); 温州市科技计划项目(Y20160005); 温州医科大学科研发展基金项目(QTJ13017)

*通信作者: E-mail: docxl2008@163.com

dinucleotide, FADH), 分别通过线粒体复合体 I (NADH 脱氢酶) 和线粒体复合体 II (琥珀酸脱氢酶), 将其电子通过辅酶 Q 传递给线粒体复合体 III (细胞色素 C 还原酶), 并最终通过还原细胞色素 C 传递给线粒体复合体 IV 还原氧生成水。电子传递过程中释放能量, 驱使复合体 I、III 和 IV 将线粒体基质内的质子跨膜输送到线粒体内外膜间隙, 产生的跨内膜质子梯度和电势能驱动复合体 V (ATP 合酶) 合成 ATP^[1]。人类线粒体 DNA (mitochondria deoxyribonucleic acid, mtDNA) 为双链闭合环状 DNA 分子 (图 1^[2]), 长度为 16 569 bp, 包含 37 个基因, 编码氧化磷酸化呼吸链复合体必需的 13 个多肽和线粒体蛋白质合成所需的 22 个转运 RNA (transfer ribonucleic acid, tRNA), 以及 12S、16S 这 2 个核糖体 RNA (rRNA)^[3]。mtDNA 编码的多肽与超过 70 种核编码的多肽在线粒体内膜上相互作用形成 5 个线粒体呼吸链复合物中的 4 个: 7 个 mtDNA 编码的多肽参与复合物 I 的合成, 1 个参与复合物 III 的合成, 3 个参与复合物 IV (细胞色素 C 氧化酶, COX)

的合成, 2 个 (ATP 酶 6 和 8) 参与复合物 V 中 F₀ 亚基的合成。由于线粒体是一种半自主性细胞器, 因此, 其生物合成和功能调控受核基因组和线粒体基因组两套遗传系统共同作用。核基因参与线粒体基因的复制、功能表达和损伤修复的同时, 还可以调控呼吸链功能以及线粒体相关细胞功能, 如参与细胞凋亡和肿瘤形成等。

因此, 影响 mtDNA 或核 DNA 的遗传缺陷都可以影响 ATP 合成并引起人类疾病。一般来说, 核基因突变引起的线粒体疾病病情较重, 并且发病较早, 其遗传方式遵循孟德尔遗传规律, 表现为常染色体或性染色体遗传。相反, 线粒体基因突变导致的线粒体疾病病情相对较轻, 并且往往到成年发病, 由于 mtDNA 仅仅来源于卵子, 由原发性 mtDNA 突变导致的线粒体疾病呈现典型的母系遗传特征, 也是线粒体疾病诊断的重要依据。足量的 ATP 对维持组织和器官的正常功能至关重要, 特别是在能量需求较高的部位, 比如神经元和肌肉纤维等。这就解释了为什么线粒体功能障碍通常会引起神经退化



人类线粒体基因组为双链环形分子, 大小约16.5 kb, 包括一条轻链(L链)和一条重链(H链), I_L、I_{H1}和I_{H2} 分别是L链和H链的转录起始点。该基因组共编码13种多肽、22种tRNA, 以及12S、16S这2种rRNA。图中标注了部分本文涉及的重要突变。

图1 人类线粒体基因组^[2]

和(或)肌肉萎缩,导致儿童和成年人的神经肌肉疾病。根据主要受累部位不同,通常将线粒体疾病分为线粒体脑病、线粒体肌病和线粒体脑肌病。本文将以分子遗传学为重点对几种线粒体脑病进行探讨。

1 Alpers病

1.1 临床定义

Alpers病是一种以弥漫性进行性脑灰质变性为主要特点的线粒体脑病,常表现为难治性癫痫。此外,还常常伴有不同程度的肝脏损害,可以仅仅表现为转氨酶升高,也可表现为肝衰竭^[4]。对于Alpers病导致的难治性癫痫不能使用丙戊酸钠治疗,因为容易诱发急性肝衰竭,最新研究表明环孢霉素A可能对丙戊酸钠诱导的急性肝衰竭治疗有效^[5]。Alpers病发病较早,虽然也有青少年发病的报道,但是大部分患者都在婴幼儿时期发病^[6-7],多在3岁以内死亡。神经病理表现为双侧大脑皮质不对称的弥漫性损害,伴星形胶质细胞增生、细胞空泡形成、神经元丢失和毛细血管增生。头颅磁共振成像常表现为严重的进展性脑皮层和皮质下萎缩,丘脑等其余脑灰质结构也常受累。

