

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

**MİTOKONDRIYAL MİYOPATİ TANISINDA KAS**  
**BİYOPSİSİNİN ROLÜ**

**Dr.Batuhan YEKE**

**UZMANLIK TEZİ**  
**olarak hazırlanmıştır.**

**ANKARA**

**2018**



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

**MİTOKONDRIYAL MİYOPATİ TANISINDA KAS**  
**BİYOPSİSİNİN ROLÜ**

**Dr.Batuhan YEKE**

**UZMANLIK TEZİ**  
**olarak hazırlanmıştır.**

**TEZ DANIŞMANI**  
**Dr. Öğr. Üyesi Beril TALİM**

**ANKARA**

**2018**

## TEŞEKKÜR

Tez hazırlama sürecinin her noktasında aktif olarak yol gösteren; yoğun çalışma temposuna rağmen zamanını, tecrübesini, desteğini hiçbir zaman eksik etmeyen, iyi bir insan ve iyi bir hekim olma yolunda bana rol model olan sevgili tez hocam Doktor Öğretim Üyesi Beril TALİM'e teşekkür eder, saygılarımı sunarım. Kısa süre çalışma şansı bulduğum ancak beraber çalışmaktan büyük mutluluk duyduğum Hacettepe Üniversitesi Pediatrik Patoloji Ünitesi'nin tüm çalışanlarının her bir ferdine teşekkürü bir borç bilirim.

Bilgi ve tecrübelerini daima paylaşarak çocuk hekimi olmam yolunda beni cesaretlendiren ve desteklerini esirgemeyen Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Ana Bilim Dalı'nın tüm öğretim üyelerine, beraber çalışma şansı bulduğum tüm asistan arkadaşlarıma ve bana her zaman destek olan sevgili aileme teşekkür ederim.

## YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI

Fakültemiz tarafından onaylanan lisansüstü tezimin/raporumun tamamını veya herhangi bir kısmını, basılı (kâğıt) ve elektronik formatta arşivleme ve aşağıda verilen koşullarla kullanıma açma iznini Hacettepe Üniversitesine verdiğimi bildiririm. Bu izinle Üniversiteye verilen kullanım hakları dışındaki tüm fikri mülkiyet haklarım bende kalacak, tezimin tamamının ya da bir bölümünün gelecekteki çalışmalarda (makale, kitap, lisans ve patent vb.) kullanım hakları bana ait olacaktır.

Tezin kendi orijinal çalışmam olduğunu, başkalarının haklarını ihlal etmediğimi ve tezimin tek yetkili sahibi olduğumu beyan ve taahhüt ederim. Tezimde yer alan telif hakkı bulunan ve sahiplerinden yazılı izin alınarak kullanılması zorunlu metinlerin yazılı izin alınarak kullandığımı ve istenildiğinde suretlerini Üniversiteye teslim etmeyi taahhüt ederim.

- **Tezimin/Raporumun tamamı dünya çapında erişime açılabilir ve bir kısmı veya tamamının fotokopisi alınabilir.**  
(Bu seçenkle teziniz arama motorlarında indekslenebilecek, daha sonra tezinizin erişim statüsünün değiştirilmesini talep etmeniz ve kütüphane bu talebinizi yerine getirirse bile, teziniz arama motorlarının önbelleklerinde kalmaya devam edebilecektir)
- **Tezimin/Raporumun 02.11/2019 tarihine kadar erişime açılmasını ve fotokopi alınmasını (İç Kapak, Özet, İçindekiler ve Kaynakça hariç) istemiyorum.**  
(Bu sürenin sonunda uzatma için başvuruda bulunmadığım takdirde, tezimin/raporumun tamamı her yerden erişime açılabilir, kaynak gösterilmek şartıyla bir kısmı veya tamamının fotokopisi alınabilir)
- **Tezimin/Raporumun.....tarihine kadar erişime açılmasını istemiyorum ancak kaynak gösterilmek şartıyla bir kısmı veya tamamının fotokopisinin alınmasını onaylıyorum.**
- **Serbest Seçenek/Yazarın Seçimi**

(İmza)

Öğrencinin Adı SOYADI

Batuhan YEKE

## ÖZET

**Yeke B., Talim B., Mitokondriyal Miyopati Tanısında Kas Biyopsisinin Rolü, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Hastalığı ve Hastalıkları Uzmanlık Tezi. Ankara, 2018.** Mitokondriyal hastalıklar, mitokondriyal solunum zincirinin işlev bozukluğunun bir sonucu olarak ortaya çıkan, klinik ve genetik olarak heterojen bir hastalık grubudur. Nükleer DNA veya mitokondriyal DNA tarafından kodlanan genlerin mutasyonu sonucunda ortaya çıkabilir. Tanıda klinik, laboratuvar ve radyolojik bulguların yanısıra, etkilenen dokudan yapılacak mikroskopik ve biyokimyasal incelemeler yol göstericidir. Çalışmamızda 2007 - 2017 yılları arasında kas biyopsisi değerlendirilerek mitokondriyal miyopatiyle uyumlu bulunan ve/veya solunum zinciri enzim aktivitesi çalışılmış olan 193 hastanın klinik, laboratuvar ve histopatolojik bulguları retrospektif olarak incelendi, mitokondriyal hastalık tanı kriterlerine göre sınıflandırıldı. Hastaların 99'u (%51,2) erkek, 94'ü (%48,8) kız olup, anne baba arasında akrabalık oranı %56 bulundu. Şikayetlerin başlama zamanı doğumdan 15 yaşa kadar değişiyordu (ortanca 12 ay). Hastaların büyük kısmının (%93,8) nörolojik yakınmaları olup, en sık gevşeklik-hipotoni (%38,3), nöbet (%32,6) ve motor ve mental gelişme geriliği (%29,5) görüldü. 11 hastada hipertrofik, 4 hastada dilate kardiyomiyopati mevcuttu. 8'er hastada renal ve endokrin tutulum saptandı. Mitokondriyal miyopatiyle uyumlu histopatolojik bulgular olarak 107 hastada (%55,4) sitokrom c oksidaz (COX) eksikliği, 82 hastada (%42,5) subsarkolemmal birikim, *ragged-red* veya *ragged-blue* lif şeklinde anormal mitokondriyal dağılım, 51 hastada (%26,4) lipid birikimi ve 11 hastada (%5,7) süksinik dehidrogenaz (SDH) eksikliği görüldü. 41 hastada mikroskopik değerlendirme normaldi. Solunum zinciri enzim aktivitesi çalışılmış olan 56 hastanın 30'unda (%53,6) enzim eksikliği mevcuttu. 9 hastada izole, 21 hastada çoklu enzim eksikliği olup, en sık kompleks IV eksikliği olduğu görüldü. Mitokondriyal hastalık tanı kriterlerine göre hastaların %44,3'ü "muhtemel", %35,4'ü "kesin" olarak sınıflandırıldı.

Sonuç olarak kas biyopsisi mikroskopik inceleme ve solunum zinciri enzim aktivitesi ölçümüyle mitokondriyal hastalık tanısında önemli rol oynamaktadır. Klinik ve histopatolojik özellikler arasında her zaman iyi bir korelasyon olmamasına karşın, kas biyopsisi bulguları tanıyı desteklemede ve daha ileri çalışmalara yön vermede yardımcı olabilir. Mikroskopik bulgular ve enzim aktivitesi sonuçlarının birlikte değerlendirilmesi ve yorumlanması önemlidir. Histopatolojik bulguları olmayan

hastalarda klinik Őpbe olması halinde, solunum zinciri enzim aktivitesi ölçümü ve genetik çalışmalar gibi daha ileri çalışmalara gidilebilir.

**Anahtar kelimeler:** Mitokondriyal hastalık, kas biyopsisi, histopatoloji, solunum zinciri enzim aktivitesi, çocuk

## ABSTRACT

**Yeke B., Talim B., Role of Muscle Biopsy in the Diagnosis of Mitochondrial Myopathy, Hacettepe University Faculty of Medicine, Thesis in Pediatrics. Ankara, 2018.** Mitochondrial diseases are clinically and genetically heterogeneous group of disorders that arise as a result of dysfunction of the mitochondrial respiratory chain. They can be caused by mutations of genes encoded by either nuclear or mitochondrial DNA. In addition to clinical, laboratory and radiological findings, microscopical and biochemical analysis of affected tissues is helpful in the diagnosis. In this study, clinical, laboratory and histopathological findings of 193 patients who had muscle biopsy between 2007 and 2017 were retrospectively evaluated. They had histopathological features compatible with mitochondrial myopathy and/or respiratory chain enzyme activity assessment. There were 99 (51,2%) male and 94 (48,8%) female patients. Parental consanguinity rate was 56%. Age at first complaints ranged from birth to 15 years (median 12 months). A great majority of the patients (93,8%) had neurologic complaints, most common were hypotonia (38,3%), seizure (32,6%) and motor and mental retardation (29,5%). Hypertrophic and dilated cardiomyopathy were present in 11 and 4 patients, respectively. Renal and endocrine system involvement were seen in 8 patients, each. Most common histopathologic finding was cytochrome c oxidase (COX) deficiency (107 patients; 55,4%). This was followed by abnormal mitochondrial distribution in the form of subsarcolemmal accumulation, ragged-red or ragged-blue fibers (82 patients; 42,5%), lipid accumulation (51 patients; 26,4%) and succinic dehydrogenase (SDH) deficiency (11 patients; 5,7%). Histopathological evaluation was normal in 41 patients. Decreased respiratory chain enzyme activity was detected in 30 out of 56 patients (53,6%). 9 had isolated and 21 had multiple complex deficiency. Complex IV deficiency was the most frequent. According to the mitochondrial disease criteria, 44,3% was classified as “probable” and 35,4% as “definite”. In conclusion, muscle biopsy has an important role in diagnosing mitochondrial myopathy, by microscopical investigation and respiratory chain enzyme activity measurement. Although there is not always a good correlation between clinical and histopathological features, biopsy findings may help diagnosis and direct further studies. It is important to evaluate microscopical features and respiratory chain enzyme



activity together and interpret the results. If there is clinical suspicion in patients without histopathological findings, further studies such as respiratory chain enzyme activity measurement and genetic studies can be performed.

**Key words:** Mitochondrial disease, muscle biopsy, histopathology, respiratory chain enzyme activity, childhood

## İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	iii
YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vii
İÇİNDEKİLER	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xvi
TABLOLAR DİZİNİ	xvii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Tarihçe	2
2.2. Epidemiyoloji	3
2.3. Mitokondri Yapısı	4
2.4. Mitokondrinin İşlevleri	6
2.5. Mitokondriyal Genetik	10
2.6. nDNA ve Mitokondri ile İlişkisi	12
2.7. Mitokondriyal Hastalıkların Genetik Sınıflandırılması	14
2.7.1. MtDNA Replikasyonuna Katılan Proteinleri Kodlayan Genler ve Mutasyonları	15
2.7.2. mtDNA'nın Transkripsiyonunda Yer Alan Proteinleri Kodlayan Genler ve Mutasyonları	17
2.7.3. Nükleotid Metabolizmasında Rol Oynayan Proteinleri Kodlayan Genler ve Mutasyonları	18
2.7.4. Mitokondriyal Füzyon, Bölünme ve Hareketlilik ile İlgili Proteinleri Kodlayan Genler ve Mutasyonları	19
2.8. mtDNA Heteroplazmi Dinamiklerine Ait Hipotezler	21
2.8.1. Eşik etkisi ( <i>Threshold effect</i> )	21
2.8.2. Mitotik Ayrışma	22
2.8.3. Klonal Genişleme	22
2.8.4. mtDNA Darboğaz	22

2.9. Mitokondriyal Hastalıkların Semptomları ve Sistemik Bulguları	23
2.9.1. Sinir Sistemi Bulguları	23
2.9.2. Kas Bulguları	24
2.9.3. Kardiyak Bulgular	24
2.9.4. Oftalmolojik Bulgular	25
2.9.5. Gastrointestinal Sistem ve Karaciğer Bulguları	25
2.9.6. Endokrin Sistem Bulguları	25
2.9.7. Nefrolojik Tutulum Bulguları	26
2.9.8. Hematolojik Sistem Bulguları	26
2.9.9. İşitme Problemleri	26
2.9.10. Cilt Bulguları	26
2.10. Mitokondriyal Sendromlar	26
2.10.1. Leigh Sendromu (Subakut Nekrotizan Ensefalopati)	26
2.10.2. Nöropati, Ataksi ve Retinitis Pigmentoza (NARP)	27
2.10.3. Mitokondriyal Miyopati, Ensefalopati, Laktik Asidoz ve İnme Benzeri Ataklar (MELAS)	27
2.10.4. Miyoklonik Epilepsi, <i>Ragged-Red Fibers</i> (MERRF)	28
2.10.5. Kearns-Sayre Sendromu (KSS)	29
2.10.6. Leber'in Herediter Optik Nöropatisi (LHON)	29
2.10.7. Pearson Sendromu	30
2.10.8. Alpers Sendromu	30
2.10.9. MtDNA Deplesyon Sendromları	31
2.11. Laboratuvar ve Radyolojik Bulgular	33
2.12. Histopatolojik Bulgular	35
2.12.1. Hematoksilen ve Eozin	35
2.12.2. Modifiye Gomori Trikrom	35
2.12.3. Sitokrom-c oksidaz (COX)	36
2.12.4. Süksinat Dehidrogenaz (SDH)	36
2.12.5. NADH-Dehidrogenaz	36
2.12.6. Oil Red O (ORO) / Sudan Black B	36
2.12.7. Diğer Boyalar	37
2.12.8. Elektron Mikroskopu Bulguları	37

2.13. Biyokimyasal ve Moleküler Analizler	37
2.14. Mitokondriyal Hastalık Tanı Kriterleri	38
2.15. Tedavi	39
2.15.1. Semptomatik Tedavi	39
2.15.2. Kullanılan Mevcut Tedaviler ve Yeni Tedavi Yöntemleri	40
2.16. Prenatal Tanı ve Genetik Danışma	43
3. HASTALAR VE YÖNTEM	44
4. BULGULAR	46
4.1. Klinik Bulgular	46
4.2. Laboratuvar Bulguları	49
4.3. Histopatolojik Bulgular	51
4.4. Mitokondriyal Solunum Zinciri Enzim Aktivitesi Ölçümü	55
4.5. Klinik Skorlama	57
4.6. COX boyası ile COX Eksikliği Saptanan Hastaların Klinik ve Laboratuvar Bulguları	57
4.7. ORO Boyası ile Lipid Birikimi Saptanan Hastaların Klinik ve Laboratuvar Bulguları	65
4.8. Anormal Mitokondriyal Dağılım Saptanan Hastaların Klinik ve Laboratuvar Bulguları	69
4.9. SDH Boyası ile SDH Eksikliği Saptanan Hastaların Klinik ve Laboratuvar Bulguları	75
5. TARTIŞMA	77
6. SONUÇLAR	94
7. KAYNAKLAR	98
8. EKLER	112
EK-1 Mitokondriyal Hastalık Kriterleri - Genel Kriterler	112
EK-2. Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurul Onayı	116

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ADP	Adenozin difosfat
AICAR 5-	Aminoimidazol-4-karboksamid ribotit
ALT	Alanin aminotransferaz
AMP	Adenozin monofosfat
AMPK	AMP ile aktive olan protein kinaz
ANT	Adenin nükleotid translokator
Asetil CoA	Asetil koenzim A
AST	Aspartat aminotransferaz
ATP	Adenozin trifosfat
AV	Atriyoventriküler
BAEP	<i>Brain stem-auditory evoked potential</i>
Bi-PAP	<i>Bi-level positive airway pressure</i>
BOS	Beyin omurilik sıvısı
bp	Baz çifti ( <i>Base pair</i> )
BT	Bilgisayarlı tomografi
CK	Kreatin kinaz
CMP	Sitidin monofosfat
CO <sub>2</sub>	Karbondioksit
CoQ10	Koenzim Q10
COX	Sitokrom c oksidaz
CPAP	<i>Continuous positive airway pressure</i>
CPEO	Kronik progresif eksternal oftalmopleji
DCA	Dikloroasetat
DGUOK	Deoksiguanozin kinaz
D-Loop	<i>Displacement loop</i>
DM	Diabetes mellitus
DNA	Deoksiribonükleik asit
dNTP	Deoksinükleotid
DTR	Derin tendon refleksleri
EEG	Elektroensefalografi

EKG	Elektrokardiyogram
EKO	Ekokardiyografi
EMG	Elektromiyografi
ERG	Elektroretinogram
ERR $\alpha$	Östrojenle ilişkili reseptör $\alpha$
ETF	Elektron-transfer flavoprotein
ETFDH	Elektron-transfer flavoprotein dehidrogenaz
FAD	Flavin adenin dinükleotid
FADH2	İndirgenmiş flavin adenin dinükleotid
FGF21	Fibroblast growth faktör 21
GDF15	Growth diferansiyon faktör 15
GGT	Gamma-glutamiltransferaz
GRACILE	<i>Growth retardation, aminoaciduria, cholestasis, iron overload, lactic acidosis, early death</i>
HE	Hemotoksilen eozin
İKAA	İdrar kan aminoasitleri
kDa	Kilo dalton
KSS	Kearns-Sayre sendromu
LA	Laktik asit
LCHAD	Uzun zincirli 3-hidroksiaçil-coA dehidrogenaz
LDH	Laktat dehidrogenaz
LHON	Leber'in herediter optik nöropatisi
MADD	Multiple açil-coA dehidrogenaz eksikliği
MCAD	Orta zincirli açil-coA dehidrogenaz eksikliği
MDS	MtDNA deplesyon sendromu
MELAS	Mitokondriyal miyopati, ensefalopati, laktik asidoz, inme benzeri atak
MERRF	Miyoklonik Epilepsi, <i>Ragged Red Fibers</i>
MFN1	Mitofusin 1
MFN2	Mitofusin 2
MILS	<i>Maternally inherited Leigh syndrome</i>
MNGIE	Mitokondriyal NöroGastroİntestinal Ensefalomiyopati

MR	Manyetik rezonans
MRS	Manyetik rezonans spektroskopisi
mtDNA	Mitokondriyal deoksiribonükleik asit
NAA	N-asetil aspartat
NADH	İndirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotid
NADPH	Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
NARP	Nöropati, ataksi, retinitis pigmentosa
nDNA	Nükleer deoksiribonükleik asit
NGS	<i>Next generation sequencing</i>
NO	Nitrik oksit
NRF-1	Nükleer respiratuar faktör-1
NRF-2	Nükleer faktör eritroid 2 (NFE2) ile ilgili faktör 2
OD	Otozomal dominant
OPA-1	Dynamin ilişkili guanozin trifosfataz
OR	Otozomal resesif
ORO	Oil red O
PA	Pirüvik asit
PAS	Periodik asid-Schiff
PCR	<i>Polimerase chain reaction</i>
Pi	İnorganik fosfat
PCr	Fosfokreatin
PDH	Piruvat dehidrogenaz
PEO	Progresif eksternal oftalmopleji
PGC-1	Peroksizom proliferatör-activated reseptör-gamma koaktivatör
PPAR $\alpha$	Peroksizom proliferatör aktive reseptör $\alpha$
PPAR $\delta$	Peroksizom proliferatör aktive reseptör $\delta$
POLG-1	Mitokondriyal DNA polimeraz gama geni
RBF	<i>Ragged blue fiber</i>
RFLP	<i>Restriction fragment length polymorphism</i>
RNA	Ribonükleik asit
RRF	<i>Ragged red fiber</i>
RRM2B	Ribonükleotid redüktaz M2 B alt birimi

rRNA	Ribozomal ribonükleik asit
SCAD	Kısa zincirli açıl-coA dehidrogenaz eksikliği
SCHAD	Kısa zincirli 3-hidroksiaçıl-coA dehidrogenaz eksikliği
SDH	Süksinik dehidrogenaz
SMA	Spinal kaslar atrofi
SSBP 1	<i>Single-stranded DNA-binding protein</i>
SUCLA2	(adenosin difosfat (ADP) -forming süksinil CoA ligaz beta alt birimi)
SUCLG1	Guanosin difosfat (GDP)-form süksinil KoA ligaz alfa alt birimi
TAZ	Tafazzin
TCA	Trikarboksilik asit
TK-2	Timidin kinaz 2
tRNA	Transfer ribonükleik asit
TMP	Timidin monofosfat
TP	Timidin fosforilaz
VEP	<i>Visual evoked potential</i>
VLCAD	Çok uzun zincirli açıl-coA dehidrogenaz eksikliği



## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil		Sayfa
2.1.	Mitokondrinin yapısı.	4
2.2.	Protein, karbonhidrat ve lipitlerin TCA sistemine katılması.	7
2.3.	Sitrik asit döngüsü.	8
2.4.	Elektron transfer zincirinde elektronların taşınması.	10
2.5.	İnsan Mitokondriyal DNA'sı.	11
2.6.	MtDNA morbidite haritası.	15
2.7.	Mutant mitokondrilerin oogenezis sırasında dağılımı.	21
2.8.	Mitokondriyal hastalıkların organ tutulumları.	23
4.1.	COX boyasında COX negatif kas lifleri.	59
4.2.	Kas liflerinde soluk COX boyanması.	60
4.3.	Mozaik paternde COX eksikliği. COX/SDH boyasında COX negatif lifler SDH ile lacivert renkli boyanmış olarak görülüyor (A), COX boyasında bazı lifler COX pozitif (kahve-bej renkli) bazı lifler COX negatif (B)	61
4.4.	ORO boyası ile bazı liflerde hafif lipid artışı bulgusu	65
4.5.	Vakuoler miyopati ve artmış lipid birikimi. HE boyasında kas liflerinde vakuoler görünüm (A) ve Oil-red-O boyası ile liflerde iri granüller şeklinde belirgin pozitif boyanma (lipid artışı) mevcut (B).	66
4.6.	Gomori trikrom boyası ile RRF görünümü	70
4.7.	SDH boyası ile RBF görünümü	71
4.8.	Hematoksilen Eozin (A) ve COX boyası (B) ile subsarkolemmal mitokondriyal birikim	72
4.9.	SDH boyası ile soluk boyanma	76

## TABLOLAR DİZİNİ

<b>Tablo</b>	<b>Sayfa</b>
4.1. Hastaların sistem tutulumları ve şikayetlerinin dağılımı	47
4.2. Fizik muayene bulgularının dağılımı	48
4.3. Laboratuvar incelemelerinde patolojik bulgular	51
4.4. Mikroskopik değerlendirmeye göre histopatolojik bulgular	51
4.5. Mitokondriyal hastalıkla uyumlu biyopsilerde bulguların dağılımı	52
4.6. Mikroskopik değerlendirmeye göre bulgular ve tanı grupları	53
4.7. Hastaların şikayetlerinin kas biyopsi bulgularına göre sınıflandırılması	54
4.8. Mitokondriyal solunum zinciri enzim aktivitesi ölçümleri dağılımı	55
4.9. Mitokondriyal solunum zinciri enzim aktivitesi ölçülen hastaların sistem tutulumları	56
4.10. Mitokondriyal solunum zinciri enzim aktivitesi ölçümü sonuçları ile mikroskopik bulguların karşılaştırması	56
4.11. Hastaların klinik skorlamaları	57
4.12. COX boyası ile COX eksikliği saptanan hastaların sistem tutulumları ve şikayetlerinin dağılımları	62
4.13. COX boyası ile COX eksikliği saptanan hastaların laboratuvar bulguları	64
4.14. COX boyası ile COX eksikliği saptanan hastaların mitokondriyal solunum zinciri enzim aktivitesi ölçümü	64
4.15. ORO boyası ile lipid birikimi saptanan hastaların sistem tutulumları ve şikayetlerinin dağılımı	67
4.16. ORO boyası ile lipid birikimi saptanan hastaların laboratuvar bulguları	68
4.17. ORO boyası ile lipid birikimi saptanan hastaların mitokondriyal solunum zinciri enzim aktivitesi ölçümü	69
4.18. Anormal mitokondriyal dağılım saptanan hastaların sistem tutulumları ve şikayetlerinin dağılımı	73
4.19. Anormal mitokondriyal dağılım saptanan hastaların laboratuvar bulguları	75

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Mitokondriyal miyopatiler, mitokondriyal solunum zincirinin primer disfonksiyonundan kaynaklanan ve kas hastalıklarına neden olan geniş, heterojen bir mitokondriyal hastalık grubudur. Mitokondriyal hastalıkların gerçek insidansı ve prevalansı belirsizliğini korumakla birlikte, son yıllarda yapılan çalışmalarla mitokondriyal hastalık prevalansı yaklaşık 1/5000 olarak gösterilmiştir.