1.2 分子遗传学

Alpers病最常见的原因因为mtDNA聚合酶 γ 活性下降,而编码mtDNA聚合酶 γ (Pol- γ)的POLG基因位于常染色体,并多数呈现常染色体隐性遗传特点^[8]。

Alpers病的特点为肝脏和骨骼肌mtDNA的大量缺失,最多可降至正常的10%以下,其中肝脏mtDNA耗竭是Alpers综合征的分子生物学标志。POLG1基因位于染色体15q25上,由22个外显子组成,编码Pol- γ A。Pol- γ A是一条具有5'-3'聚合酶活性、3'-5'核酸外切酶活性和5'-脱氧核糖磷酸裂解酶活性的140 kDa多肽。在线粒体中,一个Pol- γ A伴有由染色体17q24.1上的POLG2基因编码的55 kDa附属亚基,称为Pol- γ B,其可以增强Pol- γ 与mtDNA之间的亲和力,并涉及复制引物的识别过程。这赋予了全酶持续合成的能力。Pol- γ A和两个亚基Pol- γ B在位于两者之间的“连接器”中发生相互作用,“连接器”位于N端和C端之间,N端具有线粒体靶向序列和Pol- γ A的核酸外切酶校对活性,C端具有Pol- γ A的聚合酶活性,从而形成了一个具有功能活性的异源三聚体复合体。Pol- γ 全酶通过和线粒体单链DNA结合蛋白

(mtSSB)、mtDNA解旋酶(Twinkle)、拓扑异构酶、连接酶等的相互作用,共同形成DNA复制酶,催化mtDNA复制^[9]。因此,一旦POLG基因发生突变将会导致Pol- γ 活性下降,从而使mtDNA复制受阻,当mtDNA数量下降到一定阈值时将会出现临床症状。

到目前为止,已经发现的POLG1基因致病突变约有250种(<http://tools.niehs.nih.gov/polg/>),可以导致多种不同的临床表现,除了Alpers-Huttenlocher综合征外,还包括少年型脊髓小脑共济失调癫痫综合征(SCAE)、感觉性共济失调-神经病-构音障碍-眼肌瘫痪(SANDO, OMIM 607459)和成人发病的常染色体隐性或显性进行性眼外肌麻痹(PEO, OMIM 157640和258450),以及一些不常见的临床表现,如全身性的肌肉病变、外周感觉神经病变、帕金森病、双相情感障碍、伴过早闭经的卵巢衰竭等。Lee等^[10]的研究表明,POLG1中的一些突变除了可以降低Pol- γ A的催化效率、催化常数、持续合成能力、保真度、核酸外切酶校对率外,还可以影响Pol- γ A和Pol- γ B之间的互相作用,但是光靠突变的基因无法准确预测疾病表型,必须结合参与mtDNA复制的相关酶之间的相互作用以及mtDNA的复制数目^[11]。

Alpers-Huttenlocher综合征主要与A467T和W748S这两个致病基因突变有关,其可以影响Pol- γ A“间隔域”中的氨基酸残基。这两种突变都为隐性突变,因此,患者的基因型可以为纯合子(如p.A467T/p.A467T和p.W748S/p.W748S),也可以表现为杂合子(如p.A467T/p.W748S)。研究表明,杂合子患者往往比纯合子患者发病早,而且病情更加严重,因为Pol- γ 中两个不同的突变可以产生一种协同作用,共同导致酶活性下降及mtDNA复制数减少^[12]。同样,基因型为p.A467T/p.W748S的患者与基因型为p.A467T/p.A467T或p.W748S/p.W748S的患者相比,往往存活时间更短,而且更容易发生肝衰竭^[13]。

2 亚急性坏死性脑脊髓病(SNE)

2.1 临床定义

SNE最早由Leigh于1951年发现,因此又叫雷氏病(Leigh disease, LD)或者雷氏综合征(Leigh syndrome, LS)^[14]。LD是小儿最常见的线粒体脑病,常在婴儿期发病,往往病情较重,早死率高^[15]。其头颅磁共振的特点为双侧对称性脑损伤,包括基底

神经节、脑干和小脑^[16]。这些坏死部位常伴有大面积的脱髓鞘改变、胶质细胞增生、细胞液化性坏死和毛细血管增生^[17]。临床神经症状与病变部位密切相关, 主要表现为精神运动迟滞、肌张力减退、共济失调、肌痉挛和运动障碍^[18]。外周神经系统也常受累, 最典型的是轴突脱髓鞘多发性神经病。

2.2 分子遗传学

任何线粒体呼吸链复合体的活性严重受损都可以导致 LD (OMIM 256000), 最常见的有以下 4 种: (1) 复合体 I 缺陷; (2) 复合体 IV 缺陷; (3) 多种线粒体呼吸链复合体缺陷; (4) 复合体 V 中 ATP 酶 6 缺陷。此外, LD 还和丙酮酸脱氢酶复合物 (PDHC)、琥珀酸脱氢酶复合体 A 亚基 (SDHA)、烯酰辅酶 A 水合酶 (ECHS1) 以及缬氨酸代谢途径中相关酶的缺陷有关^[18-20]。

2.3 复合体 I 缺陷

线粒体复合体 I 是所有线粒体呼吸链复合体中最大也最为复杂的一个, 由 45 个亚基组成, 其相对分子质量约为 1000 kDa。7 个亚基 (MTND1~6 和 MTND4L) 由线粒体基因组编码, 其余由核基因编码。复合体 I 缺陷是 LD 最常见的原因^[21]。不管是线粒体 DNA 编码的亚基突变 (如 MTND2、MTND3、MTND5、MTND6), 还是细胞核 DNA 编码的亚基突变 (NDUFS1、NDUFS2、NDUFS3、NDUFS4、NDUFS7、NDUFS8、NDUFA2、NDUFV1、NDUFV2), 均可导致 LD。此外, LD 还和复合物 I 装配因子的突变有关 (NDUFAF2、C8ORF38、C20ORF7、FOXRED1)。

2.4 复合体 IV 缺陷

线粒体呼吸链复合物 IV, 即细胞色素 C 氧化酶缺陷是导致 LD 最常见的原因之一, 通常表现为常染色体隐性遗传。其中位于常染色体 9p34 的 *SURF1* 基因缺陷是造成 COX 功能障碍的主要原因, 其编码的蛋白质 SURF1 参与 COX 复合物的形成, 但其具体机制仍然未知^[22]; 据统计, 有 1/3 的 LD 由 *SURF1* 基因突变引起^[23]。

2.5 多种线粒体呼吸链复合体缺陷

部分 LD 患者存在多种线粒体呼吸链复合体缺陷和线粒体基因表达缺陷, 通过对其进行基因检测, 发现线粒体延长因子 *EFG1* 基因的突变是早发性 LD 的发病机制之一^[24]。*C12orf65* 基因参与线粒体基因的翻译过程, 其不同位点的突变可以导致不同的临床表现, 典型的三联征为视神经萎缩、周围神经病和痉挛性截瘫。研究表明, *C12orf65* 基因中多

个位点的突变均可以导致 LD^[25-26]。

2.6 复合体 V 的缺陷 (MTATP6)

ATP 合酶 (复合物 V) 是位于线粒体内膜上的大蛋白复合体, 由 2 个功能性蛋白复合物 F_0 及 F_1 构成。其中, 只有两个 F_0 蛋白 (ATP6 和 8) 是由 mtDNA 编码的^[27]。

迄今已发现了多种与 LD 有关的 *MTATP6* 基因致病突变, 如 T9176C、T9185C、T9176G^[28]。m.T8993G 是最常见的突变类型 (图 1), 其异质性百分比不同可以导致不同的表型。当其突变比例不超过异质性的 95% 时, 患者常表现为 NARP 综合征 (神经源性肌无力、共济失调、色素性视网膜炎, OMIM 551500); 反之, 当超过 95% 时, 可以导致严重的早发性母系遗传雷氏综合征。此外, 线粒体 DNA 中同一个位置的核苷酸发生不同的突变也会产生不同的表型, 如 m.T8993C 可以产生和 m.T8993G 相似的临床表现, 但与后者相比, 其症状往往较轻^[29]。m.T9176G/C 也存在同样的情况, m.T9176C 与 m.T9176G 相比, 往往具有更加温和的临床表型^[30]。