Kas kasılması ve gevşemesi adenosin trifosfatın (ATP) hidrolizinden elde edilen enerjiye dayanır. Oksidatif fosforilasyonda ve ATP üretiminde bozukluk olduğunda mitokondriyal hastalıklar ortaya çıkmaktadır. Kas ve santral sinir sistemi gibi enerji üretimine en çok ihtiyaç duyulan dokular en ciddi şekilde etkilenmektedir.

Mitokondriyal miyopatiler, mitokondriyal deoksiribonükleik asit (mtDNA) veya nükleer DNA (nDNA)'da oluşan mutasyonlardan kaynaklanabilir. Mitokondriyal fonksiyon bozukluğu 1959 yılında ilk kez Luft tarafından ortaya konulduktan sonra, mitokondriyal genomun dizisi Anderson ve arkadaşları tarafından 1981'de aydınlatılmış ve günümüze kadar 250'nin üzerinde mutasyon tanımlanmıştır.

Mitokondriyal DNA veya nDNA'daki mutasyonlar, belirli bir elektron taşıma zinciri kompleksinin eksikliğine neden olabilir veya sinyal, transkripsiyon translasyon yoluyla mitokondriyal disfonksiyona neden olabilir.

Çocuklarda mitokondriyal miyopati tanısını koymak, hastalığın çok değişken bulgularla seyretmesi, zayıf fenotip-genotip korelasyonu göstermesi ve spesifik klinik ve laboratuvar bulgularının olmaması nedeniyle oldukça güçtür. Kas biyopsisinin mikroskopik ve biyokimyasal incelemesinin tanı koymada oldukça önemli yeri vardır.

Bu çalışmanın amacı kas biyopsisi mitokondriyal miyopati ile uyumlu olan veya mitokondriyal solunum zinciri enzim aktivitesi ölçümü yapılan hastaların klinik, laboratuvar, radyolojik, kas biyopsisi ve solunum zinciri enzim aktivitesi sonuçlarını değerlendirmek, bu bulguların histopatolojik bulgular ile ilişkilerini ortaya koymak ve kas biyopsisinin tanıdaki katkısını araştırmaktır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Tarihçe

İlk kez 1857 yılında İsviçreli fizyolog ve anatomist Albert von Kolliker, kas hücrelerinde bulunan granül benzeri yapılardan bahsetmiştir. Richard Altman, kullandığı bir boya tekniği ile bu yapıların mikroskop altında kolayca tanımlanmasına ve bunları hücre içindeki diğer yapılardan ayırt edilmesine yardımcı olmuştur. Bu yapılar “bioblast” olarak adlandırılmış ve bioblastların hücre aktivitesinin temel birimleri olduğunu söyleyen bir hipotez önerilmiştir (1).

1898'de Carl Benda granüler yapılar için kullanılan “bioblast” adını, Yunanca “mitos” ve “chondros” kelimelerinden oluşan iplik şeklindeki granül anlamına gelen mitokondri olarak değiştirmiştir (2). Alman biyokimyacı Otto Heinrich Warburg 1929'da hücre içinde yer alan bir enzimin oksijen işlemeyi kolaylaştırdığını ileri sürmüştür (3). 1925 yılında David Keilin, sitokrom sisteminin varlığını, daha sonra sitokromun mitokondriyonun iç zarında bulunduğunu keşfetmiştir (4). 1925 yılında Fiske ve Subbarow mitokondride adenozin trifosfat (ATP) üretildiğini göstermişlerdir (5). Krebs döngüsünün 1937'de tanımlanmasından sonra, 1957'de Krebs ve Kornberg adenozin difosfat (ADP) fosforilasyonu sonrasında ATP oluşumunu göstermiştir (6).

1963'de Nass tarafından mitokondriilerin içerisinde kendi genomlarının olduğu gösterilmiştir (7). Bundan sonra mitokondriyal kalıtımın Mendelyan kurallarına göre olmadığı ve mitokondrinin kendi proteinlerini sentezlediğini gösteren çalışmalar yapılmıştır (8). Mitokondrinin yapısını ve hücre içindeki rolünü anlamaya yönelik yapılan araştırmalardan sonra ilk mitokondriyal fonksiyon bozukluğu, 1962 yılında Luft ve arkadaşları tarafından tiroidden bağımsız hipermetabolizması olan miyopatili bir vakada tanımlanmıştır (9). Mitchell mitokondriyal membranlar boyunca iyonların hareketinin, hücresel solunum sırasında ATP'nin üretimiyle nasıl ilişkili olduğunu anlatan kemiosmotik teorisi ile 1978'de Nobel Ödülü'nü almıştır (10). 1981'de Anderson ve arkadaşları tarafından mitokondriyal genomun dizisi tam olarak gösterilmiştir (11). 1988'de Holt ve arkadaşları 72 hasta üzerinde yaptıkları araştırmada mitokondriyal genomda 30'a yakın delesyon tanımlamıştır (12). Walker ve Boyer'in özellikle ATP sentezinde ve oksidatif fosforilasyonda yer alan komplekslerin yapı ve bileşimlerinin belirlenmesi konusundaki araştırmaları 1997

yılında Nobel Ödülü'nü kazanmalarını sağlamıştır. Patojenik mitokondriyal deoksiribonükleik asit (mtDNA) mutasyonlarının keşfi ve “mitokondriyal genetik”in aydınlatılması, tıpta eşsiz bir ilerleme ve büyük bir heyecan yaratmıştır. 1980’li yıllardan sonra mitokondriyal genomda birçok mutasyon saptanmıştır (13, 14). Günümüze kadar, mitokondriyal genomda 250’den fazla patojenik nokta mutasyon, delesyon, insersiyon ve yeniden düzenlenme olduğu gösterilmiştir (15). Mitokondriyal hastalıkların sadece mitokondriyal genomdaki mutasyonlardan kaynaklı olmadığı, nükleer genomdaki mutasyonlara bağlı olarak da ortaya çıkabileceği gösterilmiştir (16).

## 2.2. Epidemiyoloji

Mitokondriyal hastalığın prevalansının araştırılması, klinik ve genetik heterojenliğin bir sonucu olarak oldukça zordur. Pediatrik hasta grubunda mitokondriyal hastalığa yönelik yayınlanmış ilk çalışma 15 yıllık bir dönemde İsveç’in batısında Göteburg’da yürütülen 358.616 çocuğun olduğu popülasyonda yapılmıştır (17). Darin ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada okul öncesi çocuklarda (<6 yaş) mitokondriyal ensefalomiyopati insidansı 1/11.000 veya 8,9/100.000, 16 yaşın altındaki çocuklarda prevalansı 1/21.000 bulunmuştur. Benzer bir çalışma Avustralya’nın güneyindeki Melbourne Çocuk Hastanesi’nde 10 yıllık bir zaman diliminde yapılmıştır (18). Bu çalışmada doğumda prevalans 20.000’de 1 olarak belirlenmiştir. İspanya’da yapılan bir çalışma ise, 14 yaşın üzerindeki bir popülasyonda mitokondriyal hastalık prevalansının 100.000’de 5,7 olduğunu göstermektedir (19).

Çalışmaların tümü farklı coğrafi bölgelerde ve popülasyonlar üzerinde olmasına rağmen, birbiriyle uyumlu sonuçlar vermektedir; prevalans için 20.000’de 1 rakamının muhtemelen doğru olduğunu ve en yaygın kalıtsal metabolik hastalıklar arasında solunum zinciri bozukluklarının olduğunu göstermektedir.

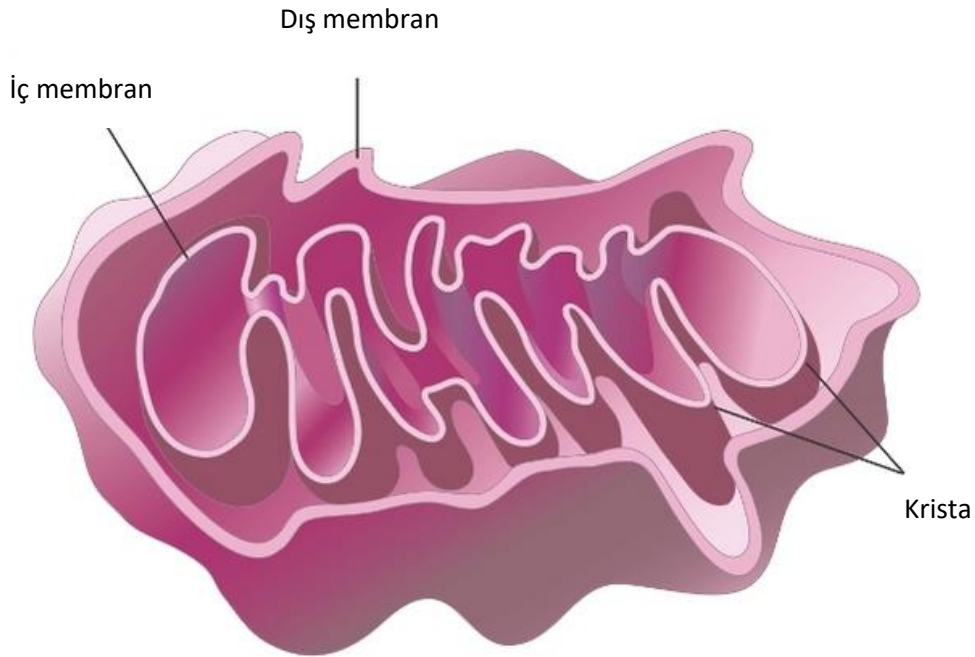
Mitokondriyal genomdaki mutasyonların görülme sıklığına yönelik yapılan çalışmalardan ilkinde mitokondriyal bozukluklara ait sendromlardan biri olan MELAS (mitokondriyal miyopati, ensefalopati, laktik asidoz ve inme benzeri ataklar) grubunda sık görülen mitokondriyal transfer ribonükleik asit (tRNA)(leu) A3243G nokta

mutasyonunun prevalansı araştırılmış ve 100.000 erişkinde 16,3 olarak bulunmuştur (20).

İngiltere'nin kuzeydoğusunda semptomatik mitokondriyal hastalığı olan yetişkin hastalarda yapılan bir çalışmada patojenik mtDNA mutasyonlarının tahmini prevalansı 100.000'de 20 ve patojenik nükleer DNA (nDNA) mutasyonlarının prevalansının 100.000'de 2,9 olduğu bulunmuştur (21).

### 2.3. Mitokondri Yapısı

Mitokondri kendi genomuna sahip, hücrenin enerji ihtiyacının karşılanmasında önemli rol oynayan bir organeldir. Dış membran, iç membran, krista, matriks ve membranlar arası boşluktan oluşmaktadır (Şekil 2.1.). Mitokondriler kendi mtDNA'ları ile RNA (ribonükleik asit) ve protein sentezleme sistemlerine sahip eski bakteriyel simbiyontlardır (22). 1-7 mikrometre uzunluğunda çubuk şeklinde olabildikleri gibi, 2-3 mikrometre çapında küresel şekilde de olabilmektedirler (23).



**Şekil 2.1.** Mitokondrinin yapısı

Mitokondri, mitokondriyal matriks ve intermembranöz boşluğu çevreleyen farklı mimari ve fonksiyonlara sahip iç ve dış mitokondriyal membranlarla çevrili bir organeldir (24). İç ve dış membranlar farklı fosfolipid bileşimleri ve protein-lipid

oranlarına sahiptir. Dış membran için bu oran yaklaşık %50:50, iç membranda ise %75:25'tir (25).

Mitokondri dış membranı, organelin şeklini kontrol etmekte ve hücrenin geri kalanıyla mitokondrinin iletişimini sağlamada önemli rol üstlenmektedir. Mitokondriyal dış membranda porin olarak da bilinen voltaj bağımlı anyon kanalları yer almaktadır. Büyüklüğü 5000 daltondan daha küçük moleküllerin geçişinde, iyon ve metabolitlerin serbest difüzyon ile geçişinde bu kanallar görev almaktadır. Ayrıca mitokondriyal olarak uyarılan apopitozda önemli rol oynayan bir kanaldır (26, 27). Sitozolda sentezlenen mitokondriyal prekürsör proteinlerin mitokondriye girişi dış membran yapısında yer alan dış membran translokaz (TOM) proteini aracılığı ile olmaktadır (28).

Yapısındaki protein içeriği fazla olan mitokondri iç membranında iyon ve metabolik substratlar gibi küçük moleküllerin taşınmasında görev alan 49 farklı metabolit taşıyıcı protein yer almaktadır (29). Mitokondri iç membranında oksidatif fosforilasyonda ve ATP üretiminde görev alan solunum zinciri kompleksleri de yer almaktadır.

İntermembranöz boşluk iki bölüme ayrılmaktadır: iç ve dış mitokondri zarları arasında yer alan dar bir boşluk olan ve protein aracılı temas alanları da olan intermembranöz sınır ve matriks içine uzanan nispeten uzun tübüller veya kıvrımlar oluşturan krista yapıları (30).

İntermembranöz boşluğun protein içeriği matrikse göre daha azdır. En önemli olanı sitokrom c olup, normal hücrelerde solunumda ve sitozolda serbest kalması halinde apoptotik indüksiyonda yer alır. Sitokrom c'ye ek olarak, diğer apoptotik indükleyicilerin kofaktörleri veya disülfid bağı içeren çeşitli küçük proteinler içerir (31).

Proteomik analizleri ve biyokimyasal verileri kullanarak Calvo ve arkadaşları mitokondri içinde ortalama 1500 kadar farklı protein yapısı tespit etmiş ve bunların 1040 tanesini tanımlamışlardır (32). Bu proteinlerin birçoğu matriks yapısında yer almaktadır ve konsantrasyonu 560 mg/ml'e kadar ulaşabilmektedir (33). Matriks, trikarboksilik asit (TCA) döngüsü, yağ asidi oksidasyonu, Fe-S biyogenezi ve hem sentezi gibi birçok metabolik süreçte yer alan çeşitli enzimleri içerir. Matriks ayrıca

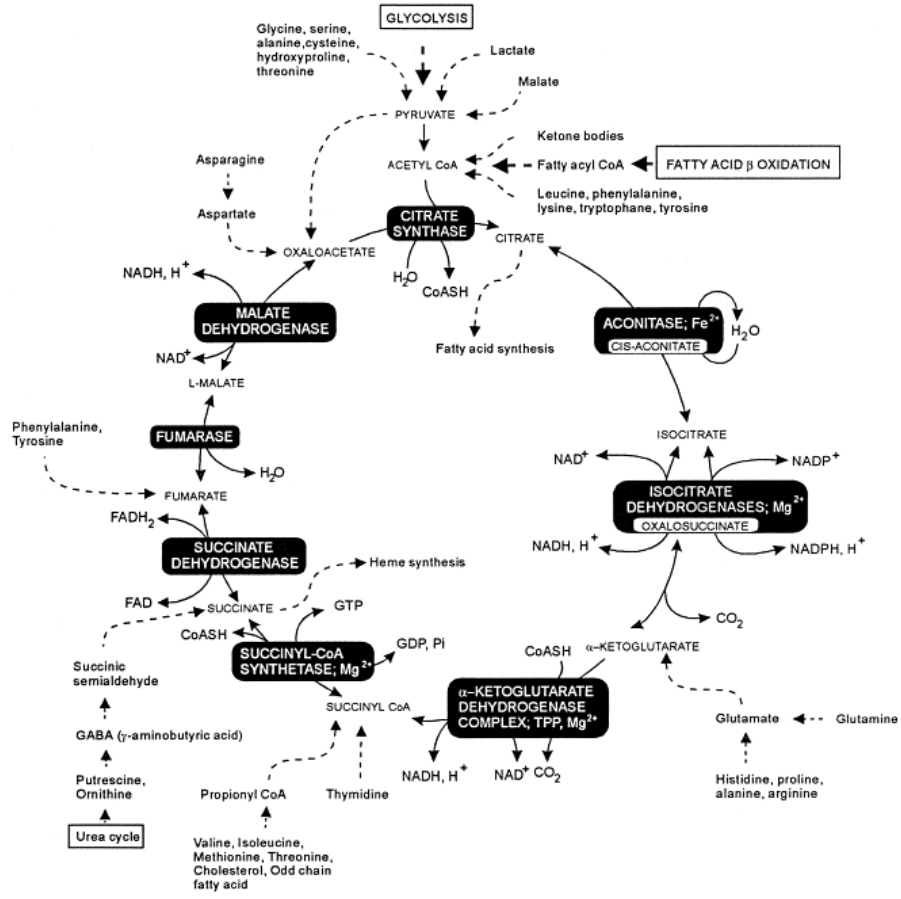
çok sayıda mtDNA kopyası ve replikasyonun yanı sıra transkripsiyon ve translasyonda görev alan protein yapıları da içerir.

#### **2.4. Mitokondrinin İşlevleri**

Mitokondrinin hücre içinde enerji üretimi, fosfolipid ve hem biyosentezi, kalsiyum homeostazının sağlanması, apoptotik aktivasyon ve hücre ölümü gibi birçok önemli görevi bulunmaktadır. Hücre içinde hem reaktif oksijen türevlerinin üretiminin, hem de hücrenin antioksidan savunma mekanizmalarının ana merkezidir (34).

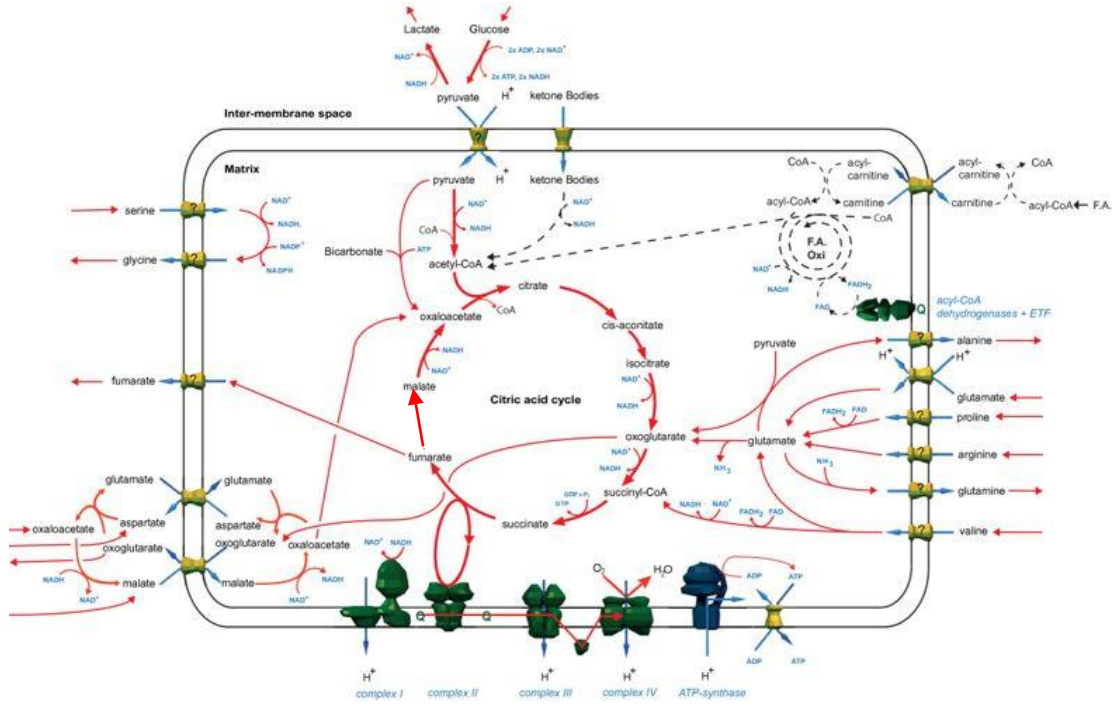
Mitokondri ATP üretebilmek için karbonhidrat, yağ ve proteinlerin oksidasyonunda kullanılan başlıca enzimatik sistemleri içerir. Bu üç substrattan her biri, asetil koenzim A (asetil CoA)'ya katabolize edilir ve mitokondriyal matrikste yer alan sitrik asit döngüsüne girer. Karbonhidratlar sitozol içinde glikolizasyon reaksiyonu sonrasında mitokondriye piruvat olarak girer, piruvat dehidrogenaz ile asetil CoA'ya dönüşür. Beta oksidasyon ile, yağ asitleri mitokondri içerisinde asetil CoA'ya dönüştürülür. Belirli amino asitlerin piruvat, asetil CoA veya doğrudan sitrik asit döngüsündeki ara maddelere dönüştürülmesi için mitokondri içinde enzimler mevcuttur (şekil 2.2.) (35).





**Şekil 2.2.** Protein, karbonhidrat ve lipitlerin TCA sistemine katılması (35).

TCA veya Krebs döngüsü olarak da bilinen sitrik asit döngüsünde, iki karbonlu asetil CoA, altı karbonlu sitrati oluşturabilmek için dört karbonlu oksaloasetata aktarılır. Sitrata yedi enzimatik reaksiyon ile oksaloasetata okside olur, fazla iki karbon karbondioksit ( $CO_2$ ) molekülü olarak taşınır ve elektronlar, nikotinamid adenin dinükleotid (NADH) ve flavin adenin dinükleotid ( $FADH_2$ ) kofaktörleri ile mitokondriyal elektron taşıma zincirine taşınmak üzere geçer. Serbest kalan oksaloasetat tekrar döngüye katılır (şekil 2.3.) (36).



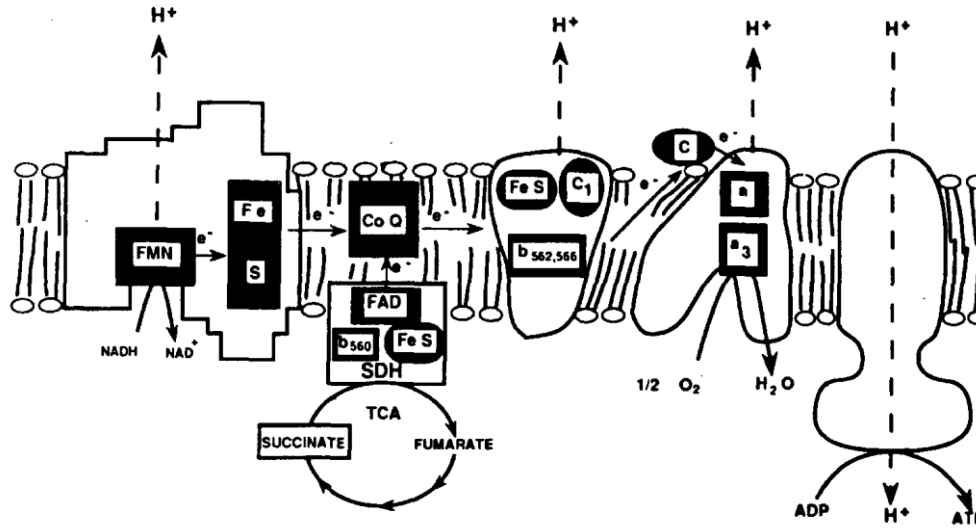
**Şekil 2.3.** Sitrlik asit döngüsü (36).