3 Menke 病

3.1 临床定义

Menkes 病 (Menkes disease, MD) 亦称卷发综合征, 是一种罕见的 X 染色体隐性遗传病。由于 *ATP7A* 基因突变导致小肠上皮细胞铜转运机制障碍, 体内铜缺乏, 铜相关酶的功能缺陷引起多系统功能障碍, 由 Menkes 等^[31]于 1962 年首先报告。在日本, Menkes 病的发病率为 1:360 000; 在欧洲, Menkes 病的发病率为 1:300 000; 而在澳大利亚, Menkes 病的发病率相对较高 (1:100 000 到 1:50 000)^[32-33]。Menkes 病可以分为经典型、轻型和极轻型, 其临床表型与 *ATP7A* 基因突变类型联系密切。经典型往往出现在基因大片段缺失、铜转运 ATP 酶活性完全丧失的患者, 其典型的临床表现为神经系统损害、结缔组织异常和结节性脆发。轻型和极轻型一般为基因点突变, 所以病情相对较轻, 临床表现以结缔组织和骨骼改变为主。

3.2 分子遗传学

ATP7A 基因是目前已知的唯一与 Menkes 病相关的基因, 该基因位于 Xq13.3, 含 23 个外显子^[34]。*ATP7A* 是一种跨膜铜离子转运蛋白 (P 型铜转运 ATP 酶), 主要位于成熟面高尔基网状结构, 负责将铜离子转运至铜依赖性酶。*ATP7A* 的组成包括: 含有 6 个金属离子结合位点的 N- 末端、8 个跨膜转

运片段、1个ATP结合域、1个A-域和1个C-末端^[35]。迄今为止,已经报道了170种以上不同类型的ATP7A突变:其中大约有25%是大片段的缺失,缺失部分可以是单独一个外显子,也可以是整个基因,但是前2个外显子很少累及;其他突变可以归类为无义突变(16%)、错义突变(33%)、剪切位点突变(16%)和小片段缺失/插入/重复(33%)。大约有50%的点突变会导致无功能性的截短蛋白并且均匀分布于整个基因,即使是编码ATP7A铜结合域的尚未发现存在错义突变的外显子2~7区域。这表明,在铜结合区域里发生的突变更容易被忽视,其导致的Menkes病临床表型可能也更加轻微^[32]。在茎区或跨膜转运区域内的错义突变可能会导致其编码的蛋白质中单个氨基酸发生替换,形成只残留部分功能的变异蛋白质。相比之下,在重要催化域内的错义突变(A和P域)可导致灾难性的后果。

实际上,基因型和表型之间没有明显的相关性。通常表型轻微的患者,如枕角综合征,往往突变比例更高,其蛋白产物残留部分活性或者完全正常。尽管剪切位点突变通常会扰乱拼接过程,导致在表达时会跳过部分外显子,但是部分患者仍能产生一部分正常蛋白质^[36-38]。

4 Leber遗传性视神经病变(LHON)

4.1 临床定义

LHON是第一个被发现的线粒体疾病,也是最常见的遗传性视神经病变之一。在英国北部,由3个最常见致病基因导致的LHON的最低发病率为1:31 000^[39],而荷兰和芬兰的发病率分别是1:39 000和1:50 000^[40-41],其中80%以上为男性患者^[42]。LHON的发病与线粒体DNA点突变导致的ATP合成受阻有关。视网膜神经节细胞由于对ATP不足高度敏感,因此往往选择性地遭到严重破坏,导致以双侧中央视觉缺损为特征的视力下降^[43]。

4.2 分子遗传学

LHON是由线粒体DNA突变介导的遗传性疾病,具有典型的母系遗传特征,90%的患者与3个原发性mtDNA突变(G11778A、G3460A和T14484C)相关^[42]。其中又以G11778A最为常见(图1),占所有病例的70%。T14484C和G3460A分别占0~14%和0~13%^[44-45]。所有的突变均发生于编码呼吸链复合体相关亚基的基因中,尤其是ND1和ND6亚基^[46-47]。