Elektron transfer zinciri, iç mitokondriyal membrana gömülü bir dizi çok parçalı protein kompleksinden oluşur. Burada, NADH ve FADH<sub>2</sub> tarafından sitrik asit döngüsünden sağlanan elektronlar, protonların matriksten intermembran boşluğa pompalanmasını sağlamak için kullanılır ve iç mitokondriyal membran boyunca potansiyel bir fark yaratılır. Bu potansiyel fark, oksidatif fosforilasyonun son aşamasında ATP sentezi için kullanılır.

NADH, solunum komplekslerinin en büyüğü NADH dehidrogenaz veya kompleks I'e bağlanarak serbest enerjiyi elektron transfer zincirine verir. Bu L-şekilli enzim, iç mitokondriyal membranda gömülü bir hidrofobik alan ve NADH bağlanma bölgesini de içeren mitokondriyal matrikse doğru çıkıntı yapan hidrofilik bir kol içerir. Kompleks I yedisi mtDNA tarafından kodlanan 45 alt üniteden oluşmaktadır. NADH'nın sitrik asit döngüsünden aldığı iki elektron kompleks I'in hidrofilik kolunda bulunan bir flavin mononükleotid prostetik grubuna, daha sonra koenzim Q'ya aktarılır ve protonlar intermembranöz boşluğa pompalanır. Elektron transfer zincirine taşınmak üzere NADH elektronları kompleks I'e aktarırken, elektron transfer zincirinin de bir parçası olan süksinat dehidrogenaz sitrik asit döngüsünde flavin adenin dinükleotidin (FAD) FADH<sub>2</sub>'ye redüksiyonunu katalize eder. Kompleks II

olarak da bilinen dört alt gruptan oluşan bu enzim 123 kDa büyüklüğünde, tıpkı kompleks I gibi iç mitokondriyal membran içerisinde yer almakta ve elektronları koenzim Q'ya aktarmak üzere prostetik grup olarak FAD içermektedir (37). Solunum zinciri kompleksleri arasında nDNA tarafından kodlanması açısından tek olan bu kompleks, mitokondriyal matriksten intermembranöz boşluğa hiçbir proton pompalamaz. Kompleks I ve kompleks II tarafından indirgenen koenzim Q, elektronlarını elektron transfer zincirinin üçüncü kompleksi olan sitokrom c redüktaza vermek için iç mitokondriyal membrana diffüze olur. Dört elektron taşıma kompleksinin en küçüğü olan sitokrom c redüktaz, koenzimi Q'yu okside eder ve serbest kalan iki elektronu, apoptozda da önemli bir rol oynayan suda çözünür bir redoks proteini olan sitokrom c molekülüne geçer (38). Koenzim Q'nun oksidasyonundan elde edilen iki proton, intermembranöz boşlukta biriktirilir ve mitokondriyal matriksten translokasyona uğrar. Solunum zincirinin en son parçası olan kompleks IV, sitokrom c'nin moleküler oksijeni indirgemesinde katalizör görevi görür. Bu reaksiyonun yanı sıra dört proton, mitokondriyal matriksten intermembranöz boşluğa pompalanır. Elektron transferinden sağlanan enerji, kompleks I, III ve IV tarafından mitokondriyal matriksten intermembranöz boşluğa proton (H<sup>+</sup>) pompalamak için kullanılır. Böylece proton gradienti oluşur. İntermembranöz boşlukta toplanan protonlar kompleks V olan ATP sentetaz tarafından matrikse geçirilirken ATP oluşumu sağlanır.

Kompleks V, F<sub>1</sub> ve F<sub>0</sub> birimlerini içerir. İç membranda bulunan transmembran proton kanalı F<sub>0</sub> proton translokasyonundan sorumluyken, matrikse uzanan F<sub>1</sub> birimi ATP sentetazı bulundurur ve katalizör görevi görür. Oksidatif fosforilasyon olarak adlandırılan bu olayda F<sub>0</sub>'dan proton akışı sırasında F<sub>1</sub>'de gama alt birimi etrafında rotasyon olur ve ADP ile inorganik fosforun ATP sentaz ile ATP'ye dönüştürülmesi ile sonuçlanır (şekil 2.4.) (39).

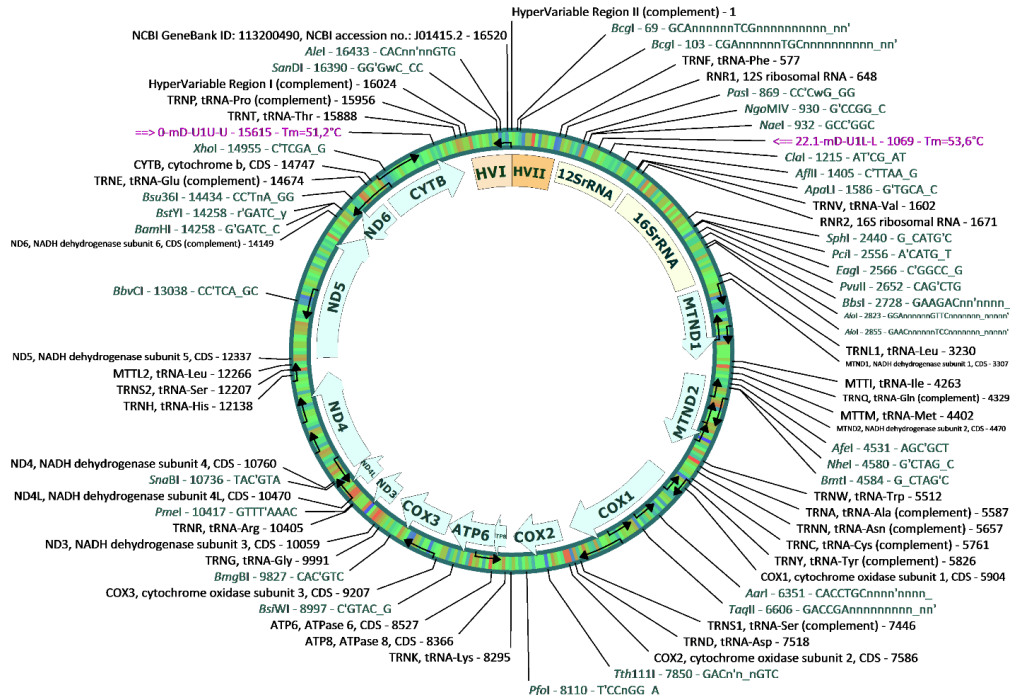


Şekil 2.4. Elektron transfer zincirinde elektronların taşınması (39).

## 2.5. Mitokondriyal Genetik

Mitokondriler kendi genomlarına sahiptir. Her mitokondri birçok mtDNA kopyası içermektedir ve her hücrede birçok mitokondri, dolayısıyla bir hücrede yüzlerce mtDNA kopyası vardır (poliplazmi) (40). Sperm, ovumu dölleyeceği zaman enzimler yardımıyla hücre zarını eriterek yumurta hücresinin içine yalnızca kendi DNA'sını bırakır, sperm mitokondrisi erken embriyogenezde seçici destrüksiyon, inaktivasyon veya oosit mitokondrilerinin fazlalığına bağlı olarak basit seyreltme ile ortadan kalkar ve mtDNA maternal kalıtım ile bir sonraki kuşağa aktarılır. Farelerde birkaç nesil sonra polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) yöntemi ile çok az miktarda paternal kalıtılan mtDNA tespit edilmiştir (41). İnsanlarda da mitokondrinin paternal aktarımı olan bir mitokondriyal miyopati vakası bildirilmiştir (42).

İnsan mitokondriyal genomu sadece 37 gen içeren 16.6 kb uzunlukta, halkasal çift sarmal bir DNA molekülüdür. (Şekil 2.5) Bu genlerin 13'ü proteinleri kodlar ve geriye kalan 24 gen ise 2 ribozomal RNA (rRNA) ve 22 tRNA'yı kodlar (43).



Şekil 2.5. İnsan Mitokondriyal DNA'sı (11).

Mitokondri DNA sarmalının iplikleri G+T baz bileşimine göre ağır ve hafif zincir olarak ayrılmaktadır; ağır zincir guaninden zengin, hafif zincir sitozinden zengindir (44). 2 RNA, 14 tRNA ve 12 polipeptid kodlanması için gerekli olan bilgiler ağır zincir üzerinde, 8 tRNA ve tek polipeptid için gerekli bilgiler ise hafif zincir üzerindedir. 13 proteinin tamamı, oksidatif fosforilasyonda kullanılan enzim komplekslerinin bileşenleridir. Oksidatif fosforilasyonda yer alan kompleks I'deki 46 polipeptidinden yedisini, kompleks III'teki 11 proteinden birini, kompleks IV'teki 13 proteininden üçünü ve kompleks V'teki 16 proteininden ikisini içerir. Polimerazlar, ribozomal proteinler, yapısal proteinler ve enzimler dahil olmak üzere kalan proteinleri nDNA sentezlemektedir.

Memeli mtDNA'sına ait genler introndan yoksundur ve bir düzenleyici bölge dışında, intergenetik sekansları yoktur veya birkaç bazla sınırlıdır. Mitokondriyal genlerin çoğu bitişiktir, bir ya da iki tane kodlamaya katılmayan baz çifti ile ayrılmaktadır. MtDNA sadece bir tane kodlamaya katılmayan *displacement loop* (D-loop) adı verilen kontrol bölgesi içermektedir. Ağır zincirin replikasyonunu kontrol eder ve iki zincirde transkripsiyon için promotor bölge görevi görür (45).

Hücreler binlerce mtDNA molekülü içerir ve genellikle içerdikleri mtDNA sekansları benzerdir. Bu durum homoplazmi olarak isimlendirilir. Heteroplazmi ise,

bir hücrede veya bir dokuda meydana gelen *de novo* veya maternal iletilen bir mtDNA mutasyonu sonucu oluşan birden fazla mtDNA varyantının varlığını gösterir. Mutasyonun oluşturduğu biyolojik etki hücrenin mutant mtDNA oranına bağlı olarak değişiklik gösterebilir. Günümüzde insanda mtDNA heteroplazmisinin ne sıklıkta olduğu bilinmemektedir (46, 47). Çoğu mtDNA hastalığı heteroplazmiktir ve fenotipleri patojenik varyantın allel sıklığına bağlıdır (48). Heteroplazmi seviyesi nesiller arasındaki genetik geçiş boyunca “*bottleneck* etkisi” ile oogenez sırasında mtDNA segregasyon ünitelerinin sayısında azalmayla dramatik olarak değişebilmektedir (49).

Fertilizasyondan sonra mtDNA varyantları, hücre bölünmesi sırasında mitotik segregasyona bağlı olarak hücreler arasında rastgele dağıtılır (50). Böylelikle tekrar bölünen hücreler, saf mutant veya saf normal mtDNA’lar içeren genotipe dönüşebilirler.

MtDNA kromozomal DNA’ya göre daha yüksek oranda mutasyona uğramaktadır. MtDNA’nın koruyucu işlevi olan histon proteinlerinin olmaması, oksijen radikallerinin mitokondri ortamında yoğun olması, mtDNA replikasyonunu katalize eden DNA polimeraz enziminin 3'-5' ekzonükleaz aktivitesi olduğu halde ekzisyon-onarım fonksiyonunun bulunmaması, mtDNA’nın kromozomal DNA’dan daha fazla replikasyon döngüsü geçirmesi ve replikasyon döngüsünün nisbeten yavaş ve asimetrik ilerlemesi nedeniyle spontan mutasyonlara açık bir hedef olmasına neden olur. mtDNA’nın mutasyonunun nDNA’dan 10-20 kat daha fazla olduğu bilinmektedir (51).

## 2.6. nDNA ve Mitokondri ile İlişkisi

Mitokondride olan replikasyon, transkripsiyon, translasyon ve mtDNA tamirinde rol oynayan proteinler nDNA tarafından kodlanmaktadır (52, 53). nDNA üzerinde yer alan mitokondriyal DNA polimeraz gama geni (*POLG-1*), mitokondride nükleotidlerin oluşumunu sağlayan timidin fosforilaz (*TP*), timidin kinaz 2 (*TK2*), deoksiguanozin kinaz (*DGUOK*) ve adenin nükleotid translokaz (*ANT*) genleri mitokondrinin devamlılığı açısından önemlidir. Sitokrom c gen bölgesinin izolasyonu sonrasında nDNA’nın mitokondriyal solunum fonksiyonları üzerindeki etkisini araştıran çalışmalar hız kazanmıştır. Sitokrom c kontrol bölgesinin sistemik analizi

sonrasında nükleer respiratuar faktör 1 (NRF-1) olarak tanımlanan transkripsiyon bölgesi ortaya çıkarılmıştır (54). Mitokondriyal solunum fonksiyonu için gerekli olan nükleer genlerin promoterlerinde spesifik NRF-1 bağlanma bölgeleri bulunur. NRF-1, beş solunum kompleksinin alt birimlerini kodlayan nükleer genlerin büyük çoğunluğu dahil olmak üzere mitokondriyal solunum fonksiyonu için gerekli birçok genin ekspresyonu için gereklidir (55). Bununla birlikte NRF-1, 5-aminolevulinat sentaz ve üroporfirinojen III sentaz gibi hem biyosentezinde anahtar rol oynayan enzimlerin ekspresyonunda da görev almaktadır. Mitokondriyal transkripsiyon faktörünü aktive eden NRF-1'in solunum zincirinin transkripsiyonunun yanı sıra mitokondriyal biyogenezdeki olayları düzenleme noktasında da önemli bir rolü olduğu düşünülmektedir.

Transkripsiyon faktörü nükleer faktör eritroid 2 (NFE2) ile ilgili faktör 2 (NRF-2; gen adı NFE2L2), antioksidan, anti-enflamatuar ve detoksifikasyon enzimleri de dahil olmak üzere, çeşitli sitoprotektif proteinlerin gen ekspresyonunu düzenleyerek stres koşulları altında adaptasyon ve hayatta kalmayı sağlar. NRF-2 glutatyon, tioredoksin ve nikotinamid adenin dinükleotid fosfatın (NADPH) biyosentezini, kullanımını ve rejenerasyonunu düzenleyerek ve mitokondri ve NADPH oksidaz tarafından reaktif oksijen türevlerinin üretimini kontrol ederek hücrel redoks homeostazının korunmasında önemli bir role sahiptir (56).

Sitokrom c oksidaz ve ATP sentaz alt birimlerinin transkripsiyonu da, proksimal promoter içindeki tanıma bölgeleri aracılığıyla NRF-2 ile doğrudan aktive edilir; bu da NRF-2'nin sitokrom oksidaz alt birim gen ekspresyonunun genel aktivatörü olduğunu düşündürmektedir (57).

Nükleer hormon reseptör süper ailesinin üyesi olan peroksizom proliferatör-aktive reseptör  $\alpha$  ve  $\delta$  (PPAR  $\alpha$  ve  $\delta$ ), kalp, böbrek ve iskelet kası dahil olmak üzere yüksek oranda yağ oksidasyonu olan dokularda yağ asidi oksidasyon enzimlerinin transkripsiyonunun düzenleyicileri olarak gösterilmiştir (58).

nDNA üzerinde gösterilen bir diğer gen ise solunum geni ekspresyonu ve mitokondriyal biyogenezinde görev alan *c-myc*'dir. *C-Myc*, belirli NRF-1 bölgelerinde bulunan Myc/MAX bağlanma bölgelerine bağlanarak sitokrom c ve diğer NRF-1 hedef genlerini indükleyebilir ve NRF-1 hedef genlerinin düzenini bozarak hücreleri apoptozise duyarlı hale getirebilir (59).

Transkripsiyonel koaktivatörlerin bir ailesinin kurucu üyesi olan peroksizom proliferatör-activated reseptör-gamma koaktivatör (PGC-1), farklılaşmış kahverengi yağ hücrelerinde, adiposit farklılaşmasının önemli bir regülatörü olan PPAR ile etkileşimi temelinde tanımlanmıştır (60). PGC-1, transkripsiyonda görev alan *TFAM*, *TFB1M* ve *TFB2M* genlerinin aktivasyonu yoluyla mitokondriyal transkripsiyon mekanizmasında görev almaktadır. mRNA ekspresyonunun artmasına yol açan *TFAM* ve *TFB* promoterleri içindeki NRF-1 ve NRF-2 tanıma bölgelerini hedefler.

Sonuç olarak nDNA mitokondri içindeki birçok yaşamsal fonksiyon için gerekli olan enzim ve proteinin genetik kodlarını içinde barındırır. Dolayısıyla nDNA'da meydana gelebilecek mutasyonlar karşımıza mitokondriyal hastalıklar olarak çıkabilmektedir.

### **2.7. Mitokondriyal Hastalıkların Genetik Sınıflandırılması**

Günümüze kadar 250'nin üzerinde patojenik mtDNA mutasyonu tanımlanmıştır (15). Bu mutasyonlar mtDNA replikasyonu, transkripsiyonu, nükleotid mekanizması, füzyon, bölünme ve hareketlilik ile ilgili proteinleri kodlayan genlerden kaynaklanmaktadır. mtDNA mutasyonlarına bağlı olarak oluşan morbidite haritası şekil 2.6 'da gösterilmiştir (61).





### 2.7.1.2. *TWNK*

Polimeraz  $\gamma$ , *TWNK* geni (10q24.31; 11.866 bp; 6 ekzon) tarafından kodlanan TWINKLE helikaz ile birlikte çalışmaktadır. TWINKLE mitokondriyal DNA replikasyonu için gerekli 5'-3' mitokondriyal helikazdır. Hidrojen bağları ile açarak çift sarmallı DNA zincirini açma ve bağlama görevi görmektedir.

Bilinen mutasyonlar eksik mtDNA sentezi ile sonuçlanmakta ve mtDNA'nın delesyonu ve depleksiyonuna yol açmaktadır (64).

### 2.7.1.3. *SSBP1*

*SSBP1* geni (7q34; 12.180 bp; 9 ekzon) tarafından kodlanan tek zincirli DNA bağlayıcı protein 1 (SSBP1)'in ana görevi replikasyon çatalına replike olmuş DNA parçalarının bağlanmasını önleyerek stabilize etmektir. Bu gende patojenik varyantlar tanımlanmamıştır.

### 2.7.1.4. *PRIMPOL*

*PRIMPOL* geni (4q35.1; 52.334 bp; 16 ekzon) nükleer ve mitokondriyal primazı ve DNA polimerazı kodlar; mtDNA replikasyonunun başlatılmasında önemli bir rol oynar. *PRIMPOL* geninin insan fibroblastlarındaki bozukluklarında, çoklu mtDNA delesyonlarına ve depleksiyonlarına yol açar. Bu gendeki mutasyonların otozomal dominant miyopiye neden olduğu gösterilmiştir (65).

### 2.7.1.5. *DNA2*

DNA2/NAM7 helikaz ailesinin bir üyesi olan DNA2, *DNA2* geni tarafından kodlanan bir DNA replikasyon helikaz/nükleaz 2 enzimidir (10q21.3; 58.458 bp; 22 ekzon). *DNA2*'deki mutasyonlar mitokondriyal DNA delesyonları ile otozomal resesif Seckel sendromu-8 ve otozomal dominant progresif eksternal oftalmopleji ile ilişkilidir (66).

### 2.7.1.6. *MGME1*

*MGME1* geni (20p11.23; 22.529 bp; 8 ekzon), mtDNA onarımında yer alan mitokondriyal genom bakım ekzonükleaz 1 (MGME1) proteinini kodlamaktadır (67).

*MGME1* fonksiyon kaybı mutasyonları, mitokondriyal DNA hasarı, delesyonlar, duplikasyonlar ve yeniden düzenlemelerle mitokondriyal hastalığa yol açar ve mitokondriyal DNA deplesyon sendromu-11 ile sonuçlanır.

#### **2.7.1.7. *RNASEH1***

*RNASEH1* geni (2p25.3; 33.559 bp; 14 ekzon) tarafından kodlanan Ribonükleaz H1, hem nükleus hem mitokondrilerde hem DNA replikasyonu hem de onarım işlemlerinde kullanılan bir endonükleazdır. İnsanlarda, *RNASEH1*'deki mutasyonların mtDNA delesyonları ile otozomal resesif PEO ilişkili olduğu gösterilmiştir (68).

### **2.7.2. mtDNA'nın Transkripsiyonunda Yer Alan Proteinleri Kodlayan Genler ve Mutasyonları**

#### **2.7.2.1. *POLRMT***

*POLRMT* geni (19p13.3; 23,346 bp; 21 ekzon) tarafından kodlanan mitokondriyal RNA polimeraz, mitokondriyal genomun transkripsiyonundan sorumludur ve ayrıca mtDNA replikasyonu için primerler sağlar; bu nedenle enzim yapısındaki tüm değişiklikler mtDNA stabilizasyonunu etkileyebilir. TFB1M ve TFB2M, *POLRMT* ile doğrudan etkileşime girer, promotör tanımayı destekler ve tek başına RNA polimerazı ile karşılaştırıldığında transkripsiyon verimliliğini 100-200 kat artırır (69).

#### **2.7.2.2. *TFAM***

*TFAM* (10q21; 14.088 bp; 9 ekzon), TCF6L3 veya mtTFA olarak da bilinen mitokondriyal transkripsiyon faktörü A kodlayıcı genidir. *TFAM* mitokondriyal transkripsiyonun önemli bir aktivatörüdür, mitokondriyal DNA replikasyonu ve kopya sayısı regülasyonunda önemli bir rol oynar. *TFAM* ekspresyonundaki değişim, protein seviyesinin değişmesiyle sonuçlanır ve mtDNA kopya sayısını etkiler. *TFAM* genindeki bir mutasyon yakın zamanda mtDNA deplesyonu ile giden neonatal karaciğer yetmezliğinin bir nedeni olarak tanımlanmıştır (70).

### 2.7.2.3. *TEFM*

*TEFM* geni (17q11.2; 7.933 bp; 4 ekzon) tarafından kodlanan mitokondriyal transkripsiyon uzama faktörü, transkript uzamasından sorumludur. *TEFM*, mitokondriyal RNA polimerazı ile bir kompleks oluşturur, katalitik alanı ile etkileşir, işlevselliğini artırır ve DNA replikasyon başlatma sürecini düzenler (71).

### 2.7.2.4. *TFB2M*

Mitokondriyal transkripsiyon faktörü B2, mitokondriyal 12S rRNA dimetilaz 2 veya mitokondriyal dimetiladenosin transferaz 2 mtTFB2 olarak da bilinen, *TFB2M* geni (1q44; 25.703 bp; 8 ekzon) tarafından kodlanan mtDNA transkripsiyon kompleksinin bir parçasıdır (72).

*POLMRT*, *TEFM* ve *TFB2M*'deki mutasyonlar henüz tarif edilmemiştir, ancak ekspresyonlarındaki değişiklikler mitokondriyal DNA instabilitesine neden olabilir ve mitokondriyal hastalıklara yol açabilir.

## 2.7.3. Nükleotid Metabolizmasında Rol Oynayan Proteinleri Kodlayan Genler ve Mutasyonları

### 2.7.3.1. *TK2*

*TK2* geni (16q21; 42.410 bp; 12 ekzon) mitokondriyal matriks enzimi timidin kinaz 2 (TK2)'yi kodlamaktadır. TK2, pirimidin kurtarma yolunun hız belirleyici adımını katalize eder ve deoksipirimidin nükleositlerinden fosforilasyon ile timidin monofosfat (TMP), sitidin monofosfat (CMP) ve deoksiüridini üretir (73). *TK2* mutasyonları mtDNA nükleotitlerinin geri dönüşümünü engelleyerek ilerleyici kas zayıflığı (miyopati) ve mtDNA deplesyon sendromu-2'ye neden olur. *TK2* geninde yaklaşık 30 patojenik mutasyon tanımlanmıştır (74).

### 2.7.3.2. *DGUOK*

*DGUOK* geni (2p13; 32.136 bp; 8 ekzon) tarafından kodlanan matriks enzimi olan deoksiguanozin kinaz, mtDNA sentezi için gerekli olan fosforlanmış pürinleri sağlar (75). Bu gendeki mutasyonlar mtDNA deplesyon sendromu-3'e (hepatoserebral tip) yol açar.

### 2.7.3.3. *RRM2B*

*RRM2B* geni (8q22.3; 34.618 bp; 9 ekzon) ribonükleotid redüktazın bir kısmı olan ribonükleotid redüktaz düzenleyici TP53 indüklenebilir alt birimi M2B'yi kodlamaktadır. *RRM2B*'deki mutasyonlar mtDNA depleksiyonuna yol açar (76). *RRM2B* genindeki mutasyonlarla ilişkili hastalıklar arasında mtDNA depleksiyon sendromu-8A (renal tubulopatili ensefalomiyopatik tip), mtDNA depleksiyon sendromu-8B ve mtDNA depleksiyonu ile olan progresif eksternal oftalmopleji yer alır.

### 2.7.3.4. *TYMP*

Timidin fosforilaz (TP), *TYMP* geni (22q13.33; 4.334 bp; 10 ekzon) tarafından kodlanan, nükleotid biyosentezi için önemli olan başka bir proteindir. *TYMP*'deki mutasyonlar, mitokondriyal nükleotid havuzunda nükleozitlerin birikmesine ve bir dengesizliğe yol açar ve mitokondriyal nörogastrointestinal ensefalomiyopati (MNGIE) tipi otozomal resesif mtDNA depleksiyon sendromu-1'e neden olur.

### 2.7.3.5. *SLC25A4*

Solüt taşıyıcı ailenin üyesi olan kalp kası spesifik izoformunu kodlayan *SLC25A4* geni (4q35.1; 7144 bp; 4 ekzon) *ANT1* olarak da bilinir. Bu mutasyonlar mtDNA'nın instabilitesinden sorumlu olarak bilinen ilk genlerdir (77). Gen ürünü mitokondriyal iç zarıda bir por oluşturur. *ANT1*, kas ve kalp gibi dokularda daha fazladır; ATP ve ADP transportunu düzenler; ADP'yi sitoplazmadan mitokondriyal matrikse ve ATP'yi matriksten sitoplazmaya aktarır (78).

*SLC25A4*'teki mutasyonlar otozomal dominant veya resesif bir şekilde kalıtılabilir. mtDNA depleksiyonları ile progresif eksternal oftalmoplejiye yol açabilir.

## 2.7.4. Mitokondriyal Füzyon, Bölünme ve Hareketlilik ile İlgili

### Proteinleri Kodlayan Genler ve Mutasyonları

#### 2.7.4.1. *OPA1*

*OPA1* (3q29; 104.668 bp; 32 ekzon) geni mitokondriyal dinamin benzeri guanozin trifosfataz (GTPaz)'ı kodlar. *OPA1*, mtDNA bakımında önemli bir rol oynamaktadır. *OPA1* genindeki mutasyonlar mtDNA çoklu depleksiyonlara yol

açmaktadır (79). *OPA1* genindeki 200'den fazla hem otozomal dominant hem de otozomal resesif karakterde mutasyonun olduğu gösterilmiştir. Otozomal dominant optik atrofi 1, optik atrofi sendromu ve otozomal resesif Behr sendromu ile ilişkilidir.

#### **2.7.4.2. MFN1**

*MFN1* geni (3q26.33; 47.253 bp; 17 ekzon), mitokondriyal dış membran içinde yer alan bir transmembran GTPazı kodlar. MFN1 (mitofusin 1), MFN2 (mitofusin 2) ile homomultimerleri ve heteromultimerleri oluşturur ve birlikte dış mitokondriyal membran füzyonundan sorumludurlar. *MFN1* mutasyonlarına atfedilen hiçbir insan hastalığı yoktur (80).

#### **2.7.4.3. MFN2**

*MFN1*'e benzer şekilde, *MFN2* geni (1p36.22; 33.335 bp; 19 ekzon) mitokondriyal dış zarı içinde yer alan bir transmembran GTPazı kodlar.

*MFN2*'deki mutasyonlar otozomal dominant Charcot-Marie-Tooth hastalığı aksonal tip 2A ve aynı zamanda otozomal dominant kalıtsal motor ve duyuşal nöropati VIA ve otozomal resesif Charcot-Marie-Tooth hastalığı aksonal tip Tip 2A2B'nin ana nedenidir (81).

#### **2.7.4.4. DNMIŁ**

*DNMIŁ* (12p11.21; 66.451 bp; 21 ekzon), mitokondriyal fonksiyonu düzenleyen ve mitokondri bölünmesi, füzyonu ve fisyonunda çok önemli bir rol oynayan GTPaz ailesinin başka bir üyesi olan dinamin-1-benzeri proteini kodlar (82). *DNMIŁ* genindeki mutasyonlar, defektif mitokondriyal ve peroksizomal bölünmeye bağılı olarak ölümcül olan ensefalopatiye neden olur.

#### **2.7.4.5. MFF**

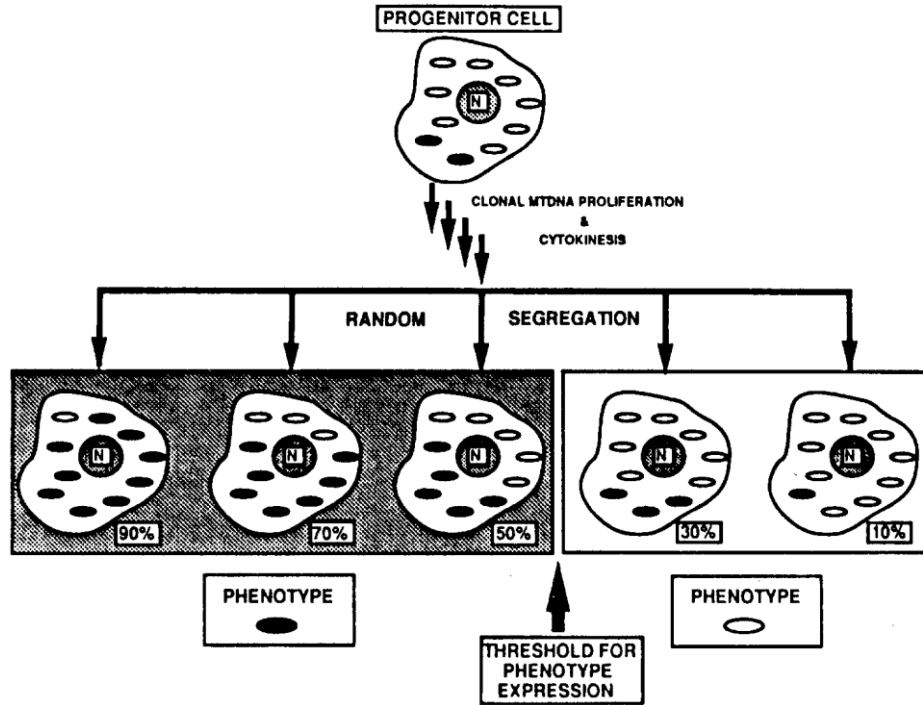
*MFF* geni, *DNMIŁ*'nin lokalizasyonu ve mitokondrinin bölünmesi için gerekli olan bir dış membran proteini olan mitokondriyal fizyon faktörünü (2q36.3; 32.686 bp; 13 ekzon) kodlar. *MFF*'deki mutasyonlar *DNMIŁ* mutasyonlarına benzer bir fenotipe yol açar (83).

### 2.7.4.6. *FIS1*

*FIS1* geni (7q22.1; 5479 bp; 5 ekzon) tarafından kodlanan tetratrikopeptid, *MFF*'den bağımsız olarak etki eder. *FIS1* mutasyonlarından kaynaklanan hiçbir hastalık tanımlanmamıştır.

## 2.8. mtDNA Heteroplazmi Dinamiklerine Ait Hipotezler

Klinik semptomların başlangıcı, fenotipik değişkenlik ve mitokondriyal hastalıkların değişken penetrasyonu, eşik etkisi, mitotik ayrışma, klonal genişleme ve genetik darboğaz gibi bir dizi faktör nedeniyle değişmektedir (Şekil 2.7.) (84).



Şekil 2.7. Mutant mitokondrilerin oogenesis sırasında dağılımı (84).

### 2.8.1. Eşik etkisi (*Threshold effect*)

Heteroplazminin varlığında, mutant mtDNA'nın normal mtDNA'ya oranı klinik semptomların başlangıcını belirler. Biyokimyasal bozukluk ve doku disfonksiyonu ortaya çıkmadan önce, mutasyona uğramış mtDNA'ların kritik bir oranı geçmesi gereklidir. Bu eşik seviyesi, her bir mutasyona göre değişir ve dokular arasında farklılık gösterir. Oksidatif fosforilasyon metabolizmasına büyük ölçüde

bağımlı olan dokularda bu eşik, anaerobik solunuma dayanabilen dokulardan daha düşüktür. Eşik değeri genellikle vahşi tip mtDNA için %60 ile %90 aralığındadır. Eşik seviyesi hastalarda gözlemlenen hastalık fenotiplerini kısmen açıklayabilse de, klinik şiddeti ile mtDNA mutasyonunun oranı arasında tam bir ilişki bulunamamıştır (85).

### **2.8.2. Mitotik Ayrışma**

Mitoz sırasında mitokondriler rastgele ayrıldığından heteroplazmik hücrelerde, mitoz sonrasında ortaya çıkan mutant mtDNA'nın oranı değişebilir. Mutant yük bu doku için patojenik eşiği aşarsa, hastalığın klinik ekspresyonu ortaya çıkabilir. Tersine, özellikle hızlı bölünen dokularda mutant mtDNA kaybolabilir. Örneğin, kandaki m.3243A>G mutasyon seviyelerinde ortalama yıllık % 1'lik bir azalma tanımlanmıştır (86).

### **2.8.3. Klonal Genişleme**

mtDNA mutasyonlarının bir dizi insan kök hücre popülasyonunda yaşla birlikte biriktiği ve hücrel enerji üretiminde bozuklukla sonuçlanan hücrelerde mitokondriyal disfonksiyona neden olduğu gösterilmiştir. MtDNA mutasyonlarının meydana geldiği ve bazı hücreler içinde birikmesi ile ilgili dinamikler klonal genişleme olarak bilinmektedir (87).

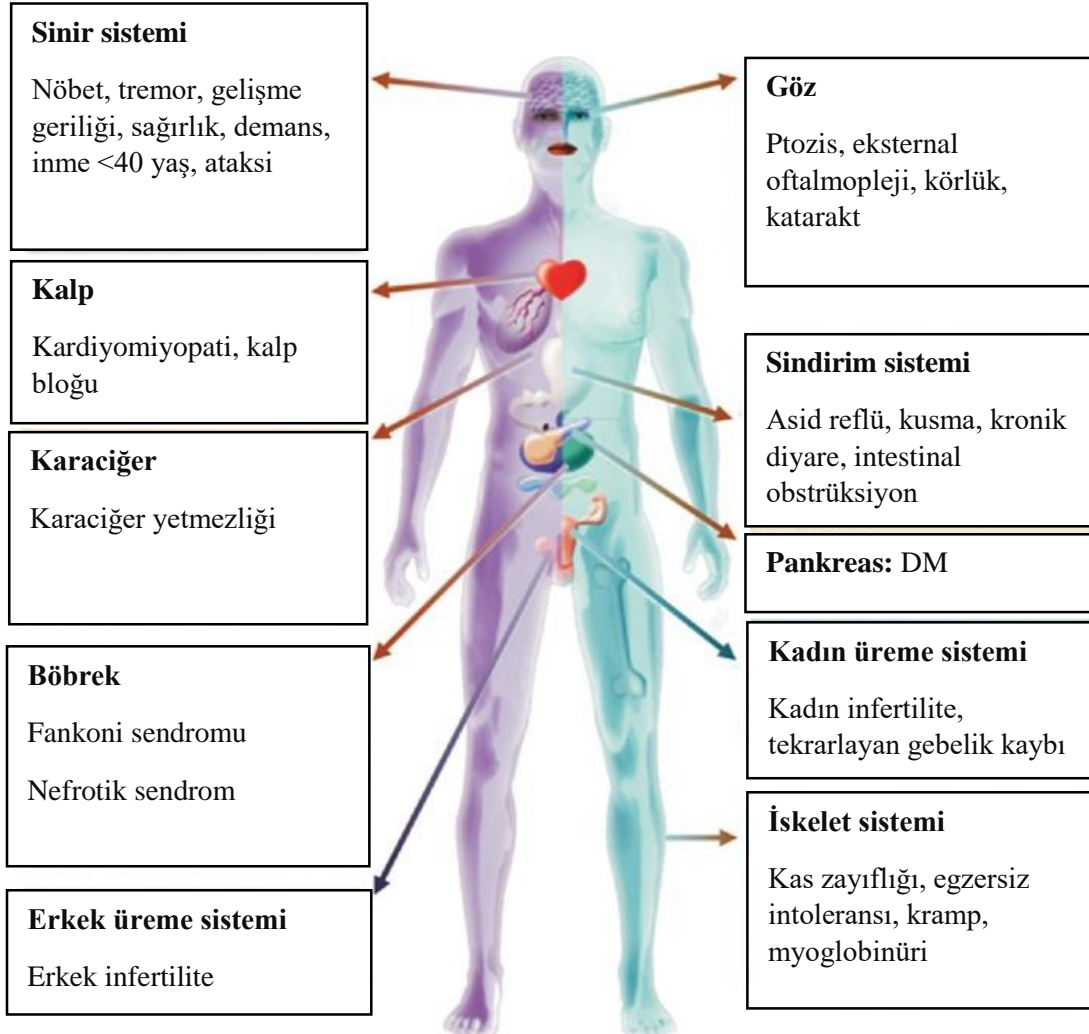
### **2.8.4. mtDNA Darboğaz**

Nesiller arasındaki memeli heteroplazmik mtDNA genotiplerinde hızlı bir ayrışmanın gözlemlenmesi, bazı nesillerde homoplazmiye dönüşle, gelişme sırasında bir mtDNA darboğazının varlığını düşündürmektedir. Yaygın bir hipotez, darboğazın embriyonik gelişim sırasında gerçekleşmesi, germline mtDNA kopya sayısında belirgin bir azalma ile ortaya çıktığı şeklindedir (88). Paradoksal olarak, darboğazın germline mtDNA kopya sayısının azalmadan gerçekleştiği, ancak oogenez sırasında bir mtDNA alt grubunun tercihli replikasyonunun bir sonucu olduğu öne sürülmüştür (89). Son olarak, genetik darboğaz üzerine üçüncü bir alternatif görüş önerilmiştir; genetik darboğazın, mitokondriyal genomların bir alt popülasyonunun replikasyonunun bir sonucu olarak, embriyonik oogenez sırasında değil, postnatal follükülogenez sırasında gerçekleşebileceği düşünülmektedir (90).



## 2.9. Mitokondriyal Hastalıkların Semptomları ve Sistemik Bulguları

Mitokondriyal hastalıklarda çeşitli sistem ve organ tutulumlarına ait farklı bulgular görülebilmektedir (Şekil 2.8.). Klinik bulgular hastadan hastaya farklılık gösterebilmektedir.



Şekil 2.8. Mitokondriyal hastalıkların organ tutulumları (91).

### 2.9.1. Sinir Sistemi Bulguları

Mitokondriyal hastalığı olan çocuklarda santral sinir sistemi semptomları sıklıkla görülür ve kognitif, dil ve motor becerilerin tümünün etkilendiği global gelişme geriliği en sık karşımıza çıkan semptomdur. Kognitif etkilenme hafif öğrenme güçlüğü ile ağır mental retardasyon arasında değişkenlik gösterebilir (92). Otizm

spektrum bozukluklarının semptomları da görülebilmektedir ve bir hipotez olarak mitokondriyal disfonksiyonun genel olarak otizm spektrum bozukluklarında hastalık mekanizmasının bir parçası olabileceği yönündedir. Nöbet tüm yaş grubunda sıklıkla görülmektedir. Bazal gangliada ve ekstrapirimal bölgedeki lezyonlardan ötürü hareket bozukluklarından özellikle distoniler pediatrik popülasyonda en sık görülen semptomlardır ve özellikle Leigh sendromunda görülür. Ayrıca ataksi de sık görülebilmektedir. Nörolojik semptomlardan gelişmede duraklama ya da mevcut yeteneklerin kaybı bazen progresif bazen hızlı olabileceği gibi yavaş progresyon da gösterebilmektedir. Hastaların önemli bir kısmında, inme benzeri ataklar, status epileptikus, koma, kusma veya letarji gibi akut nörolojik olaylar gözlenmektedir (93).

### **2.9.2. Kas Bulguları**

Miyopati mitokondriyal hastalıkta en sık görülen semptomlardan biridir. Pediatrik popülasyonda bazen ek semptomlarla birlikte ensefalomiyopatinin bir parçası olabilmektedir. İzole mitokondriyal miyopati tipik olarak aksiyal ve proksimal kas güçsüzlüğü le kendini gösterir. Distal kas güçsüzlüğü sporadik vakalarda bildirilmekle beraber, genellikle polinöropatili ve nörojenik kas zayıflığı olan hasta grubunda görülmektedir (91). Egzersiz intoleransı ve genel yorgunluk mitokondriyal miyopatinin diğer sık görülen semptomlarıdır. İnfantil başlangıçlı mitokondriyal miyopatide ise genellikle daha ağır seyreder. Hastalar genellikle hipotoniktir ve bazen mekanik ventilatör ihtiyacı bulunmaktadır.

### **2.9.3. Kardiyak Bulgular**

Kardiyomiyopatiler mitokondriyal hastalıkların en sık görülen kardiyak belirtileridir ve hastaların %20-40'ında meydana geldiği tahmin edilmektedir. Hipertrofik kardiyomiyopatiler en yaygın olanıdır, fakat dilate, restriktif ve diğer tip kardiyomiyopatiler de görülebilmektedir. Hastalık bazen asemptomatik, bazen kendiliğinden iyileşme gösterebilirken, bazen de erken bebeklikte hatta prenatal ölümlere neden olabilecek kadar şiddetli olabilmektedir. Aritmiler, iletim bozuklukları ve pulmoner hipertansiyon diğer nadir görülen kardiyak bulgulardandır (95).

#### **2.9.4. Oftalmolojik Bulgular**

Mitokondriyal hastalıktaki oftalmolojik bulgular sıktır. Ekstraoküler kaslar mitokondriden gelen enerjiye bağımlıdır. Bu nedenle, eksternal oftalmopleji mitokondriyal hastalığı olan hastalarda yaygın bir bulgudur. Optik atrofi genellikle Leigh sendromunda olduğu gibi santral sinir sistemi tutulumunun bir parçasıdır. Leber'in Herediter Optik Nöropatisi (LHON) olan hastalarda olduğu gibi izole olarak da görülebilir. Göz ile ilgili diğer bulgular katarakt, kortikal körlük ve homonim hemianopsi olarak karşımıza çıkmaktadır (96).

#### **2.9.5. Gastrointestinal Sistem ve Karaciğer Bulguları**

Mitokondriyal hastalığı olan hastaların %10-20'sinde hepatik tutulumun meydana geldiği ve genellikle erken çocukluk döneminde ortaya çıktığı bilinmektedir. Hastalık spektrumu geçici akut karaciğer transaminaz yüksekliğinden, yaşamın erken dönemlerindeki fatal karaciğer yetmezliğine kadar değişmektedir. mtDNA onarım bozuklukları, mitokondriyal protein sentez bozuklukları, solunum zinciri kompleks bozuklukları ve mitokondriyal lipid membran bozuklukları hepatopati oluşumunun patogenezini oluşturmaktadır. İshal, ekzokrin pankreas yetersizliğinden dolayı Pearson sendromunda sık görülmektedir. Malnütrisyon, beslenme güçlükleri ve kusma gibi şikayetler diğer yaygın olarak görülen gastrointestinal semptomlardır (97).

#### **2.9.6. Endokrin Sistem Bulguları**

ATP üretimindeki disfonksiyon, hormon üretiminde bozulma ve endokrinolojik semptomlara yol açar. Endokrinolojik bulgular, mtDNA'nın, özellikle de tRNA genlerindeki büyük ölçekli delesyonlar ve nokta mutasyonlarının neden olduğu fenotiplerde yaygın olarak görülmektedir. Nükleer gen defekti olan hastalarda da bu semptomlar ortaya çıkabilir.

Diabetes mellitus sadece yetersiz ATP üretimi nedeniyle insülin salgılanmasının azalması değil, aynı zamanda insülin bağlayan bir glukoz sensörü olarak mitokondriyal rolün bozulmasından kaynaklanmaktadır (98).

Büyüme hormonu eksikliği ve buna bağlı olarak boy kısalığı tespit edilebilir. Diğer endokrinolojik bulgular hipotiroidizm, hipoparatiroidizm, adrenal yetmezlik ve hipogonadizmdir (99).

### **2.9.7. Nefrolojik Tutulum Bulguları**

Mitokondriyal hastalığın renal bulguları, çok sayıda nükleer genin yanı sıra mtDNA mutasyonları ile ilişkili olarak bildirilmiştir. Yenidoğan döneminde tübülopati görülürken, çocukluk döneminde proksimal tübülopati, tübülointerstisyel nefrit, nefrotik sendrom, renal yetmezlik gibi bulgular görülebilir (100).

### **2.9.8. Hematolojik Sistem Bulguları**

Sendromik veya non-sendromik mitokondriyal hastalıklarda hematolojik anormallikleri sıklıkla anemi, trombositopeni, lökopeni ve eozinofili, daha az sıklıkla kombinasyonları oluşturmaktadır. Sideroblastik anemi diğer sık görülen bulgudur ve eritroblastların mitokondrilerinde aşırı demir birikmesiyle karakterizedir (101).

### **2.9.9. İşitme Problemleri**

İşitme bozukluğu ya da işitme kaybı, mitokondriyal fenotiplerin, mDNA'daki ve nDNA'daki mutasyonlardan kaynaklanan mitokondriyal hastalığın bir belirtisidir. Prevalansı farklı çalışmalarda değişmektedir, ancak asgari sıklığı yaklaşık %20 olarak belirtilmektedir (102).

### **2.9.10. Cilt Bulguları**

Cilt bulguları arasında multipl lipomatozis, pullu kaşıntılı eritem, retiküler pigmentasyon, hipertrikoz, egzema veya vitiligo yer almaktadır (103).

## **2.10. Mitokondriyal Sendromlar**

### **2.10.1. Leigh Sendromu (Subakut Nekrotizan Ensefalopati)**

Leigh sendromu özellikle beyin sapı, diensefalon ve bazal gangliyonları etkileyen ilerleyici nörodejeneratif bir hastalıktır. Leigh sendromunun klinik başlangıcı genellikle gelişim basamaklarının normal seyrettiği birinci yıldan sonra ortaya çıkar, hastalık seyri epizodik nörodejeneratif süreçle devam eder ve 3 yaşında kardiyak veya solunum yetmezliği nedeniyle ölümle sonuçlanır (104). Klinik belirtiler arasında motor gecikme, mental retardasyon ve/veya progresif bilişsel gerileme,

hipotoni, diskinezi, akinezi, ataksi, distoni, beyin sapı disfonksiyonu, solunum anormallikleri, yutma disfonksiyonu, oftalmolojik bulgular ve anormal termoregülasyon sayılabilir (105).

X'e bağlı resesif, otozomal resesif (OR) ve mitokondriyal geçiş görülebilir. Leigh sendromuna neden olan mitokondriyal ve nükleer genlerde 75'den fazla mutasyon tanımlanmıştır. Dokularda, dolaşımda veya beyin omurilik sıvısında laktat düzeyleri artar.

Nöropatolojik bulgular arasında demyelinizasyon, gliozis, fokal simetrik kistik kavitasyon izlenen nekroz alanlarının olması ve beynin spesifik bölgelerinde kapiller proliferasyon görülebilmektedir.

Leigh sendromunda en çok etkilenen alanlar substantia nigra, putamen ve dentate nükleustur. Tipik olarak, etkilenen alanlar bilgisayarlı tomografide (BT) hipodens; manyetik rezonans görüntüleme (MRG) T2 ağırlıklı sekanslarda hiperintens, T1 ağırlıklı sekanslarda hipointens olarak görülür.