LHON表现为不完全外显性遗传,而异质性被

认为是影响LHON外显率的主要原因。例如,同质性母亲的后代往往比外周血中突变mtDNA比率低于80%的母亲的后代患病几率更高^[48]。但是,80%~90%的LHON患者均携带同质性mtDNA突变,因此单纯的遗传异质性并不能完全解释其不完全外显性^[39,49]。在进化的过程中,mtDNA的多态性常常以单倍体的形式遗传。在一个单倍体中其他多态性的出现对氧化磷酸化通路能产生有害的影响,包括减少蛋白质合成和ATP产生,这可以加重LHON主要突变位点的致病作用^[50-51]。此外,线粒体质量的差异也可能影响LHON的外显率。无症状的LHON突变携带者在白细胞中mtDNA的拷贝数明显高于有临床表现的突变携带者。将无症状的LHON突变携带者组、有临床表现的LHON突变携带者组和对照组的成纤维细胞进行比较,发现无症状组细胞中线粒体转录活性、呼吸链蛋白质总量和酶活性等都高于另两组。因此,线粒体质量的增加可能具有保护作用,可以弥补复合物I的功能障碍。尽管影响线粒体功能的相关原因仍有待进一步研究,但这些研究结果将会给LHON的治疗带来一定的参考^[52]。

5 线粒体脑肌病伴高乳酸血症和卒中样发作(MELAS)

5.1 临床定义

MELAS发现于1984年,是最常见的线粒体疾病之一。由于线粒体基因的突变导致ATP合成障碍,可累及多个器官以及组织,因此病变的发生主要取决于相应器官突变基因所占的百分比以及该器官的阈值。常见的临床表现有卒中样发作、痴呆、癫痫、乳酸酸中毒、肌病、反复头痛、听力下降、糖尿病和身材矮小等。儿童是发病的高峰期,研究表明,65%~76%的患者在20岁之前出现症状^[53]。

5.2 分子遗传学

编码tRNA^{Leu(UUR)}的MT-TL1基因中的m.3243A>G突变是导致MELAS病的最常见原因(图1),在80%的MELAS患者中存在该突变。此外,MT-TL1基因中的其他突变(如m.3271T>C和m.3252A>G)也可以导致MELAS病,还有极少数的患者由其他线粒体基因突变而引发。国外有报道称编码线粒体DNA聚合酶 γ 的核基因POLG突变也可以出现类似于MELAS病的表现^[54]。

大部分mtDNA突变属于异质性突变,m.3243A>G突变也不例外。由于突变只存在于部分mtDNA之

中, 因此, 每一个细胞中都存在突变的 mtDNA 和正常的 mtDNA。随着细胞分裂, 突变的 mtDNA 将随机分布于子代细胞中, 导致同一个体的不同组织和器官中突变 mtDNA 的百分比存在很大的差异; 同时, 不同的组织和器官具有不同的阈值, 当突变 mtDNA 的异质性百分比超过该组织或者器官的阈值时, 就会出现相应的临床症状, 这也是不同的患者会有不同的临床表型的原因^[55-56]。

6 诊断和治疗

目前已有许多有效的诊断技术, 尤其是在基因水平上。通过新一代测序技术和全外显子测序技术对成千上万的患者的基因组进行测序研究将对线粒体脑病的诊断产生革命性影响, 让越来越多的患者可以得到分子水平上的诊断, 同时, 也揭示了大量新的突变位点和先前未知的遗传和致病机制^[57]。

对于大部分线粒体脑病患者, 目前唯一的治疗方式就是通过各种维生素、辅酶因子和营养制剂改善症状^[58], 但效果并不理想。近几年, 随着分子生物学的不断发展, 人们对线粒体脑病的分子基础和病理生理学过程有了更加深入的了解, 这为治疗方面的研究注入了新的活力, 也为患者带来了新的希望。其中尤以基因治疗研究最为火热, 如通过选择性抑制突变基因组的复制来改变突变的异质性, 从而影响疾病的表型^[59]; 通过生殖技术将线粒体 DNA 和核 DNA 的遗传进行分离, 从而大大降低患病母亲子代罹患线粒体 DNA 相关疾病的几率^[60]; 以及以腺相关病毒作为载体, 通过基因的异位表达来达到治疗目的等。但目前为止, 除了个别临床试验证明具有一定的疗效外^[61], 绝大多数有关基因治疗的实验停留在模型阶段, 仍需大量严谨的临床试验来证明其有效性。

7 结语

线粒体脑病领域的发展日新月异, 随着诊断技术的提高, 越来越多的患者能够得到分子水平上的诊断, 同时加深了对线粒体脑病发病机制的认识, 也为患者的靶向治疗和个体化治疗带来了希望。