### **2.10.2. Nöropati, Ataksi ve Retinitis Pigmentoza (NARP)**

NARP, çocukluk döneminde ortaya çıkan duyuşal nöropati, ataksi, pigmenter retinopati, nöbetler, öğrenme güçlükleri ve demans ve proksimal nörojenik kas güçsüzlüğü ile karakterizedir (106). Diğer klinik özellikler arasında kısa boy, sensorinöral işitme kaybı, progresif eksternal oftalmopleji, kalp ileti bozuklukları (kalp bloğu) ve hafif bir anksiyete bozukluğu bulunmaktadır.

NARP olan bir birey uzun yıllar boyunca nispeten stabil olabilir, ancak sıklıkla viral hastalıklar ile ilişkili olarak epizodik bozulmalar yaşayabilir.

Mitokondriyal genomdaki *ATPaz 6* geninde 8993 pozisyonunda nokta mutasyon oranının %60'ın altında olduğu kişiler genellikle asemptomatiktir veya sadece hafif pigmenter retinopati veya migren baş ağrısı şikayetleri vardır.

### **2.10.3. Mitokondriyal Miyopati, Ensefalopati, Laktik Asidoz ve İnme Benzeri Ataklar (MELAS)**

Mitokondriyal ensefalopati, miyopati, laktik asidoz ve inme benzeri ataklar (MELAS) sendromu sık görülen mitokondriyal bozukluklardan biridir. MtDNA 3243. pozisyonundaki tRNA<sup>Leu</sup> kodlayan *MT-TL1* geninde adeninle guaninin değişmesinin

yanısıra tRNA<sup>Leu</sup>(CUN) kodlayan *MT-TL2* geninde, tRNA<sup>Lys</sup> kodlayan *MT-TK* geninde, tRNA<sup>His</sup> kodlayan *MT-TH* geninde, tRNA<sup>Gln</sup>'i kodlayan *MT-TQ* geninde, tRNA<sup>Phe</sup> kodlayan *MT-TF* geninde, tRNA<sup>Val</sup> kodlayan *MT-TV* geninde, kompleks I'in alt gruplarını kodlayan *MT-ND1*, *MT-ND4*, *MT-ND5*, ve *MT-ND6* genlerinde, kompleks IV'ün alt gruplarını kodlayan *MT-CO2* ve *MT-CO3* geninde ve kompleks III'ün alt grubunu kodlayan *MT-CYB* geninde mutasyonlar gösterilmiştir (107).

MELAS sendromu, inme benzeri epizodlar, epilepsi, laktik asidemi, miyopati, tekrarlayan baş ağrıları, işitme bozukluğu, diyabet ve kısa boy gibi geniş bulgular gösteren multipl organ tutulumu olan bir hastalıktır. Etkilenen bireylerin % 65-76'sının semptomlarının başlangıç yaşı çocukluk çağıdır (108).

Nörolojik görüntülemelerde etkilenen alanlar klasik vasküler dağılımla uyuşmamaktadır, asimetriktir, ağırlıklı olarak temporal, parietal ve oksipital lobları içerir. Tutulum kortikal bölgelerle sınırlanabilir veya subkortikal beyaz cevherde görülebilir. MR spektroskopisi (MRS) kullanılarak ölçülen yüksek ventriküler laktat seviyesi MELAS sendromlu bireylerde nörolojik bozukluk derecesi ile korele bulunmuştur (109).

Kas biyopsisinde Gomori trikrom boyası kullanılarak yapılan boyamalarda kas liflerinin plazma membran altında mitokondriyal proliferasyona bağlı olarak *ragged-red* lifler (*ragged-red fiber* - RRF) görülebilir. MELAS sendromunda kas biyopsisi sitokrom oksidaz (COX) boyamasında m.3243A>G heteroplazmisine göre soluk, normal veya artmış olabilir. MELAS sendromuna ait diğer özellik ise damar düz kası ve endotelial hücrelerinde aşırı artmış mitokondriyal proliferasyonun süksinik dehidrogenaz (SDH) boyası ile kuvvetli boyanma özelliğidir. Kas örneklerinde yapılan solunum zinciri enzim biyokimyasal analizlerinde genellikle kompleks I ve kompleks IV eksikliği gösterilmektedir.

#### **2.10.4. Miyoklonik Epilepsi, *Ragged-Red Fibers* (MERRF)**

Miyoklonik epilepsi, *ragged-red fibers* (MERRF) tanı kriterleri, hastalığın tipik belirtileri olan kas biyopsisinde RRF, miyoklonus, jeneralize epilepsi, serebellar ataksidir. Diğer sık görülen bulgular sağırılık, egzersiz intoleransı, demans, periferik nöropati, kısa boy, anormal kardiyak ileti bozukluğu, kardiyomiyopati, oftalmoparezi, pigmenter retinopattir. İkinci ya da üçüncü dekatta daha sık görülür (110).

En sık olarak lizinin tRNA transportunu kodlayan 8344.pozisyondaki mutasyon nedeniyle görülmektedir. Serum ve beyin omurilik sıvısında (BOS) laktat ve piruvat yükselebilir. CK seviyesi artabilir.

MERRF sendromunda görüntülemelerde sıklıkla inferior olivar nükleus, serebellar dentat nükleus, pons ve gri madde tutulmaktadır (111). Erken dönemde gri madde tutulumu görülürken daha sonraki dönemlerde beyaz madde tutulumu görülür

Kas biyopsisinde Gomori trikrom boyası ile RRF ve SDH boyası ile yoğun subsarkolemmal boyanma görülür.

### **2.10.5. Kearns-Sayre Sendromu (KSS)**

Kearns-Sayre sendromu (KSS) klinik olarak kas-iskelet sistemi, merkezi sinir, kardiyovasküler ve endokrin sistem tutulumu içeren heterojen bir nörodejeneratif sendromdur. Ptozis, oftalmopleji, disfaji yaygın olarak kabul edilen semptomlarıdır. KSS klasik olarak 20 yaşından önce başlar, retinopati ve progresif eksternal oftalmopleji karakteristik bulgularıdır (112).

Ayrıca KSS tanısı koymak için kalp bloğu, serebellar ataksi veya beyin-omurilik sıvısında artmış protein düzeyi ( $> 100$  mg / dL) bulgularından en az bir tanesi olmalıdır. Progresif eksternal oftalmoplejisi (PEO) olan hastalar bu kriterlerin hepsini karşılamazsa, KSS eksi ya da PEO plus olarak adlandırılır.

Günümüzde KSS'nin tanısı klinik kriterlere dayanmakla birlikte, kas biyopsisi ve genetik testlerle tanı kesinleştirilmektedir. Kas biyopsisinde trikrom boyası ile *RRF* görülür.

### **2.10.6. Leber'in Herediter Optik Nöropatisi (LHON)**

Leber'in herediter optik nöropatisi (LHON) tipik olarak genç erişkinlerde bilateral, ağrısız, subakut görme kaybı ile kendini gösterir. LHON ikinci ve üçüncü dekatlarda pik yapar ve bu kişilerin %95'i 50 yaşından önce görme yeteneklerini kaybeder. Erkeklerin kadınlara göre etkilenme oranı dört ile beş kat daha fazladır.

Akut fazda etkilenen bireylerde genellikle tek gözde merkezi görme alanı etkilenerek görme bulanıklığı gelişir. Benzer belirtiler diğer gözde ortalama üç ay sonra ortaya çıkar, böylece her iki göz altı ay içinde etkilenir. Olguların yaklaşık %25'inde görme kaybı başlangıçta iki taraflıdır. En karakteristik özellik, santral

skotom görülmesidir. Atrofik fazda, optik atrofi tipik olarak görme kaybının başlangıcından altı hafta sonra gelişir ve kalıcı olarak görme kaybı oluşur. Etkilenen bireylerin %60'ında aynı hastalıktan etkilenmiş aile bireyleri vardır (113).

MRG genellikle normaldir, ancak beyaz cevher lezyonlarında ve/veya optik sinirlerde sinyal artışı görülebilir (114).

### **2.10.7. Pearson Sendromu**

Pearson sendromu tipik olarak refrakter sideroblastik anemi ve kemik iliği öncüllerinde vakuolizasyon, pankreas yetmezliği ve laktik asidoz ile seyreder (115). Bildirilen bulgular arasında proksimal miyopati, nörolojik semptomlar (nöbetler, ataksi, hareket bozuklukları), büyüme geriliği, karaciğer yetmezliği, pansitopeni, deri lezyonları ve proksimal renal tübüler asidoz bulunur.

Etkilenen hastaların çoğunun 3 yaşından önce öldüğü bildirilmiştir (116). Bazı olgularda, Leigh sendromuna (LS) fenotipik bir dönüşüm gözlenir. mtDNA delesyonlar oldukça homojendir ve tipik olarak sporadiktir.

mtDNA delesyonunun büyüklüğü ile klinik prezentasyon arasında belirgin bir korelasyon bulunmamıştır (117). Ekzokrin pankreas yetmezliği olguların %23-63'ünde bildirilmemiştir (118). Nörogörüntüleme oldukça değişkendir; bulgular tamamen normal olabilirken beyaz madde, derin gri nükleus, beyincik ve beyin sapında ciddi anormal bulgular da görülebilmektedir.

### **2.10.8. Alpers Sendromu**

Alpers-Huttenlocher sendromu, sıklıkla mitokondriyal DNA replikazı, polimeraz gamadaki mutasyonlarla ilişkili nadir bir mitokondriyal hastalıktır. Alpers sendromlu bireylerde erken çocukluk döneminde gelişme geriliği, ataksi, nöbetler, görme kaybı, karaciğer disfonksiyonu semptomları görülür (119). Nörolojik bulgular giderek kötüleşir ve yaklaşık 10 yaşında terminal fazda karaciğer yetmezliği nedeniyle kaybedilir. Solunum zincir enzim analizi genellikle iskelet kasında normal sonuçlar verir, ancak mtDNA'nın depleasyonu ile birlikte solunum zinciri kompleksleri I, III ve IV 'ün aktiviteleri düşük bulunabilir (120).



### 2.10.9. MtDNA Deplesyon Sendromları

MtDNA deplesyon sendromu (MDS), genetik ve klinik olarak heterojen otozomal resesif bir hastalık grubudur. MDS mitokondriyal deoksiribonükleozid trifosfat (dNTP) sentezi ya da mtDNA replikasyonunda görev alan nDNA'daki mutasyonlardan kaynaklanır. *TK2* (timidin kinaz 2), *SUCLA2* (adenosin difosfat (ADP) -forming süksinil CoA ligaz beta alt birimi), *SUCLG1* (guanosin difosfat (GDP) -form süksinil KoA ligaz alfa alt birimi), *RRM2B* (ribonükleotid redüktaz M2 B alt birimi), *DGUOK* (deoksiguanozin kinaz) ve *TYMP* (timidin fosforilaz), mitokondriyal deoksiribonükleotid (dNTP) havuzunu koruyan proteinleri kodlar. Bu nedenle, bu genlerin herhangi birindeki mutasyon, mitokondriyal DNA deplesyonuna neden olur. MtDNA replikasyonu için *POLG* (DNA polimeraz gama) ve *C10orf2* (Twinkle) gereklidir; bu genlerdeki mutasyonlar mtDNA içeriğinin azalmasıyla sonuçlanır. MDS fenotipik olarak heterojendir ve kas, karaciğer, beyin ve böbrek dahil olmak üzere belirli bir organ veya organları etkileyebilir. Klinik olarak MDS genellikle *TK2*'deki mutasyonlarla ilişkili miyopatik form; *SUCLA2*, *SUCLG1* veya *RRM2B*'deki mutasyonlarla ilişkili ensefalomiyopatik form; *DGUOK*, *MPV17*, *POLG* veya *C10orf2*'deki mutasyonlarla ilişkili hepatoserebral form ve *TYMP*'deki mutasyonlarla ilişkili nörogastrointestinal form olarak 4 ayrı grupta sınıflandırılır (121, 122).

*TK-2* ilişkili miyopatik formda etkilenen hastalarda hipotoni, genel güçsüzlük, azalmış kas kuvveti, proksimal kas güçsüzlüğü, beslenme zorlukları, fasiyal güçsüzlük, disartri ve disfaji de görülebilmektedir. Hastalarda tipik olarak kazanılmış motor beceriler kaybedilirken, kognitif fonksiyonlar korunur. Serum CK düzeyi genellikle yüksektir ve elektromiyografi (EMG) genellikle spesifik olmayan miyopatik değişiklikler gösterir. İskelet kasındaki histopatolojik bulgular arasında artmış bağ dokusu, distrofik bulgular ve RRF mevcuttur. Süksinat dehidrogenaz aktivitesi artarken, sitokrom c oksidaz aktivitesi düşüktür veya yoktur. İskelet kasında solunum zinciri enzim analizlerinde en çok kompleks I, III ve IV'ün aktiviteleri etkilenir (123).

*SUCLA2* ve *SUCLG1* ilişkili ensefalomiyopatik MDS'de etkilenen hastalarda tipik olarak şikayetler 6 aylıktan önce başlar. Hipotoni, kas atrofisi ve psikomotor gecikme, ilerleyici skolyoz veya kifoz, distoni ve atetoid veya koreiform hareketler dahil olmak üzere anormal hareketler, beslenme zorluğu, gastroözofageal reflü,

sensörinöral işitme bozukluğu, postnatal büyüme geriliği ve sık solunum yolu enfeksiyonlarına yol açabilen solunum yetmezliği sık görülen semptomlardır. Laktat, hem plazma hem de BOS'ta yükselir. EMG, motor nöron tutulumunu düşündüren bulguları ortaya koyabilirken, nörogörüntüleme, kortikal atrofi, bilateral bazal ganglion tutulumu ve gecikmiş miyelinasyon görülebilir. İskelet kasındaki histopatolojik bulgular; artmış mitokondri sayısı ve yoğun hücre içi yağ birikimidir. Kastaki solunum zinciri enzim analizinde tipik olarak solunum kompleksi I, III ve IV eksikliğini gösterirken, kompleks II aktivitesi normaldir (124,125).

*RRM2B* mutasyonu olan bireylerde hastalık tipik olarak yaşamın ilk aylarında hipotoni, laktik asidoz, gelişme geriliği, tubulopati, mikrosefali, psikomotor gecikme, sensorinöral işitme kaybı bulguları ile ortaya çıkar. Hastalık hızla ilerler ve birkaç ay içinde ölüme yol açar (126).

*DGUOK* ilişkili hepatoserebral MDS olan bireylerde hayatın ilk haftasında ortaya çıkan hipoglisemi ve laktik asidozun eşlik ettiği çoklu organ hasarı görülür. Karaciğer tutulumu genellikle kolestaz ile kendini gösterir; asit, ödem ve koagülopati ile ilerleyen neonatal veya infantil başlangıçlı karaciğer yetmezliğine neden olabilir. Karaciğer ve kasta mtDNA içeriği azalır. Karaciğerde tipik olarak kompleks I, III ve IV kombine eksikliği görülür. Karaciğer histopatolojisinde tipik olarak mikroveziküler yağlanmanın yanı sıra, köprüleşme fibrozisi, dev hücreli hepatit veya siroz bulguları da görülebilir; elektron mikroskobu incelemesinde mitokondri sayısında artış görülür (127, 128).

*MPV17* ilişkili hepatoserebral MDS, hepatik, nörolojik ve metabolik problemlere yol açabilecek infantil başlangıçlı bir hastalıktır. Etkilenen bireylerin çoğunluğunda karaciğer yetmezliği, hepatomegali, siroz görülebilmektedir. Karaciğer histopatolojisinde kolestaz ve siroz bulguları görülür. mtDNA içeriği kas ve karaciğer dokusunda ciddi şekilde azalmıştır. Solunum zinciri aktivitesinde azalma en çok kompleks I ve III'de görülür (129).

*POLG* mutasyonları ile ilişkili hastalıklar erken çocukluk döneminden geç yetişkinliğe kadar olan dönemde görülebilir. Hepatoserebral MDS (Alpers-Huttenlocher sendromu) progresif ensefalopati, psikomotor gerilik, nöropati ve hepatik yetmezlik ile kendini gösterir (130). Etkilenen bireylerde inme ve inme benzeri epizodlar, miyoklonus, koreoatetoz, parkinsonizm, nistagmus, uyku hali, sinirlilik,

depresyon, kortikal görme kaybı ve sensörinöral işitme kaybı gelişebilir. Karaciğer tutulumu birkaç ay içinde son evre karaciğer yetmezliğine hızlı bir şekilde ilerleyebilir. Nörogörüntülemelerde gliosis ve yaygın beyin atrofi görülebilir. Karaciğer histolojisinde makro ve mikroveziküler steatoz, sentrilobüler nekroz, fibrozis, siroz, safra kanalı proliferasyonu görülür.

*C10orf2*'deki mutasyonlar, erken başlangıçlı hepatoserebral MDS'nin nadir bir nedenidir.

*TYMP* mutasyonu ile giden MNGIE'de klinik belirtiler genellikle 20 yaşından önce başlar. Etkilenen bireylerin çoğunda, bulantı, disfaji, gastroözofageal reflü, postprandial kusma, epizodik karın ağrısı, distansiyon, diyare, ilerleyici gastrointestinal dismotilite ve kilo kaybı görülmektedir. Bazı durumlarda aksonal nöropatinin eşlik edebileceği periferik demiyelinizan motor ve duyuşal nöropati görülür. Ptozis ve oftalmopleji yaygın bulgulardır. Diğer görülebilen bulgular arasında karaciğer enzimlerinde yükselme ve makroveziküler steatoz, anemi, sensörinöral işitme kaybı, kısa boy, otonomik sinir sistemi disfonksiyonu (genellikle ortostatik hipotansiyon), mesane disfonksiyonu, ventriküler hipertrofi ve divertikülozis ile karaciğer sirozu sayılabilir. Laboratuvar tetkiklerinde BOS proteini ve plazma laktatı artmış olabilir. Plazmada timidin ve deoksiüridin artmıştır. EMG ve sinir iletim hızı, motor ve duyuşal sinir iletim hızlarını ve miyopatik değişiklikleri gösterir. Nörogörüntülemelerde tipik olarak yaygın beyaz madde anormallikleri (lökoensefalopati) görülür. İskelet kasında histolojik olarak RRF görülebilirken, solunum zinciri enzim aktivitesi ölçümünde en sık kompleks IV olmak üzere tek veya çoklu solunum zinciri enzim eksikliği görülebilmektedir (131).

### **2.11. Laboratuvar ve Radyolojik Bulgular**

Mitokondriyal hastalık şüphesi olan hastaların oldukça geniş klinik spektrumunun olması ve zayıf genotip-fenotip korelasyonu nedeniyle, tanı için çeşitli laboratuvar çalışmalarının yapılması ve sonuçların klinik ve aile öyküsü ile beraber değerlendirilmesi gerekir. Laboratuvar sonuçları ile tanıya yardımcı olmak için metabolit analizleri, enzimatik ölçümler ve moleküler genetik analizler dahil olmak üzere birçok tetkik sonucunu multidisipliner bir yaklaşım ile değerlendirmek gereklidir.

Kan ve idrarda metabolit analizi mitokondriyal hastalık tanısı için önemli ipuçları sağlayabilir. Mitokondriyal enerji üretimindeki defekte bağlı olarak kan, idrar ve BOS'ta laktat seviyesi yüksek olabilir. Yapılan çalışmalarda primer mitokondriyal hastalığı olan hastalarda, yükselmiş laktat düzeylerinin %34 ile %62 arasında duyarlı ve %83 ile %100 arasında özgül olduğunu göstermiştir (132). Solunum zinciri eksikliği nedeniyle kanda laktat/pirüvat oranı artabilir ya da her ikisinin de seviyesinin artmasına bağlı olarak aynı kalabilir. Serebral folat eksikliği, mitokondriyal hastalık da dahil olmak üzere çok çeşitli nörolojik ve metabolik bozukluklarda görülür ve BOS'ta 5-metiltetrahidrofolat ölçümleri ile teşhis edilir (133).

Keton cisimlerinden 3-OH-bütirat ve asetoasetat düzeyleri de artabilir. Amino asit analizinde, alanin aminotransferaz (ALT) tarafından pirüvatın transaminasyonuna bağlı olarak alanin düzeyi yüksek çıkabilir (134).

Jeneralize aminoasidüri, mitokondriyal defektlerden kaynaklanan renal tübülopatinin bir sonucu olarak bazen görülür. Mitokondriyal hastalığı olan hastaların idrar organik asitlerinde laktat atılımı ya da malat, süksinat, 2-okzaloglutarat ve fumarat gibi TCA ara ürünlerinde atılım görülebilir (132).

Bazı primer mitokondriyal hastalıklarda aplastik, megaloblastik ve sideroblastik anemi, lökopeni, trombositopeni ve pansitopeni bildirilmesi nedeniyle tam kan sayımı değerlendirilmelidir. Diğer sistem tutulumlarını değerlendirmek amacıyla böbrek ve karaciğer fonksiyon testleri, tiroid fonksiyon testlerine mutlaka bakılmalıdır (132).

*Fibroblast growth faktör21* (FGF21) ve *growth diferansiyon faktör 15* (GDF15) seviyesinin mitokondriyal hastalıkların yeni biyobelirteçleri olarak kullanımı için çalışmalar devam etmektedir (135,136).

EMG ve elektroensefalografi (EEG) sinir sistemini, görsel uyarılmış potansiyel (*visual evoked potential*) (VEP) ve elektroretinogram (ERG) göz, beyin sapı-işitsel uyarılmış potansiyel (*brain stem-auditory evoked potential*) (BAEP) işitme fonksiyonlarını değerlendirmek açısından önemlidir. Kardiyak tutulum açısından ekokardiyografi (EKO) ve elektrokardiyogram (EKG) tetkikleri değerlendirilmelidir (132).

Mitokondriyal hastalığın tipine ve santral sinir sistemi tutulumuna bağlı olarak, nörogörüntüleme yapısal değişiklikleri gösterebilir veya göstermeyebilir. İnme

benzeri lezyonların nonvasküler dağılımı, diffüz beyaz cevher hasarı, bilateral gri cevher ve bazal ganglia, beyin sapı tutulumu mitokondriyal hastalığın santral sinir sistemi tutulumunun tipik bulgularıdır. Diğer metabolik hastalıklar ve beyin parankim hasarında da görülse de MRS ile kullanılarak laktat, kreatin ve N-asetil aspartat (NAA) ölçümleri yapılarak mitokondriyal hastalığın SSS tutulumu açısından önemli bilgiler elde edilebilir (132).

## **2.12. Histopatolojik Bulgular**

Mitokondriyal hastalık düşünülen hastalarda yapılan kas biyopsileri sıvı nitrojende dondurularak değerlendirilir. Histolojik değerlendirmede kullanılan çeşitli histokimyasal boyalar mitokondriyal miyopatiji destekleyen bulgular görmemize yardımcı olur (137).

### **2.12.1. Hematoksilen ve Eozin**

Hematoksilen boyası bazik bir boyadır ve nükleik asitler (DNA ve RNA) gibi asidik yapıları koyu morumsu bir maviye boyar. Eozin ise asidik bir boya olup proteinler gibi bazik molekülleri pembemsi bir kırmızı renge boyamaya yardımcı olur. Kas liflerinin büyüklüğü ve anormal infiltratlar hakkında bilgi verir. Mitokondriyal miyopatide bazı RRF'ler dejenere lifler olarak seçilebilir. Lipid artışında liflerde vakuoler görüntü olabilir.

### **2.12.2. Modifiye Gomori Trikrom**

Modifiye Gomori trikrom boyası genellikle mitokondriyi göstermek için kullanılır. Ayrıca bağ dokusu, çekirdek ve mitokondriyal birikimlerin görselleştirilmesini de sağlar. Mitokondriyal birikimler (subsarkolemmal ve inter miyofibriler), sarkoplazmik retikulum kırmızı görünür, miyofibriller yeşil, çekirdekler kırmızı / mor renktedir. Mitokondriyal miyopatilerin klasik ayırt edici özelliklerinden biri RRF'dir. Genişlemiş ve anormal mitokondrilerin subsarkolemmal birikimi sonucunda oluşur. RRF genellikle mutant mitokondriyal DNA oranının %80'den fazla olduğu durumlarda görülür (138).

RRF, mitokondriyal sitopatilere özgü değildir. Normal yaşlanma, inklüzyon cisimciği miyoziti, kronik polimiyozit, Duchenne ve Becker kas distrofisi, bazen diğer

kronik miyopatilerde ve zidovudin veya statin gibi ilaçların kullanımı sonrasında da görülebilmektedir (139).

RRF yaygın olarak MELAS, MERRF, KSS'de ve daha az sıklıkla kronik progresif eksternal oftalmoplejide görülür. Biyokimyasal yöntemlerle ortaya konan spesifik enzimatik eksikliklere rağmen, LHON, NARP ve küçük çocuklarda yapılan biyopsilerde RRF görülemeyebilir.

### **2.12.3. Sitokrom-c oksidaz (COX)**

Sitokrom-c oksidaz boyası, solunum zinciri enzimlerinden sitokrom oksidaz (kompleks IV) aktivitesini değerlendirmek için kullanılır. Tip 1 lifler, tip 2 liflerden daha koyu boyanmaktadır. COX aktivitesi azalmış kas lifleri çok soluk, soluk, negatif veya mozaik boyanma özelliği göstermektedir (139).

### **2.12.4. Süksinat Dehidrogenaz (SDH)**

Süksinat dehidrogenaz (SDH) aktivitesi, elektron transport zincirinin kompleks II aktivitesini yansıtır, mitokondriler mavi renk boyanır. Artan SDH aktivitesi mitokondriyal proliferasyonu yansıtmaktadır ve modifiye gomori trikrom boyasında görülen RRF'lerin çoğu, SDH ile vurgulanmaktadır; SDH boyası ile anormal mitokondri kümeleri mavi bir renk olarak "*ragged blue fiber*" (RBF) olarak adlandırılır (139).

### **2.12.5. NADH-Dehidrogenaz**

Bu boya, elektron taşıma zincirinden kompleks I'in aktivitesini yansıtır. Prolifere olan mitokondrileri gösterebilir (139).

### **2.12.6. Oil Red O (ORO) / Sudan Black B**

Oil Red O boyası, nötral lipitleri boyamak için kullanılan yaygın bir yöntemdir. Hem Sudan Black B hem de Oil Red O boyası yağ damlacıklarını siyah veya kırmızı turuncu renge boyayan, yağda çözünen boyalardır. Mitokondri, serbest yağ asitlerinin oksidasyonu için önemlidir ve mitokondriyal fonksiyon bozukluğu genellikle intramüsküler trigliseritlerde spesifik olmayan bir artışa yol açmaktadır. Ancak bu artış spesifik değildir ve mitokondriyal sitopatilerin aksine yağ asidi oksidasyon

defektlerinde masif birikimler görülür. Lipid birikimi şiddetli olduğunda kas liflerinde vakuoler görünüm ortaya çıkar ve vakuoler miyopati olarak adlandırılmaktadır (139).

### 2.12.7. Diğer Boyalar

Rutin kas biyopsisi incelemesi esnasında kullanılan diğer standart boyalar, mitokondriyal hastalık tanısı koymada özellikle yardımcı değildir, ancak alternatif tanıların değerlendirilmesinde yardımcıdır. Bunlar arasında Periodik Asid-Schiff (PAS), Verhoeff-van Gieson boyası, adenosin trifosfataz, alkalın fosfataz, miyofosforilaz, asit fosfataz, Kongo Kırmızısı boyaları sayılabilir (139).

### 2.12.8. Elektron Mikroskopu Bulguları

Elektron mikroskopu, mitokondriyal hastalık şüphesi olan çocukların değerlendirilmesinde önemli bulgular verebilir. Bir çalışmada, ışık mikroskopu düzeyinde anormallik olmayan hastaların %33'ünde yapısal bulgular elde edilmiştir (140). Bunlar arasında artmış mitokondriyal sayı (%48) veya büyüklük (%7), artmış lipid içeriği (%8), glikojen damlacıkları (%12), artmış mitokondriyal matriks, anormal krista yapıları ve parakristalin inklüzyonları (%3) sayılabilir. Ayrıca eşlik eden nöropati varsa bunlara ek bulgular görülebilmektedir.

### 2.13. Biyokimyasal ve Moleküler Analizler

Mitokondriyal hastalık düşünülen hastalardan alınan doku veya hücre örneklerinin biyokimyasal incelemesi, oksidatif fosforilasyon sisteminin enzim aktivitelerinin ölçümlerini içerir. Solunum zinciri enzim aktivitelerini ölçmeye yönelik analizler genellikle spektrofotometrik yöntemlere dayanır. Alternatif olarak, *blue native jel* elektroforezi ve ardından Western blot analizi gibi oksidatif fosforilasyon sistem komplekslerinin düzeylerini belirleyen analizler gerçekleştirilebilir. Solunum zinciri enzimlerini incelemenin bir başka yolu da, *blue native jel* elektroforezi sonrası enzim aktivitelerinin kolorimetrik ölçümleri veya benzer bir prensibe dayanan diğer kolorimetrik analizlerdir (141). Bu ölçümler ile solunum zinciri enzimlerinin hafif eksikliklerinin saptanması zor olabilir. En düşük referans değerine yakın düzeyler, her zaman normal veya eksik bir enzim aktivitesinin kesin kanıtı olarak kabul edilemez, enzim test sonuçlarının değerlendirilmesinde ek tahliller dahil edilmelidir. Enzim

eksikliğinin şiddeti ile klinik fenotipin ciddiyeti arasında bir ilişki olmadığı için, çok hafif eksikliklerin tespiti çok önemlidir. Yenidoğanlarda, çocukluk döneminde, oksidatif fosforilasyon sistem enzim aktivitelerinde yaşa bağlı farklılıkların olduğu gösterildiğinden sonuçlar çok dikkatli yorumlanmalıdır (142).

Moleküler yöntemlerle mitokondriyal hastalık teşhisinin doğrulanması, mitokondriyal enerji üretimindeki çok sayıda bilinen mutasyon, iki farklı genomun karmaşıklığı ve bir hastadaki patojenik mtDNA'nın heteroplazmi oranlarının farklılığı nedeniyle günümüzde halen güç olmaya devam etmektedir. Hastanın fenotipik özellikleri mitokondriyal hastalığı düşündürüyorsa, ilk adım olarak yaygın nokta mutasyonları, mtDNA'daki yaygın delesyonlar veya spesifik nDNA mutasyonlarının taranması önerilmektedir. Mitokondriyal solunum zinciri kompleksi eksikliklerinin tipik özelliklerinin gözlemlendiği durumlarda, spesifik nükleer genlerin doğrudan sekanslanması, periferik DNA'dan gerçekleştirilebilir. Kas gibi, etkilenmiş dokularda mtDNA içeriğinin ölçülmesi, mtDNA depleksiyon sendromlarını taramaya da izin verir. MtDNA'da mutasyon saptanamayan vakalarda, nadir ve yeni nokta mutasyonlarının saptanması için tüm mtDNA genom taraması yapılabilir. Yeni nDNA mutasyonları sürekli olarak keşfedildiğinden, moleküler analiz için yeni nesil sekanslama (NGS) tercih edilebilir (143).

#### 2.14. Mitokondriyal Hastalık Tanı Kriterleri

Çocukluk yaş grubunda mitokondriyal hastalık için tanısal güçlükler yaşanması nedeniyle tanıyı desteklemek amacıyla çeşitli tanı kriterleri ortaya konmuştur. Majör ve minör kriterler genellikle klinik, biyokimyasal, histopatolojik ve moleküler bulgulara dayanır. 1996 yılında Walker ve arkadaşları solunum zinciri hastalıkları olan yetişkinler için tanı kriterleri belirlemişlerdir (144). 2002'de Bernier ve arkadaşları, duyarlılığı artırmak ve pediatrik hastaları ve yetişkinleri de kapsayacak şekilde kullanımını genişletmek için yetişkin kriterlerinin (Modifiye Walker kriterleri) başka bir versiyonunu önermişlerdir (145). Buna göre mitokondriyal hastalık tanı kriterleri klinik, patolojik, enzimatik, fonksiyonel, moleküler ve metabolik parametreler için belirlenmiş majör veya minör kriter esasına dayanılarak oluşturulmuştur. Mitokondriyal ensefalomiyopatiler “kesin” (*definite*), “muhtemel” (*probable*), “mümkün” (*possible*) ve “olası değil” (*unlikely*) olarak kategorize



edilmiştir. “Kesin” tanı, iki major kriterin ya da bir major artı iki minör kriterin yerine getirilmesi olarak tanımlanmıştır. “Muhtemel” tanı, bir major ve bir minör kriter ya da en az üç minör kriter varlığı olarak tanımlanır. “Mümkün” tanı ya tek bir major kriter ya da biri klinik olmak üzere iki minör kriter varlığında tanımlanmaktadır.

2002'de Wolf ve arkadaşları (146), bebekler ve çocuklar için klinik özellikleri değerlendiren mitokondriyal tanı kriterleri skorlama sistemi önermişlerdir. Buna göre kas semptomlarının klinik özellikleri, santral sinir sistemi ve diğer sistem tutulumları, metabolik anormallikler ve nörogörüntüleme özellikleri ve histopatolojik bulgularla hastalar maksimum 12 puan almaktadır. Tanı kriterlerine göre yapılan puanlamada vakalar toplam puana göre 1 puan “olası değil” (*unlikely*), 2-4 puan ”mümkün” (*possible*), 5-7 puan “muhtemel” (*probable*) ve 8-12 puan “kesin” (*definite*) şeklinde gruplandırılmıştır. Çocuklar için uygulanması önerilen bu tanı kriterleri ve puanlama Ek 1’de sunulmuştur.

## 2.15. Tedavi

### 2.15.1. Semptomatik Tedavi

Mitokondriyal hastalıklarda kardiyak tutulum sık görülen bir özelliktir. Asemptomatik hastalara standart olarak 12 derivasyonlu EKG ve transtorasik EKO yapılmalıdır. Kardiyomiyopati tedavisinde erken dönemde yeniden yapılanmayı engelleyebilen anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörleri kullanılırken, b-adrenerjik reseptör antagonistleri veya kalsiyum kanal blokerlerinin birlikte uygulanması, kalp hızını yavaşlatır ve diyastolik dolumu iyileştirir. Hastalar atriyoventriküler (AV) blok veya semptomları olan veya olmayan herhangi bir fasiküler blok riski altındaysa, kalp pili implantasyonu düşünülmelidir (147).

Anoreksia, bulantı ve kusma, ilacı oral yolla almada zorluklar ve hatta yetersiz sıvı ve kalori alımı sık görülen sorunlardır. Kronik kabızlığı olan hastalar, düşük lifli diyet ve sıvı alımının artması ve ozmotik laksatiflerin kullanımı gibi basit önlemlerden yararlanabilirler. Mitokondriyal hastalığı olan bazı hastalarda belirgin disfaji veya ciddi gastroözofageal reflü görülür ve gastrostominin (fundoplikasyon ile birlikte veya olmadan) veya jejunostominin cerrahi olarak yerleştirilmesi gerekebilir.

Diabet gelişen hastaların pankreatik adacık hücre disfonksiyonunun bir sonucu olarak insüline bağımlılık gelişmesi yaygın ve sıklıkla hızlıdır (<4 yıl). Bu hastaların şeker regülasyonun sağlanmasında diyet uygulaması, sülfanilüre ve insülin kullanılmaktadır (148).

MERRF, MELAS ve Alpers-Huttenlocher gibi *POLG1* ile ilişkili sendromlarda epilepsi sık görülen bir semptomdur. MELAS ve MERRF sendromlarında, levetirasetam ve/veya klobazama iyi yanıt alınmaktadır ve antikonvülsan tedavinin erken başlaması felç benzeri atakların, nöbet aktivitesine bağlı kortikal hasarın önlenmesi amacıyla yönetilmesinde çok önemlidir. Potansiyel hepatotoksisite nedeniyle, özellikle de *POLG1*'de mutasyon olan hastalarda sodyum valproattan kaçınılmalıdır (149).

SSS tutulumu olan hastalarda spastisite ve distoni sık görülür. Bu hastalarda fizik tedaviye erken dönemde başlanmalı, spastisite için baklofen veya botulinum toksin enjeksiyonundan, distoni için L-Dopa dan yarar görebileceği unutulmamalıdır.

Mitokondriyal hastalığa bağlı solunum sistemi tutulumuna bağlı problemler de sık görülmektedir. Etkilenen hastalar kronik solunum yetmezliği gelişebilir veya kardiyopulmoner hastalık, genel anestezi veya postoperatif komplikasyonlar sonucu akut olarak dekompanse olabilirler. Diyafram kaslarındaki zayıflık, noninvazif pozitif basınçlı ventilasyon ile etkin bir şekilde tedavi edilebilmektedir. Yutma güçlükleri (genellikle bulbar zayıflığı nedeniyle) aspirasyon pnömonisine yol açabilir ve tekrarlayan epizodlar kronik solunum yetmezliğine katkıda bulunabilir. Solunum tutulumu olan hastalara influenza aşısı, pnömoni aşısı gibi aşılardan yapılması gerekmektedir (150).

Yutma ve konuşma zorlukları konuşma terapisi ile önemli ölçüde iyileştirilebilir. İşitme bozuklukları kohlear implant gibi işitme cihazları ile iyileştirilebilir.

### **2.15.2. Kullanılan Mevcut Tedaviler ve Yeni Tedavi Yöntemleri**

Mitokondriyal hastalıklar temel olarak ATP sentezinin biyokimyasal bozukluğundan kaynaklanır. Mitokondriyal hastalıkların tedavisi için yaklaşımlar çoğunlukla solunum zinciri fonksiyonunun yeniden sağlanmasına odaklanmıştır. Mitokondriyal hastalıkların klinik, biyokimyasal ve genetik heterojenliği nedeniyle,

hala standart tedavi mevcut değildir. Bir başka sınırlayıcı faktör ise ilaçların mitokondriyal geçişinin yetersiz olmasıdır.

CoQ10 eksikliği olan durumlarda yüksek doz CoQ10 (500-1000 mg/gün) kullanılırken, mitokondriyal hastalık olan durumlarda genellikle 90-300 mg/gün olarak daha düşük dozlarda denenmektedir (151). Hastalara günlük 1200 mg CoQ10 verilen randomize çift kör bir çalışmada, egzersiz sonrası aerobik kapasitede hafif bir artış ve kas gücü veya serum laktat düzeylerinde değişiklik bulunmamıştır (152).

Idebenon, CoQ10 molekülüne yapısal olarak benzer, elektron taşıyıcısı ve antioksidan işlevi görür, hücrelerde reaktif oksijen türevlerini dengeler. 2011 yılında, RHODOS çalışmasının 24 hafta boyunca Idebenon uygulamasının ardından LHON hastalarının görme keskinliğinde önemli bir değişiklik olmadığını bildirmiştir (153).

Yağ asitleri ATP üretmek için mitokondri tarafından  $\beta$  oksidasyon ile metabolize edildikten sonra TCA döngüsüne girer. Karnitin palmitoiltransferaz yolu ile uzun zincirli yağ asitleri organel içerisine taşınır. Karnitin desteği ile mitokondri içinde  $\beta$  oksidasyon seviyesinin artırılması amaçlanmaktadır (154).

Dikloroasetat (DCA), mitokondriyal disfonksiyona bağlı oluşan laktik asidozda laktik asit seviyesinin azaltılması için kullanılmıştır. Bugüne kadar, her ikisi de çift kör, değişen yaş ve hastalık geçmişi olan hastalarda placebo kontrollü yapılan çalışmalarda bileşiğin, serum laktat seviyelerini düşürdüğü gösterilmiştir (155).

Mitokondriyal hastalık progresyonunu önlemede diğer bir yol da serbest radikal türlerinin oksidasyonunu önlemek olabilir. E vitamini, glutatyonun rejenerasyonu yoluyla güçlü antioksidan etkiler gösterir ancak bileşiğin düşük biyoyararlılığı ve yüksek dozlarda kardiyak komplikasyon riski, kullanımını sınırlandırmıştır. Epi-743, vitamin E'nin sentetik bir analogudur. Leigh sendromlu hastaların yaşam kalitesi ve klinik özelliklerinde bir miktar iyileşme yarattığı bildirilmiştir (156).

RP103 sisteamin bipartite, çift kör bir çapraz çalışmada, laktat düzeylerinde veya diğer klinik belirteçlerde anlamlı bir değişiklik yaratmadığı ancak oksidatif stresin seviyeleri büyük ölçüde azalttığı göstermiştir (157).

Sitoplazmada, protein kompleksi mTORC1, mitokondrinin önemli rol oynadığı anabolik süreçlerle büyüme destekleyici sinyalleri birleştirir. Yapılan

çalışmalarda hayvan modellerinde mTORC1 inhibitörü rapamisin'in Leigh Sendromlu hastalarda semptomları hafiflettiği gösterilmiştir (158).

AICAR, hiperinsülinemisi olan hastalara intravenöz olarak uygulanan FDA onaylı bir bileşiktir. AICAR'ın etkisi, çeşitli nükleer kodlanmış Kompleks I alt birim mutasyonları içeren hastadan elde edilen fibroblastlarda araştırılmış (159); COX eksik liflerde oksidatif stres seviyesini azaltırken, mitokondriyal biyogenezi ve ATP üretimini artırdığı gösterilmiştir.

Denenen diğer bir molekül ise RTA 408'dir; fare modellerinde NRF-2 aktivasyonunu arttırdığı gösterilmiş sentetik bir isoprenoiddir. Bileşik mitokondriyal miyopatiyi tedavi etmek için MOTOR çalışmasında denenmiş, çalışmada 12 hafta boyunca 2.5-10 mg arasında değişen dozlar uygulanmaktadır (160).

NAD öncülü, Acipimox Faz II randomize, çapraz, kör, çok merkezli bir çalışmada, tip 2 diyabetli 31 hastaya 2 hafta boyunca günde üç kez 250 mg'lık dozda verilmiş, mitokondriyal solunum ve nükleer kodlanmış mitokondriyal proteinlerin ekspresyon düzeylerini arttığı bulunmuştur (161).

Pirüvat dehidrogenaz (PDH) enzim kompleksinin koenzim olarak görev alan Tiamin oral yolla 900 mg/güne kadar önerilmektedir (162).

Flavaprotein öncülü olan riboflavin (vitamin B2) kompleks I ve II'nin yapı taşı, yağ asidi oksidasyonu ve Krebs döngüsünde kullanılan enzimlerin kofaktörü olarak görev alır. ETFDH mutasyonu saptanan hastalarda günlük 50-100 mg oral yolla kullanılmaktadır (151).

Nikotinamid ribozid (vitamin B3) 4 ay boyunca mtDNA delesyonlu fareler üzerinde test edilmiş oksidatif fosforilasyon oranında artış ve daha yüksek ATP sentaz seviyeleri gözlenmiştir (163).

L-arginin ve sitrölin gibi nitrik oksit (NO) vericilerinin MELAS ile ilişkili inme benzeri epizodalarda terapötik bir seçenek olabileceği, inme benzeri atakların şiddetini ve sıklığını azaltabileceği bildirilmiştir (164). L-arginin 1 ila 3 gün boyunca 500 mg / gün intravenöz veya oral yoldan verilir.

Prelinik çalışmalarda, OR geçişli mtDNA deplezyon sendromlarının tedavisinde deoksiribonükleotid seviyesini artırmak hedeflenmektedir. Başka bir strateji de deoksiribonükleoz katabolizmasının inhibisyonunu içeriir ve *in vitro* olarak mtDNA kopya sayısını arttırdığı gösterilmiştir. Daha yakın zamanda, timidin kinaz 2

eksikliği olan fare modellerinde deoksiribonükleosit takviyesinin, mtDNA kopya sayısını ve solunum zinciri fonksiyonunu artırdığı gösterilmiştir (165).

MNGIE'de timidin fosforilaz enziminde sorun olduğundan kanda timidin ve deoksiüridin birikimini temizlemek için allojenik hematopoietik kök hücre transplantasyonu ve karaciğer transplantasyonu denenmektedir (166). Pearson sendromunda kemik iliği transplantasyonu yapılabileceği gibi, kardiyomiyopati olan vakalarda kalp transplantasyonundan yarar gören vakalar olduğu bildirilmiştir (167).

### **2.16. Prenatal Tanı ve Genetik Danışma**

İndeks vakada mitokondriyal hastalıktan sorumlu nükleer gen ve mutasyon saptanmışsa, 11-12. haftada koryon villus örnekleme veya 15-17. haftada amniyosentez yapılarak aileye prenatal tanı verilebilir. Annedeki mtDNA'ya ait mutasyonun bilinmesi durumunda mutant DNA'nın bir sonraki nesle geçiş oranının bilinmemesi nedeniyle doğacak olan çocuğun bu mutasyonu taşıyıp taşıyamadığına dair sağlıklı bilgi verilemeyebilir.

Mitokondriyal hastalığın geçişi, etkilenen annenin yumurtası tarafından taşınan mutasyona uğramış mtDNA'nın oranına bağlıdır. Homoplasmik mutasyonlar her çocuğa homoplasmik olarak iletilirken, heteroplasmik mutasyon yükü olan kadınların, çocuklarına geçen mutasyon seviyesinin tahmin edilmesi zordur.

Preimplantasyon genetik tanısı nDNA mutasyonu olan ancak bir bebeğe sahip olmak için kendi yumurtalarını kullanmayı hedefleyen kadınlara önerilmektedir. Preimplantasyon genetik tanı gebeliğin öncesinde in vitro fertilizasyon (IVF) aşamasının bir parçası olarak sunulabilir. Homoplasmik mutasyonu olan annelere bu yöntemler önerilmemektedir (168).

Mitokondriyal donasyon mutant mtDNA geçişini önlemeye yarayan yeni bir yöntemdir. Her iki ebeveynin nDNA'sını içeren pronükleus, döllenmiş yumurtadan çıkarılır ve sağlıklı mtDNA içeren ve pronükleusların uzaklaştırıldığı bir donör yumurtasına yerleştirilir, bu yöntem pronükleer transfer olarak bilinir (169).

### 3. HASTALAR VE YÖNTEM

1 Ocak 2007 – 31 Aralık 2017 tarihleri arasında Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Pediatrik Patoloji Ünitesi'nde değerlendirilen, biyopsi bulguları mitokondriyal miyopati ile uyumlu olan hastalar ile klinik semptomları mitokondriyal hastalık düşündüren ve kas biyopsisinden solunum zinciri enzim analizi yapılan toplam 225 hastanın biyopsi örnekleri yeniden değerlendirilerek ve 193 hasta çalışmaya dahil edilmiştir. Çalışmaya başlamadan önce Hacettepe Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan etik kurul onayı alınmıştır (Bkz. EK 2).

Hastalara ait klinik, laboratuvar, radyolojik, biyokimyasal ve histopatolojik bulgular retrospektif olarak incelenmiştir. Hastaların klinik, laboratuvar ve radyolojik sonuçları hastane dosyaları ve hastane otomasyon sistemi kayıtlarından, kas biyopsilerine ait sonuçlar Pediatrik Patoloji Ünitesi'ndeki arşiv preparatları ve kayıtlarından, solunum zinciri enzim analizi sonuçları Hacettepe Üniversitesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı arşivi ve hastane otomasyon sistemi kayıtlarından elde edilmiştir.