[参 考 文 献]

- [1] Lin MT, Beal MF. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in neurodegenerative diseases. *Nature*, 2006, 443: 787-95
- [2] Kyriakouli DS, Boesch P, Taylor RW, et al. Progress and prospects: gene therapy for mitochondrial DNA disease. *Gene Ther*, 2008, 15: 1017-23
- [3] Anderson S, Bankier AT, Barrell BG, et al. Sequence and organization of the human mitochondrial genome. *Nature*, 1981, 290: 457-65
- [4] Saneto RP. Alpers-Huttenlocher syndrome: the role of a multidisciplinary health care team. *J Multidiscip Healthc*, 2016, 9: 323-33
- [5] Li S, Guo J, Ying Z, et al. Valproic acid-induced hepatotoxicity in Alpers syndrome is associated with mitochondrial permeability transition pore opening-dependent apoptotic sensitivity in an induced pluripotent stem cell model. *Hepatology*, 2015, 61: 1730-9
- [6] Uusimaa J, Hinttala R, Rantala H, et al. Homozygous W748S mutation in the *POLG1* gene in patients with juvenile-onset Alpers syndrome and status epilepticus. *Epilepsia*, 2008, 49: 1038-45
- [7] Wiltshire E, Davidzon G, Dimauro S, et al. Juvenile Alpers disease. *Arch Neurol*, 2008, 65: 121-4
- [8] Saneto RP, Cohen BH, Copeland WC, et al. Alpers-Huttenlocher syndrome. *Pediatr Neurol*, 2013, 48: 167-78
- [9] Falkenberg M, Larsson NG, Gustafsson CM. DNA replication and transcription in mammalian mitochondria. *Annu Rev Biochem*, 2007, 76: 679-99
- [10] Lee YS, Johnson KA, Molineux IJ, et al. A single mutation in human mitochondrial DNA polymerase Pol γ A affects both polymerization and proofreading activities of only the holoenzyme. *J Biol Chem*, 2010, 285: 28105-16
- [11] Qian Y, Kachroo AH, Yellman CM, et al. Yeast cells expressing the human mitochondrial DNA polymerase reveal correlations between polymerase fidelity and human disease progression. *J Biol Chem*, 2014, 289: 5970-85
- [12] Euro L, Farnum GA, Palin E, et al. Clustering of Alpers disease mutations and catalytic defects in biochemical variants reveal new features of molecular mechanism of the human mitochondrial replicase, Pol γ . *Nucleic Acids Res*, 2011, 39: 9072-84
- [13] Tang S, Wang J, Lee NC, et al. Mitochondrial DNA polymerase γ mutations: an ever expanding molecular and clinical spectrum. *J Med Genet*, 2011, 48: 669-81
- [14] Chuquilin M, Govindarajan R, Peck D, et al. Response to immunotherapy in a patient with adult onset Leigh syndrome and T9176C mtDNA mutation. *Mol Genet Metab Rep*, 2016, 8: 28-32
- [15] Baertling F, Rodenburg RJ, Schaper J, et al. A guide to diagnosis and treatment of Leigh syndrome. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 2014, 85: 257-65
- [16] Aulbert W, Weigt-Usinger K, Thiels C, et al. Long survival in Leigh syndrome: new cases and review of literature. *Neuropediatrics*, 2014, 45: 346-53
- [17] Uziel G, Ghezzi D, Zeviani M. Infantile mitochondrial encephalopathy. *Semin Fetal Neonatal Med*, 2011, 16: 205-15
- [18] Peters H, Buck N, Wanders R, et al. ECHS1 mutations in Leigh disease: a new inborn error of metabolism affecting valine metabolism. *Brain*, 2014, 137: 2903-8