Hastaların klinik bulgularından şikayetlerinin başlama yaşı, cinsiyet, biyopsi yapılma anındaki yaşı, başvuru şikayeti, gelişim basamakları, anne baba arasında akrabalık ve ailede ya da akrabalarda benzer şikayeti olan kimsenin olup olmadığına bakıldı. Hastaların şikayetleri arasında nörolojik problemleri, solunum sıkıntısı, ventilatör ihtiyacı, beslenme problemleri, büyüme geriliği, işitme ya da görme problemleri, kardiyak, renal ve endokrinolojik problemleri olup olmadığı araştırıldı.

Fizik muayene bulguları arasında hipotoni, kas güçsüzlüğü, gelişme basamakları, konuşma veya yürüme bozukluğu, derin tendon reflekslerinde (DTR) artma veya azalma, ataksi, tremor, spastisite, nistagmus, ptozis, oftalmopleji, malnütrisyon, hepatosplenomegali gibi tüm bulgular değerlendirildi.

Laboratuvar incelemelerden tam kan sayımı, kan gazı, böbrek fonksiyon testleri, CK, aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT), total bilirubin ve direkt bilirubin, laktat dehidrogenaz (LDH), serum ve BOS laktik asit (LA) ve pirüvik asit (PA), idrar ve kan aminoasitleri (İKAA), ardışık kütle spektrometre analizi, idrar organik asitleri, amonyak düzeyi sonuçları kaydedildi.

EKG’de ritm bozukluğu, EKO’da kardiomyopati varlığı, EMG’de miyopati ve/veya nöropati, EEG’de epileptiform odak, zemin ritmi düzensizliği, ensefalopati, VEP- BAER-ERG’de anormallik olup olmadığı araştırıldı.

Nöroradyolojik incelemelerde kranial MR ya da BT sonuçları değerlendirildi. Kranial MR bulguları arasında intensite artışı, bazal gangliada sinyal değişikliği, serebral/serebellar atrofi, beyaz cevher tutulumu, gri cevher tutulumu varlığı, MRS’de laktat piki olup olmadığı araştırıldı.

Solunum zinciri enzim analizi Hacettepe Üniversitesi merkez laboratuvarında sıvı nitrojende dondurulan kas biyopsilerinden spektrofotometrik yöntemle yapılmıştır. Kompleks I, kompleks II-III ve kompleks IV aktivitelerinin sitrat sentaza oranları referans değerlerden düşük saptanan biyopsiler solunum zinciri eksikliği gösteren hastalar olarak sınıflandırılmıştır.

Tüm vakalara tanısal amaçlı yapılan, serum fizyolojikle nemlendirilmiş gazlı bez içinde patoloji laboratuvarına ulaştırılan kas biyopsileri sıvı nitrojende dondurulmuş ve cryotome cihazında kesitler alındıktan sonra -80°C’de saklanmıştı. Yine tanı zamanında 8 µm kalınlığında kesitlere Hematoksilin Eozin, Modifiye Gomori trikrom, PAS, ORO, ATPaz boyaları ve 15 µm kalınlığındaki kesitlere oksidatif enzim boyaları (NADH, SDH, COX, COX/SDH) uygulanmıştı.

Çalışmaya alınan tüm vakalara ait kas biyopsilerinin arşiv preparatları yeniden değerlendirildi.

Histopatolojik bulgular COX boyasında COX eksikliği için çok soluk/negatif, soluk, mozaik boyanma paterni; ORO boyası için liflerde lipid içeriğinde artma; Gomori trikrom, SDH ve COX boyaları için liflerde anormal mitokondriyal boyanma paterni (RRF, RBF, subsarkolemmal boyanma ve iri mitokondriler), SDH eksikliği için soluk SDH boyanması şeklinde sınıflandırıldı. Ayrıca diğer boyalarla da nörojenik değişiklikler, distrofik değişiklikler olup olmadığı belirlendi. Hiçbir pozitif bulgusu olmayan vakalar normal olarak sınıflandırıldı.

Ek 1’de verilen mitokondriyal hastalık kriterlerine uygun olarak hastaların klinik, biyokimyasal, radyolojik ve histopatolojik bulguları puanlandı ve toplam puana göre mitokondriyal hastalık için “kesin” (8-12 puan), “muhtemel” (5-7 puan), “mümkün” (2-4 puan), “olası değil” (1 puan) şeklinde sınıflandırıldı.

## 4. BULGULAR

Bu çalışmada, 2007-2017 yılları arasında Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Pediatrik Patoloji Ünitesi'nde kas biyopsisi değerlendirilen 225 pediatrik hastadan biyopsisi mitokondriyal miyopati ile uyumlu görülen 193 hasta çalışmaya dahil edilmiştir. 193 hastanın 83'ü (%43) Hacettepe Üniversitesi İhsan Doğramacı Çocuk Hastanesi'nde değerlendirilmişken, 110'unun (%57) dış merkezlerdeki sağlık kuruluşlarında takipli olduğu ve sadece kas biyopsilerinin merkezimize gönderildiği görülmüştür. 193 hastanın kas biyopsileri sonuçlarına göre demografik bilgileri, şikayetleri ve fizik muayene bulguları, laboratuvar ve biyokimyasal sonuçlarının yanı sıra klinik skorlama puanları karşılaştırılmıştır.

### 4.1. Klinik Bulgular

Tez çalışmasında değerlendirilen toplam 193 hastanın 99'u (%51,2) erkek, 94'ü (%48,8) kız olup; erkek/kız oranı 1,05 olarak bulunmuştur. Akrabalık öyküsü bilinen 132 hastanın 74'ünde (%56) anne baba arasında akrabalık vardır. Kardeş öyküsü bilinen 153 hastanın 35'inde (%22,9) kardeşinde benzer şikayetler görülürken, akraba öyküsü bilinen 112 hastanın 25'inin (%22,3) akrabalarında da benzer şikayetler görüldüğü öğrenilmiştir. 193 hastanın verileri incelendiğinde 40'ının (%20,7) eksitus olduğu görülmüştür.

Hastaların şikayetlerinin başlama yaşı 1 ay ile 15 yıl arasında olup, ortalama  $29,90 \pm 42,89$  ay (ortanca: 12 ay); tanı anındaki yaşları (biyopsi yaşı) ise 1 ay ile 19 yıl arasında olup, ortalama  $57,69 \pm 58,539$  ay (ortanca: 33 ay) olarak bulunmuştur.

Hastalardan 56'sının (%29) şikayetlerinin ilk 1 yaş içinde başladığı, 78'inin (%40,4) 1-6 yaş arasında, 59'unun (%30,5) ise şikayetlerinin 6 yaşından sonra başladığı görülmüştür.

Hastaların şikayetlerine bakıldığında en sık nörolojik tutulumla ait yakınmalar (%93,8) görülürken, solunum sistemi (%15,0), kardiyak (%8,3), endokrinolojik (%4,1), nefrolojik (%4,1), hematolojik (%3,1) ve gastrointestinal sistem (%2,6) diğer sistem tutulumları arasında yer almaktadır. Hastaların şikayetlerinin sistemlere göre dağılımı tablo 4.1'de verilmiştir.



**Tablo 4.1.** Hastaların sistem tutulumları ve şikayetlerinin dağılımı

	N	%
- Nörolojik	181	93,8
- Solunum Sistemi	29	15,0
- Kardiyolojik	16	8,3
- Endokrinolojik	8	4,1
- Nefrolojik	8	4,1
- Hematolojik	6	3,1
- Gastrointestinal	5	2,6
- Gevşeklik/Hipotoni	74	38,3
- Motor ve mental gelişme geriliği	57	29,5
- Motor gelişme geriliği	31	16,1
- Mental gelişme geriliği	4	2,1
- Başını tutamama	37	19,2
- Nöbet	63	32,6
- Bilinç bulanıklığı	18	9,3
- Kas güçsüzlüğü	48	24,9
- Yürümede zorlanma	44	22,8
- Çabuk yorulma	35	18,1
- Kas ağrısı/kramp	5	2,6
- Titreme	4	2,1
- İşitme problemleri	7	3
- Görme problemleri	18	9,3
- Bakış kısıtlılığı	14	7,3
- Göz kapaklarında düşüklük	13	6,7
- Halsizlik, solukluk	8	4,1
- Solunum sıkıntısı, morarma	38	19,7
- Kilo düşüklüğü/kilo alamama	20	10,4
- Beslenme problemi (emmeme, yutma güçlüğü)	19	9,8
- Kusma	11	5,7
- İshal	5	2,6
- Büyüme geriliği	9	4,7
- Boy kısalığı	3	1,6

Hastaların şikayetleri arasında en sık gevşeklik (%38,3), nöbet (%32,6), motor ve mental gelişme geriliği (%29,5), kas güçsüzlüğü (%24,9), yürümede zorlanma (%22,8) başını tutamama (%19,2) ve solunum sıkıntısı (%19,7) yer almaktadır.

Fizik muayene bulguları içerisinde en sık hipotoni, motor ve mental gelişme geriliği (%19,7), motor kuvvet azlığı (%18,7), DTR azalması ya da alınamaması (%14,5) mental ve motor gelişme geriliği (%10,4) ve hipotoni ve motor gelişme

geriliği (%9,8) yer almaktadır. Fizik muayene bulgularının detayları tablo 4.2 de verilmiştir.

**Tablo 4.2.** Fizik muayene bulgularının dağılımı

	N	%
Mental ve motor gelişme geriliği	20	10,4
Motor gelişme geriliği	14	7,3
Mental gelişme geriliği	4	2,1
Hipotoni + mental ve motor gelişme geriliği	37	19,2
Hipotoni + motor gelişme geriliği	19	9,8
Hipotoni	16	8,3
Spastisite / tonus artışı	12	6,2
Motor kuvvet azlığı	36	18,7
Gowers pozitifliği	6	3,1
Oftalmopleji	16	8,3
Pitoz	15	7,8
Nistagmus	9	4,6
Katarakt	4	2,1
Optik atrofi	2	1,0
İşitme kaybı	7	3
Tremor	9	4,6
Ataksi	8	4,1
Dismetri	4	2,1
Distoni	1	0,5
Hemiparezi	1	0,5
Hiperlaksite	9	4,6
DTR azalmış/alınamıyor	28	14,5
Patolojik refleks varlığı	2	1,0
DTR'de artış	1	0,5
Mikrosefali	13	6,7
Miyopatik yüz görünümü	3	1,5
Dismorfik yüz	8	4,6
Dilde fasikülasyon	1	0,5
Hepatosplenomegali	5	2,6
Malnutrisyon	13	6,7

## 4.2. Laboratuvar Bulguları

Hastaların laboratuvar bulgularının özeti tablo 4.3’de verilmiştir. CK bakılan 91 hastanın 50’sinde (%54,9) normal bulunurken, 41 hastada (%45,1) yüksek bulunmuştur. CK değerleri 18 ve 8609 U/L (N: 26-192 U/L) (ortanca: 140 U/L) arasında değişmekte olup, CK değeri 16 hastada (%17,6) 1000 U/L’den yüksek bulunmuştur.

Metabolik asidoz 21/74 (%28,4) hastada görülürken, 91 hastanın 42’inde (%46,2) laktat yüksekliği, değerlendirme yapılan 70 hastanın 49’unda (%70) pirüvat yüksekliği saptanmıştır.

Serum laktat/pirüvat oranı 19/61 (%31) hastada 20’nin üzerinde bulunmuştur. BOS laktat yüksekliği 1/5 (%20) hastada görülmüştür.

Karaciğer enzimlerinden AST ve ALT değerleri sırasıyla 14-1352 U/L (N: 8-40 U/L) ve 7-1724 U/L (N:8-40 U/L) arasında değişmektedir. 47 hastada (%66,2) AST yüksekliği, 24 hastada (%33,8) ALT yüksekliği görülmüştür. >1000 U/L AST ve/veya ALT 2 vakada mevcuttur. Toplam 58 hastanın 4’ünde (%6,9) bilirubin yüksekliği saptanmış olup, bunların hepsi direkt bilirubin yüksekliğidir.

Böbrek fonksiyon testlerine bakılan 59 hastanın 51’inin (% 86,4) sonucu normal olarak değerlendirilmiştir. 4 (%6,8) hastada elektrolit bozukluğu, 2 (%3,4) hastada kan üre azotu yüksekliği ve 2 (%3,4) hastada da renal tübüler asidoz tespit edilmiştir.

Amonyak yüksekliği 3/24 (%12,5) hastada görülmüştür.

Ardışık kütle spektrometre analizi toplam 81 hastada yapılmış olup, hastaların 7’sinde (%8,6) anormal sonuç elde edilmiştir. 6 hastada kanda alanin yüksekliği saptanmıştır. İdrar kan aminoasit tetkiki 84 hastada yapılmış olup, hastaların 5’inde (%5,9) anormal sonuç elde edilmiştir. Bu 5 hastanın 4’ünde idrarda alanin artışı tespit edilmiştir. İdrar organik asit analizi 86 hastada tetkik edilmiş olup, 26’sında (%30,2) idrarda organik asit atılımı saptanmıştır.

Toplam 69 hastaya EKO yapılmış olup, 18’inde (%26) normal bulgular saptanmıştır. 11 hastada (%16) hipertrofik kardiyomiyopati, 4 hastada (%5,8) dilate kardiyomiyopati, 2 hastada (%2,9) *non-compaction* hipertrofi, 1 hastada (%1,5) interventriküler septum hipertrofisi saptanmıştır. EKG bulguları incelendiğinde 3

hastada ritm bozukluğu görülmüştür. 34 hastada (%49,3) ise patent foramen ovale, patent duktus arteriozus ve atrial septal defekt gibi bulgular saptanmıştır.

EMG yapılan 35 hastanın 11'inin (%31,4) sonucu normal olarak raporlanırken, 14'ünde (%40) miyopati ve 8'inde (%22,9) nöropatik değişiklikler saptanmıştır. 2 hastada hem nöropatik hem miyopatik değişiklikler saptanmıştır.

EEG tetkiki yapılan 38 hastanın 17'sinin (%44,7) sonucu normal olarak görülürken, 11'inde (%28,9) epileptiform odak, 8'inde (%21,1) ensefalopati ve 2'sinde (%5,2) zemin ritm bozukluğu bulgusu saptanmıştır.

Dokuz hastanın BT sonucuna ulaşılmış olup, bunların beşinde anormal bulgular saptanmıştır. 2 hastada serebellar atrofi görülürken, 1 hastada bazal ganglialarda hipointensite, 2 hastada kronik beyin kanaması bulguları görülmüştür.

193 hastanın 98'ine kranial MR tetkiki yapılmış olup, 23 hastanın (%19,5) tetkik sonuçları normal, 19 hastada (%16,1) bazal ganglia tutulumu, 15 hastada (%12,7) basal gangliada sinyal artışı, 16 hastada (%13,6) beyaz cevher tutulumu/sinyal değişikliği, 7 hastada (%5,9) derin gri cevher tutulumu, beyin sapı ve/veya mezensefalonda sinyal artışı, 30 hastada (%25,4) korpus kallozumda incelleme, pineal kist, ventriküllerde genişleme veya beyaz cevherde hacim kaybı gibi yapısal değişiklikler, 5 hastada (%4,2) myelinizasyonda gecikme ve 3 hastada (%2,5) diğer değişiklikler rapor edilmiştir.

MRS çekilen 32 hastanın 21'inde (%65,6) laktak piki saptanmıştır.

VEP-BAEP-ERG çekilen 15 hastanın 10'unda (%66,7) anormal bulgular saptanmıştır.

1 hastanın karaciğer biyopsisi, 5 hastanın kemik iliği aspirasyonu, 4 hastanın böbrek biyopsisi, 2 hastanın da tam otopsi incelemesi olduğu saptanmıştır.

**Tablo 4.3.** Laboratuvar incelemelerinde patolojik bulgular

	N	%
CK yüksekliği	41/91	% 45,1
Metabolik asidoz	21/74	% 28,4
Laktat yüksekliği	42/91	% 46,2
Pirüvat yüksekliği	49/70	% 70
LA/PA>20	19/61	% 31
ALT yüksekliği	24/71	% 33,8
AST yüksekliği	47/71	% 66,2
EKO: kardiyomiyopati	15/69	% 21,7
EMG: miyopati	14/35	% 40
: nöropati	8/35	% 22,9
EEG'de patolojik bulgu	21/38	% 55,3
BT'de patolojik bulgu	5/9	% 56
MR'de patolojik bulgu	75/98	% 76,6
MRS'de laktat piki	21/32	% 65,6

### 4.3. Histopatolojik Bulgular

193 hastanın 41'inin (%21,2) biyopsisinde mikroskopik patolojik bulgu gözlenmemiş, normal olarak sınıflandırılmıştır. Kas biyopsisi mitokondriyal hastalık ile uyumlu olan 152 (%78,8), distrofik bulguları olan 10 (%5,1), denervasyon bulgusu olan 7 (%3,6) hasta saptanmıştır (Tablo 4.4.).

**Tablo 4.4.** Mikroskopik değerlendirmeye göre histopatolojik bulgular

N=193	N	%
Mitokondriyal hastalık ile uyumlu	152	78,8
Denervasyon bulguları	7	3,6
Distrofik değişiklikler	10	5,1
Normal	41	21,2

Mitokondriyal hastalıkla uyumlu bulgular açısından COX, SDH, Gomori trikrom ve ORO boyalarındaki özelliklere göre biyopsiler gruplandırılmıştır. COX boyası ile çok soluk/negatif, soluk veya mozaik paternde boyanma “COX eksikliği”; SDH boyası ile soluk boyanma “SDH eksikliği”; Gomori trikrom, SDH ve COX boya larında boyanma paternlerine göre RRF, RBF ve subsarkolemmal birikim “anormal mitokondriyal dağılım”; ORO ile hafif lipid artışı ve lipid miyopatisi “lipid birikimi” şeklinde sınıflandırılmıştır.

Mitokondriyal hastalıkla uyumlu bulgular arasında en sık 107 hastada (%55,4) COX eksikliği, 82 hastada (%42,5) anormal mitokondriyal dağılım, 51 hastada lipid birikimi (%26,4) ve 11 hastada (%5,7) SDH eksikliği saptanmıştır (Tablo 4.5).

**Tablo 4.5.** Mitokondriyal hastalıkla uyumlu biyopsilerde bulguların dağılımı

N=152	N	%
COX eksikliği	107	55,4
Anormal mitokondriyal dağılım	82	42,5
Lipid birikimi	51	26,4
SDH eksikliği	11	5,7

Mitokondriyal hastalıkla uyumlu bulgular görülen toplam 152 hastanın kas biyopsisinden 85’inde (%44) sadece tek boya ile patolojik bulgu mevcuttur; 53 hastada (%27,5) 2 boya ile, 13 hastada (%6,7) 3 boya ile, 1 hastada (%0,5) ise 4 boya ile birden patolojik boyanma mevcuttur.

152 hastanın 21’inde (%13,8) COX çok soluk/negatif, 33’ünde (%21,7) soluk, 53’ünde (%34,9) de mozaiktir; 44’ünde (%28,9) hafif lipid artışı, 7’sinde (%4,6) lipid miyopatisi, 23’er hastada (%15,1) RRF ve subsarkolemmal birikim, 36’sında (%23,7) RBF, 11’inde (%7,2) SDH ile soluk boyanma görülmüştür (Tablo 4.6.).

Ayrıca hastaların 7’sinde (%4,6) liflerde grup atrofisi, tip gruplaşması gibi denervasyon bulguları, 10’unda (%7,2) ise bağ dokusu artışı, yağ dokusu artışı, liflerde dejenerasyon gibi distrofik değişiklikler saptanmıştır.

**Tablo 4.6.** Mikroskopik değerlendirmeye göre bulgular ve tanı grupları

			N	
Mitokondriyal Hastalık Bulgusu (Toplam:152)	COX eksikliği (Toplam: 107 )	Çok soluk/Negatif	21	
		Soluk	33	
		Mozaik	53	
	SDH eksikliği (Toplam: 11 )	SDH soluk	11	
		Anormal mitokondriyal dağılım (Toplam: 82)	RRF	23
	Lipid birikimi (Toplam: 51 )	Hafif Lipid Artışı	RBF	36
			Subsarkolemmal birikim	23
			Lipid Miyopatisi	7
	Normal bulgular			41
	Denervasyon bulguları			7
Distrofik değişiklikler			10	

Hastaların Şikayetlerinin kas biyopsi bulgularına göre sınıflandırılması tablo 4.7'de gösterilmiştir.

**Tablo 4.7.** Hastaların şikayetlerinin kas biyopsi bulgularına göre sınıflandırılması

Şikayet Ana Grubu	COX eksikliği	SDH eksikliği	Anormal mitokondriyal dağılım	Lipid birikimi	Normal bulgular
Nörolojik	99 (%92,5)	10 (%90,9)	63 (%76,8)	48(%94,1)	38(%92,6)
Solunum Sistemi	18 (%16,8)	1 (%9)	7(%8,5)	8(%15,6)	10(%24,3)
Kardiyolojik	8 (%7,4)	1 (%9)	5(%6)	5(%9,8)	4(%9,7)
Endokrinolojik	7 (%6,5)	-	6(%7,3)	1(%1,9)	-
Nefrolojik	6 (%5,6)	-	4(%4,8)	-	2(%4,8)
Hematolojik	6 (%5,6)	1 (%9)	3(%3,6)	-	-
Gastrointestinal	1 (0,01)	-	2(%2,4)	3(%5,8)	1(%2,4)
<b>Şikayet Detayları</b>					
Gevşeklik/Hipotoni	40	7	17	25	22
Motor ve mental gelişme geriliği	29	4	13	11	17
Motor gelişme geriliği	21	1	14	8	4
Mental gelişme geriliği	3	-	3	-	-
Başını tutamama	19	5	7	10	11
Nöbet	25	4	15	13	22
Bilinç bulanıklığı	6	3	2	7	4
Kas güçsüzlüğü	27	1	23	14	8
Yürümeye zorlanma	26	2	17	10	8
Çabuk yorulma	21	2	3	8	6
Kas ağrısı/kramp	4	-	2	1	-
Titreme	4	-	-	-	-
İşitme problemleri	5	-	1	1	-
Görme problemleri	12	-	11	3	5
Bakış kısıtlılığı	7	-	6	2	2
Göz kapaklarında düşüklük	12	-	10	4	1
Halsizlik, solukluk	7	1	3	-	-
Solunum sıkıntısı	19	3	10	11	12
Kilo alamama	8	1	8	6	5
Beslenme problemi	8	2	5	5	8
Kusma	5	-	3	3	4
İshal	2	1	-	2	2
Büyüme geriliği	9	-	4	1	-
Boy kısalığı	4	-	1	-	-



#### 4.4. Mitokondriyal Solunum Zinciri Enzim Aktivitesi Ölçümü

Çalışmaya alınan 193 hastanın 56'sında mitokondriyal solunum zinciri enzim aktivitesi ölçümü yapılmıştır. Bunların 26'sı (%46,4) normal olup, 30'unda (%53,6) solunum zinciri enzim eksikliği saptanmıştır (Tablo 4.8.). Bu 30 hastada komplekslere tek tek bakıldığında en sık kompleks IV eksikliği (28 hasta, %93,3) olduğu saptanmıştır. Bunu kompleks I (14 hasta, %46,7) ve kompleks II-III (15 hasta, %50) eksikliği takip etmektedir. 9 (%30) hastada tek bir kompleks, 21 (%70) hastada birden fazla kompleks eksikliği saptanmıştır.

**Tablo 4.8.** Mitokondriyal solunum zinciri enzim aktivitesi ölçümleri dağılımı

Solunum Zinciri (N=56)	N	%
- Normal	26	46,4
- Kompleks IV eksikliği	8	14,3
- Kompleks II-III ve IV eksikliği	7	12,5
- Kompleks I, II-III ve IV eksikliği	7	12,5
- Kompleks I ve IV eksikliği	6	10,7
- Kompleks I eksikliği	1	1,8
- Kompleks II-III eksikliği	1	1,8

Mitokondriyal solunum zinciri enzim aktivitesi ölçümü yapılan 56 hastada E/K=0,86, akrabalık öyküsü bilinen 41 hastanın 19'unda (%46,3) akrabalık öyküsü olduğu, kardeş öyküsü bilinen 40 hastadan 11'inde (%27,5) kardeş öyküsü olduğu, hastalardan 5'inin (%8,9) eksitus olduğu saptanmıştır. Hastaların 38'inin ilk 1 yaş içerisinde, 15'inin 1-6 yaş arasında, 3'ünün 6 yaşından sonra şikayetlerinin başladığı saptanmıştır.