- [19] Ferdinandusse S, Waterham HR, Heales SJ, et al. HIBCH mutations can cause Leigh-like disease with combined deficiency of multiple mitochondrial respiratory chain enzymes and pyruvate dehydrogenase. *Orphanet J Rare Dis*, 2013, 8: 188
- [20] Haack TB, Jackson CB, Murayama K, et al. Deficiency of ECHS1 causes mitochondrial encephalopathy with cardiac involvement. *Ann Clin Transl Neurol*, 2015, 2: 492-509
- [21] Ma YY, Wu TF, Liu YP, et al. Genetic and biochemical findings in Chinese children with Leigh syndrome. *J Clin Neurosci*, 2013, 20: 1591-4
- [22] Tiranti V, Hoernagel K, Carozzo R, et al. Mutations of SURF-1 in Leigh disease associated with cytochrome c oxidase deficiency. *Am J Hum Genet*, 1998, 63: 1609-21
- [23] Van Riesen AK, Antonicka H, Ohlenbusch A, et al. Maternal segmental disomy in Leigh syndrome with cytochrome c oxidase deficiency caused by homozygous SURF1 mutation. *Neuropediatrics*, 2006, 37: 88-94
- [24] Valente L, Tiranti V, Marsano RM, et al. Infantile encephalopathy and defective mitochondrial DNA translation in patients with mutations of mitochondrial elongation factors EFG1 and EFTu. *Am J Hum Genet*, 2007, 80: 44-58
- [25] Spiegel R, Mandel H, Saada A, et al. Delineation of C12orf65-related phenotypes: a genotype-phenotype relationship. *Eur J Hum Genet*, 2014, 22: 1019-25
- [26] Imagawa E, Fattal-Valevski A, Eyal O, et al. Homozygous p.V116* mutation in C12orf65 results in Leigh syndrome. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 2016, 87: 212-6
- [27] Boyer PD. The binding change mechanism for ATP synthase--some probabilities and possibilities. *Biochim Biophys Acta*, 1993, 1140: 215-50
- [28] Shoffner JM, Fernhoff PM, Krawiecki NS, et al. Subacute necrotizing encephalopathy: oxidative phosphorylation defects and the ATPase 6 point mutation. *Neurology*, 1992, 42: 2168-74
- [29] Jonckheere AI, Smeitink JA, Rodenburg RJ. Mitochondrial ATP synthase: architecture, function and pathology. *J Inher Metab Dis*, 2012, 35: 211-25
- [30] Ronchi D, Bordoni A, Cosi A, et al. Unusual adult-onset Leigh syndrome presentation due to the mitochondrial m.9176T>C mutation. *Biochem Biophys Res Commun*, 2011, 412: 245-8
- [31] Menkes JH, Alter M, Steigleder GK, et al. A sex-linked recessive disorder with retardation of growth, peculiar hair, and focal cerebral and cerebellar degeneration. *Pediatrics*, 1962, 29: 764-79
- [32] Tumer Z, Moller LB. Menkes disease. *Eur J Hum Genet*, 2010, 18: 511-8
- [33] Horn N, Morton NE. Genetic epidemiology of Menkes disease. *Genet Epidemiol*, 1986, 3: 225-30
- [34] Ojha R, Prasad AN. Menkes disease: what a multidisciplinary approach can do. *J Multidiscip Healthc*, 2016, 9: 371-85
- [35] Leon-Garcia G, Santana A, Villegas-Sepulveda N, et al. The T1048I mutation in ATP7A gene causes an unusual Menkes disease presentation. *BMC Pediatr*, 2012, 12: 150
- [36] Moller LB, Tumer Z, Lund C, et al. Similar splice-site mutations of the *ATP7A* gene lead to different phenotypes: classical Menkes disease or occipital horn syndrome. *Am J Hum Genet*, 2000, 66: 1211-20
- [37] Kaler SG, Gallo LK, Proud VK, et al. Occipital horn syndrome and a mild Menkes phenotype associated with splice site mutations at the MNK locus. *Nat Genet*, 1994, 8: 195-202
- [38] Das S, Levinson B, Whitney S, et al. Diverse mutations in patients with Menkes disease often lead to exon skipping. *Am J Hum Genet*, 1994, 55: 883-9
- [39] Man PY, Griffiths PG, Brown DT, et al. The epidemiology of leber hereditary optic neuropathy in the north east of England. *Am J Hum Genet*, 2003, 72: 333-9
- [40] Spruijt L, Kolbach DN, De Coo RF, et al. Influence of mutation type on clinical expression of Leber hereditary optic neuropathy. *Am J Ophthalmol*, 2006, 141: 676-82
- [41] Puomila A, Hamalainen P, Kivioja S, et al. Epidemiology and penetrance of Leber hereditary optic neuropathy in Finland. *Eur J Hum Genet*, 2007, 15: 1079-89
- [42] Newman NJ. Hereditary optic neuropathies: from the mitochondria to the optic nerve. *Am J Ophthalmol*, 2005, 140: 517-23
- [43] Carelli V, Ross-Cisneros FN, Sadun AA. Mitochondrial dysfunction as a cause of optic neuropathies. *Prog Retin Eye Res*, 2004, 23: 53-89
- [44] Yu-Wai-Man P, Griffiths PG, Chinnery PF. Mitochondrial optic neuropathies - disease mechanisms and therapeutic strategies. *Prog Retin Eye Res*, 2011, 30: 81-114
- [45] Fraser JA, Biousse V, Newman NJ. The neuro-ophthalmology of mitochondrial disease. *Surv Ophthalmol*, 2010, 55: 299-334
- [46] Valentino ML, Barboni P, Ghelli A, et al. The *ND1* gene of complex I is a mutational hot spot for Leber's hereditary optic neuropathy. *Ann Neurol*, 2004, 56: 631-41
- [47] Chinnery PF, Brown DT, Andrews RM, et al. The mitochondrial *ND6* gene is a hot spot for mutations that cause Leber's hereditary optic neuropathy. *Brain*, 2001, 124: 209-18
- [48] Chinnery PF, Andrews RM, Turnbull DM, et al. Leber hereditary optic neuropathy: Does heteroplasmy influence the inheritance and expression of the G11778A mitochondrial DNA mutation? *Am J Med Genet*, 2001, 98: 235-43
- [49] Harding AE, Sweeney MG, Govan GG, et al. Pedigree analysis in Leber hereditary optic neuropathy families with a pathogenic mtDNA mutation. *Am J Hum Genet*, 1995, 57: 77-86
- [50] Gomez-Duran A, Pacheu-Grau D, Lopez-Gallardo E, et al. Unmasking the causes of multifactorial disorders: OXPHOS differences between mitochondrial haplogroups. *Hum Mol Genet*, 2010, 19: 3343-53
- [51] Gomez-Duran A, Pacheu-Grau D, Martinez-Romero I, et al. Oxidative phosphorylation differences between mitochondrial DNA haplogroups modify the risk of Leber's hereditary optic neuropathy. *Biochim Biophys*

- Acta, 2012, 1822: 1216-22
- [52] Giordano C, Iommarini L, Giordano L, et al. Efficient mitochondrial biogenesis drives incomplete penetrance in Leber's hereditary optic neuropathy. *Brain*, 2014, 137: 335-53
- [53] Yatsuga S, Povalko N, Nishioka J, et al. MELAS: a nationwide prospective cohort study of 96 patients in Japan. *Biochim Biophys Acta*, 2012, 1820: 619-24
- [54] Cheldi A, Ronchi D, Bordoni A, et al. *POLG1* mutations and stroke like episodes: a distinct clinical entity rather than an atypical MELAS syndrome. *BMC Neurol*, 2013, 13: 8
- [55] El-Hattab AW, Adesina AM, Jones J, et al. MELAS syndrome: Clinical manifestations, pathogenesis, and treatment options. *Mol Genet Metab*, 2015, 116: 4-12
- [56] El-Hattab AW, Scaglia F. Disorders of carnitine biosynthesis and transport. *Mol Genet Metab*, 2015, 116: 107-12
- [57] Legati A, Reyes A, Nasca A, et al. New genes and pathomechanisms in mitochondrial disorders unraveled by NGS technologies. *Biochim Biophys Acta*, 2016, 1857: 1326-35
- [58] Scarpelli M, Todeschini A, Rinaldi F, et al. Strategies for treating mitochondrial disorders: an update. *Mol Genet Metab*, 2014, 113: 253-60
- [59] Scarpelli M, Cotelli MS, Mancuso M, et al. Current options in the treatment of mitochondrial diseases. *Recent Pat CNS Drug Discov*, 2010, 5: 203-09
- [60] Hyslop LA, Blakeley P, Craven L, et al. Towards clinical application of pronuclear transfer to prevent mitochondrial DNA disease. *Nature*, 2016, 534: 383-86
- [61] Feuer WJ, Schiffman JC, Davis JL, et al. Gene therapy for leber hereditary optic neuropathy: initial results. *Ophthalmology*, 2016, 123: 558-70