Bu hastaların sistem tutulumları bulguları incelendiğinde 52'sinde (%92,8) nörolojik, 10'unda (%17,8) solunum sistemi, 4'ünde (%7,1) kardiyolojik, 2'ser (%3) hastada gastroenterolojik ve nefrolojik, 1 (%1,7) hastada endokrinolojik tutulum olduğu saptanmıştır (tablo 4.9.). En sık görülen şikayetler incelendiğinde 31'inde (%55,3) gevşeklik, 23'ünde (%41) nöbet, 22'sinde (%39,2) motor ve mental gelişme geriliği, 17'sinde (%30) solunum sıkıntısı olduğu saptanmıştır.

Solunum zinciri enzim düzeyi normal olan iki hastada, kompleks II-III ve IV eksikliği olan bir hastada CoQ10 kullanma öyküsü mevcuttu.

**Tablo 4.9.** Mitokondriyal solunum zinciri enzim aktivitesi ölçülen hastaların sistem tutulumları

	N	%
- Nörolojik	52	92,8
- Solunum Sistemi	10	17,8
- Kardiyolojik	4	7,1
- Endokrinolojik	1	1,7
- Nefrolojik	2	3
- Hematolojik	0	0
- Gastrointestinal	2	3

Bu hastaların histopatolojik bulgularına bakıldığında, mikroskopik değerlendirmede normal bulunan 40, lipid artışı olan 7, COX eksikliği olan 6, SDH eksikliği olan 4 ve anormal mitokondriyal dağılım olan 3 hastada solunum zinciri çalışıldığı saptandı. Biyokimyasal incelemelerin mikroskopik bulgularla karşılaştırması tablo 4.10.'da verilmiştir.

**Tablo 4.10.** Mitokondriyal solunum zinciri enzim aktivitesi ölçümü sonuçları ile mikroskopik bulguların karşılaştırması

Mitokondriyal Solunum Zinciri Enzim Aktivitesi Ölçümü	COX eksikliği	SDH eksikliği	Anormal Mitokondriyal Dağılım	Lipid birikimi	Normal mikroskopik bulgular
Normal	1	0	1	3	21
Patolojik	5	4	2	4	19
Toplam	6	4	3	7	40

Mikroskopik değerlendirmede patolojik bulgu görülmeyen 40 hastanın 19’unda (%47,5) solunum zinciri analizinde bir veya daha fazla komplekste eksiklik saptanmıştır.

#### 4.5. Klinik Skorlama

Hastaların hastane dosyası, patoloji raporları ve hastane otomasyon sistemi kayıtlarındaki bilgileri ile kas biyopsisi bulguları birlikte değerlendirilip, Ek 1’de verilen mitokondriyal hastalık tanı kriterlerine göre puanlamaları yapılmıştır. Çalışmada yer alan hastaların aldığı puanlar ve klinik skorları tablo 4.11.’de yer almaktadır.

**Tablo 4.11.** Hastaların klinik skorlamaları

Klinik skorlama (N:192)	N	%
“1” puan “olası değil”	2	1
“2-4 puan” “mümkün”	37	19,2
“5-7 puan” “muhtemel”	85	44,3
“8-12 puan” “kesin”	68	35,4

Vakaların histopatolojik değerlendirmelerinin öncesi ve sonrasındaki puanları karşılaştırıldığında, histopatolojik değerlendirmenin 134 hastada (%69,4) sınıflamayı değiştirerek bir üst sınıfa taşıdığı görülmüştür. Klinik ve laboratuvar sonuçlarına ulaşılamamış, histopatolojik olarak da patolojik boyanma göstermeyen “0” puan alan bir hasta mevcuttur. Klinik skoru “1” olan iki hastanın her ikisinin de boyanma paternleri ve mitokondriyal solunum zinciri enzim aktivitesi ölçümü normaldir.

#### 4.6. COX boyası ile COX Eksikliği Saptanan Hastaların Klinik ve Laboratuvar Bulguları

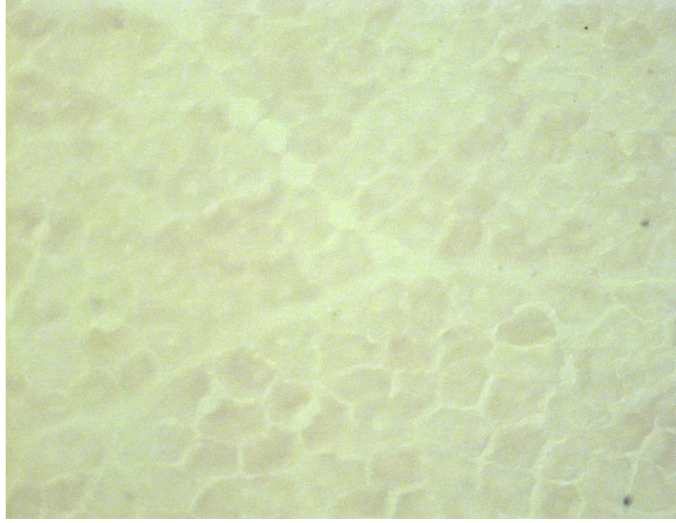
Çalışmadaki toplam 193 hastadan 107’sinin kas biyopsilerinde COX eksikliği (COX boyası ile çok soluk/negatif, soluk veya mozaik boyanma paterni saptanmıştır.

COX eksikliği saptanan 107 hasta için E/K oranı 1,05, akrabalık öyküsü bilinen 70 hastadan 41'inde (%58,6) anne-baba arasında akrabalık öyküsü olduğu, kardeş öyküsü bilinen 92 hastanın 17'sinde (%18,5) kardeşinde de benzer şikayetlerinin olduğu, 26'sının (%24,3) eksitus olduğu saptanmıştır.

107 hastanın şikayetlerinin başlama yaşları incelendiğinde 30'unun (%28) 1 yaşından küçük, 40'ının (%37,4) 1-6 yaş arasında, 37'sinin (%34,6) 6 yaşından sonra olduğu görüldü.

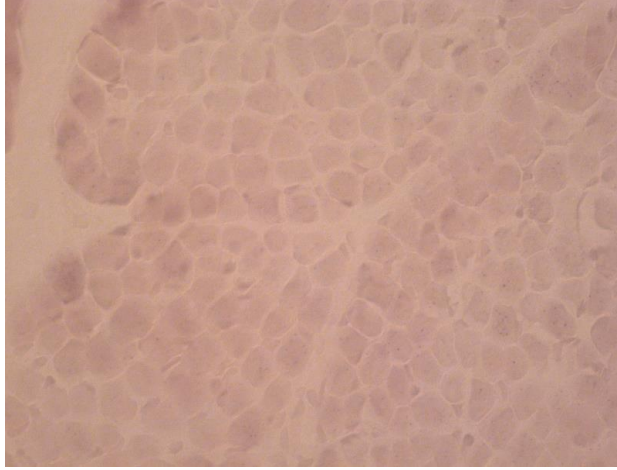
COX eksikliği saptanan 107 hastada en sık görülen sistem tutulumları 99'unda (%92,5) nörolojik, 18'inde (%16,8) solunum sistemi, 8'inde (%7,4) kardiyolojik, 6'şar (%5,6) hastada nefrolojik ve hematolojik olarak saptanmıştır. 107 hasta içinde en sık görülen şikayetler 40'ında (%37,3) gevşeklik, 29'unda (%27,1) motor ve mental gelişme geriliği, 26'sında (%24,3) kas güçsüzlüğü ve yürümede zorlanma, 25'inde (%23,4) nöbet, 19'unda (%17,7) başını tutamama ve solunum sıkıntısı olarak saptanmıştır. En sık saptanan fizik muayene bulguları 19'unda (%17,7) motor kuvvet kaybı, 18'inde (%16,8) hipotoni ile motor ve mental gelişme geriliği, 15'inde (%14) DTR alınamıyor/azalmış ve 13'ünde (%12) oftalmopleji olarak bulunmuştur.

21 hastada COX boyası ile çok soluk/negatif boyanma saptanmıştır (Şekil 4.1.). E/K oranı 0,9 olup, akrabalık öyküsü bilinen 11 hastadan 8'inde (%72,7) anne-baba arasında akrabalık öyküsü olduğu, kardeş öyküsü bilinen 17 hastadan 3'ünün (%17,6) kardeşinde benzer şikayetlerinin olduğu, 8'inin (%38,1) eksitus olduğu saptanmıştır. 21 hastanın şikayetlerinin başlama yaşları incelendiğinde, 6'sının (%28,6) 1 yaşından küçükken, 4'ünün (%19) 1-6 yaş arasında, 11'inin (%52,4) 6 yaşından sonra olduğu görülmüştür. En sık görülen sistem tutulumları 17'sinde (%81) nörolojik, 6'sında (%28,6) solunum sistemi, 2'sinde (%9,5) nefrolojik olurken, en sık saptanan şikayetler 8'inde (%38,1) solunum sıkıntısı, 6'sında (%28,6) gevşeklik ile motor ve mental gelişme geriliği olarak saptanmıştır. 21 hastadan 5'inde (%23,8) hipotoni ile motor ve mental gelişme geriliği ve DTR azalmış/alınamıyor olması, 3'er (%14,3) hastada motor kuvvet kaybı ve malnutrisyon en sık görülen fizik muayene bulguları olarak bulunmuştur.



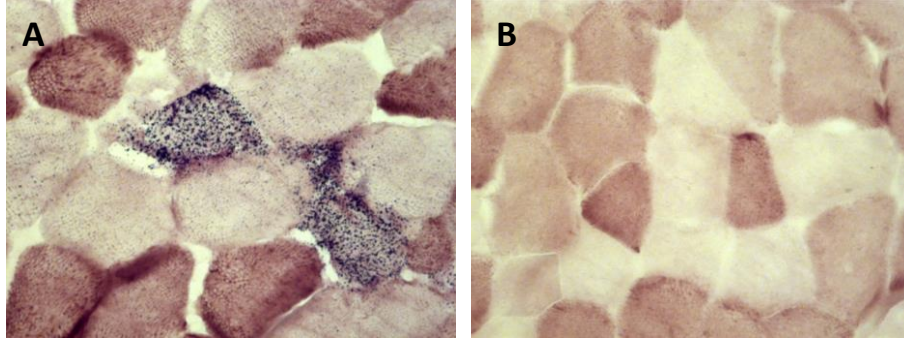
**Şekil 4.1.** COX boyasında COX negatif kas lifleri

33 hastada COX boyası ile soluk boyanma saptanmıştır (Şekil 4.2.). E/K oranı:1,53 olup, akrabalık öyküsü bilinen 21 hastadan 14'ünde (%66,6) anne-baba arasında akrabalık öyküsü olduğu, kardeş öyküsü bilinen 26 hastanın 7'sinin (%26,9) kardeşinde de benzer şikayetlerinin olduğu, 6'sının (%18,1) eksitus olduğu saptanmıştır. Şikayetlerinin başlama yaşları incelendiğinde 3'ünün (%9,1) 1 yaşından küçükken, 8'inin (%24,2) 1-6 yaş arasında, 22'sinin (%66,7) 6 yaşından sonra başladığı saptanmıştır. En sık görülen sistem tutulumları 33'ünde nörolojik, 4'ünde kardiyolojik ve hematolojik olduğu görülürken, en sık görülen şikayetler 16'sında (%48,5) gevşeklik, 15'inde (%45,5) motor ve mental gelişme geriliği olarak saptanmıştır. 33 hastadan 10'unda (%30,3) hipotoni ile motor ve mental gelişme geriliği, 6'sında (%18,1) motor kuvvet kaybı, 5'er (%15,1) hastada DTR azalmış/alınamıyor olması ile motor ve mental gelişme geriliği sık görülen fizik muayene bulguları olarak bulunmuştur.



**Şekil 4.2.** Kas liflerinde soluk COX boyanması

53 hastada COX boyası ile mozaik boyanma saptanmıştır (Şekil 4.3.). E/K oranı 0,89 olup, akrabalık öyküsü bilinen 38 hastadan 19'unda (%50) anne-baba arasında akrabalık öyküsü olduğu, kardeş öyküsü bilinen 49 hastanın 7'sinin (%14,3) kardeşinde de benzer şikayetlerinin olduğu, 12'sinin (%22,6) eksitus olduğu saptanmıştır. Şikayetlerinin başlama yaşları incelendiğinde 6'sının (%11,3) 1 yaşından küçükken, 12'sinin (%22,6) 1-6 yaş arasında, 35'inin (%66) 6 yaşından sonra olduğu saptanmıştır. En sık görülen sistem tutulumları 48'inde (%90,6) nörolojik, 10'unda (%18,9) solunum sistemi olurken, en sık saptanan şikayetler 18'inde (%34) gevşeklik, 15'inde (%28,3) kas güçsüzlüğü, 14'ünde (%26,4) yürümede zorlanma ve motor gelişme geriliği, 13'ünde (%24,5) nöbet olarak bulunmuştur. 53 hastadan 11'inde (%20,7) ptosis, 10'unda (%18,8) motor kuvvet kaybı, 9'unda (%17) oftalmopleji en sık görülen fizik muayene bulguları olarak bulunmuştur.



**Şekil 4.3.** Mozaik paternde COX eksikliği. COX/SDH boyasında COX negatif lifler SDH ile lacivert renkli boyanmış olarak görülüyor (A), COX boyasında bazı lifler COX pozitif (kahve-bej renkli) bazı lifler COX negatif (B)

COX eksikliği olan hastaların şikayetlerinin dağılımları tablo 4.12.'de verilmiştir.

**Tablo 4.12.** COX boyası ile COX eksikliği saptanan hastaların sistem tutulumları ve şikayetlerinin dağılımları

	COX boyası					
	Negatif/Çok soluk		Soluk		Mozaik	
	N	%	N	%	N	%
- Nörolojik	17	81,0	33	100,0	48	90,6
- Solunum Sistemi	6	28,6	2	6,1	10	18,9
- Kardiyolojik	1	4,8	4	12,1	3	5,7
- Endokrinolojik	1	4,8	1	3,0	5	9,4
- Nefrolojik	2	9,5	2	6,1	2	3,8
- Hematolojik	1	4,8	4	12,1	1	1,9
- Gastrointestinal	0	0	0	0	2	3,8
- Gevşeklik/hipotoni	6	28,6	16	48,5	18	34
- Motor ve mental gelişme geriliği	6	28,6	15	45,5	8	15,1
- Sadece motor gelişme geriliği	4	19,0	3	9	14	26,4
- Sadece mental gelişme geriliği	-	-	1	3	2	3,7
- Nöbet	4	19,0	7	21,2	13	24,5
- Bilinç bulanıklığı	2	9,5	1	3	3	5,6
- Kas güçsüzlüğü	5	23,8	9	27,2	15	28,3
- Yürümede zorlanma	5	23,8	7	21,2	14	26,4
- Çabuk yorulma	1	4,7	8	24,2	12	22,6
- Kas ağrısı/kramp	-	-	2	6	2	3,7
- Titreme	3	14,3	1	3	-	-
- İşitme kaybı	-	-	1	3	4	7,5
- Görme problemleri	1	4,7	5	15,1	6	11,3
- Bakış kısıtlılığı	2	9,5	-	-	8	15,1
- Göz kapaklarında düşüklük	-	-	1	3	10	18,8
- Halsizlik, solukluk	1	4,7	4	12,1	2	3,7
- Solunum sıkıntısı, morarma	8	38,1	2	6	9	17
- Kilo düşüklüğü/kilo alamama	2	9,5	2	6	8	15,1
- Beslenme problemi	-	-	5	15,1	3	5,6
- Kusma	-	-	2	6	3	5,6
- İshal	-	-	1	3	1	1,8
- Büyüme geriliği	2	9,5	1	3	5	9,4
- Boy kısalığı	1	4,7	-	-	1	1,8

Kas biyopsi örneklerinde COX eksikliği saptanan hastaların laboratuvar verileri incelendiğinde, 46 hastadan 23'ünde (%50) CK yüksekliği mevcuttur. COX boyası ile çok soluk/negatif boyanan 2, COX boyası ile soluk boyanan 3, COX boyası ile mozaik boyanan 18 hastanın CK değerinin eşik değerin üzerinde olduğu



görülmüştür. 10 hastada CK >1000 U/L olup, en yüksek CK değeri 8609 U/L olarak bulunmuştur.

ALT sonucuna ulaşılan 34 hastadan 11'inde (%32,3), (COX boyası ile soluk boyanan 5, mozaik boyanan 6 hastada) ALT yüksekliği saptanmıştır.

AST sonucuna ulaşılan 34 hastadan 23'ünde (%67,6) (COX boyası ile çok soluk/negatif boyanan grupta 2, soluk boyanan grupta 9, mozaik boyanan grupta 12 hastanın) AST değerleri eşik değerin üzerindedir. COX boyası ile çok soluk ve soluk boyanan 1'er hastada bilirubin yüksekliği olduğu görülmüştür.

Böbrek fonksiyon testleri değerlendirilen 33 hastadan COX boyası ile negatif boyanan grupta 1 hastada elektrolit bozukluğu, soluk boyanan grupta 2 ve mozaik boyanan grupta 1 hastada kreatinin yüksekliği saptanmıştır.

COX boyası ile çok soluk boyanan grupta 7, soluk boyanan grupta 9, mozaik boyanan grupta 11 hastada olmak üzere, laktat bakılan 46 hastadan 27'sinin (%58,7) laktat değeri eşik değerin üzerinde bulunmuştur. COX boyası ile çok soluk boyanan grupta 6, soluk boyanan grupta 10, mozaik boyanan grupta 11 hastada olmak üzere toplam 37 hastadan 27'sinin (%73) pirüvat değeri eşik değerin üzerinde bulunmuştur. COX boyası ile COX eksikliği saptanan hastaların laboratuvar bulguları Tablo 4.13.'de verilmiştir.

Ardışık kütle spektrometrisi değerlendirilen 38 hastadan COX boyası ile soluk boyanan grupta 1, mozaik boyanan grupta 3 hastada anormallik olduğu görülmüştür. İKAA değerlendirmesi yapılan 39 hastadan COX boyası ile soluk boyanan grupta 1 ve mozaik boyanan grupta 2 hastada anormal sonuç elde edilmiştir. İOA 45 hastada bakılmış olup, COX boyası ile çok soluk boyanan grupta 5, soluk boyanan grupta 4 ve mozaik boyanan grupta 5 hastada idrarda organik asit atılımı saptanmıştır.

**Tablo 4.13.** COX boyası ile COX eksikliği saptanan hastaların laboratuvar bulguları

	COX boyası		
	Negatif/Çok soluk	Soluk	Mozaik
	Ortalama ± SS	Ortalama ± SS	Ortalama ± SS
CK	1489 ± 2004,52	873 ± 2454,48	855,92 ± 1255,47
ALT	30,67 ± 18,01	225,79 ± 508,23	66,6 ± 66,29
AST	63,33 ± 47,61	87,07 ± 116,24	78,2 ± 58,63
Laktat	29,99 ± 18,64	17,4 ± 10,14	26,28 ± 21,11
Pirüvat	1,99 ± 1,92	1,31 ± 0,41	1,52 ± 0,88
Laktat/Pirüvat	18,94 ± 11,53	12,3 ± 6,48	22,56 ± 21,06

COX boyası ile COX eksikliği saptanan 107 hastadan 6'sında solunum zincir enzim düzeyi çalışılmıştır. Bunların 5'inde mikroskopik bulgularla uyumlu olarak biyokimyasal olarak da kompleks IV eksikliği saptanmıştır. Mikroskopik olarak COX çok soluk/negatif saptanan bir hastanın ise solunum zinciri aktivitesi normal olarak bulunmuştur. Bu hastaların patolojik boyanma alt gruplarına göre solunum zinciri enzim düzeylerinin dağılımı Tablo 4.14. 'de verilmiştir.

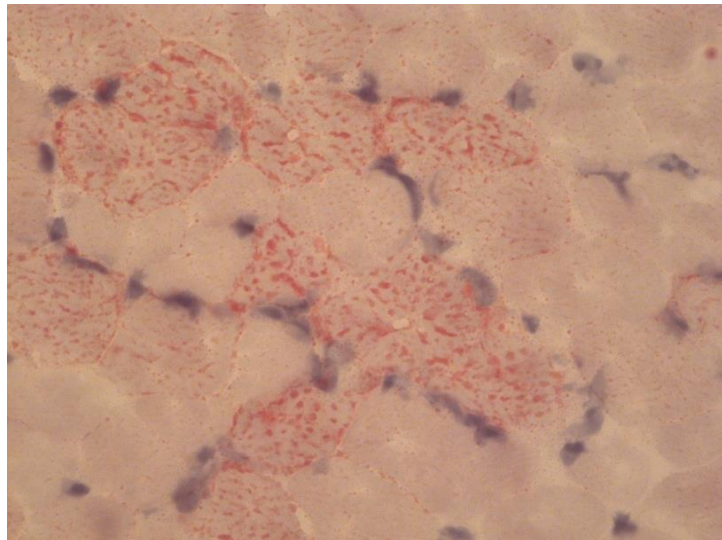
**Tablo 4.14.** COX boyası ile COX eksikliği saptanan hastaların mitokondriyal solunum zinciri enzim aktivitesi ölçümü

Solunum Zinciri	COX boyası		
	Negatif/Çok soluk	Soluk	Mozaik
Normal	1	0	0
Kompleks I eksikliği	0	0	0
Kompleks II-III eksikliği	0	0	0
Kompleks IV eksikliği	0	2	1
Kompleks I ve IV eksikliği	0	1	0
Kompleks II-III ve IV eksikliği	0	1	0
Kompleks I, II-III ve IV eksikliği	0	0	0

#### 4.7. ORO Boyası ile Lipid Birikimi Saptanan Hastaların Klinik ve Laboratuvar Bulguları

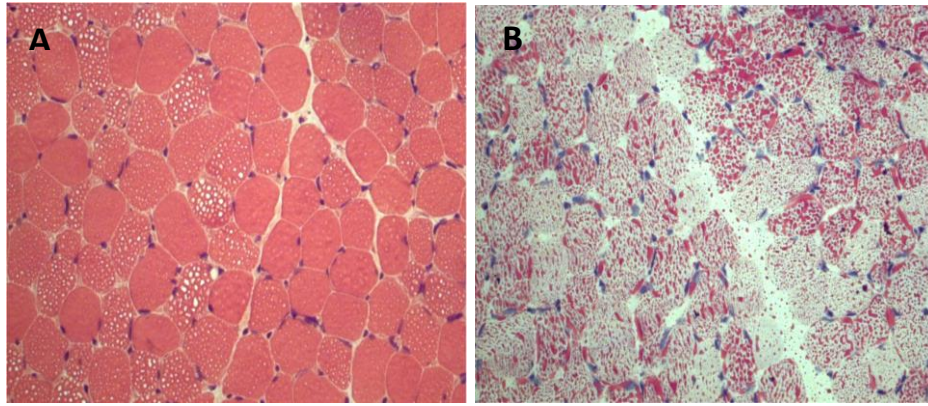
Çalışmadaki toplam 193 hastadan 51'inin kas biyopsilerinde ORO boyası ile lipid birikimi (44 hastada hafif lipid artışı, 7 hastada lipid miyopatisi) saptanmıştır.

44 hastada hafif lipid artışı saptanmıştır (Şekil 4.4.). E/K oranı 1,2 olup, akrabalık öyküsü bilinen 31 hastadan 19'unda (%61,2) anne-baba arasında akrabalık öyküsü olduğu, kardeş öyküsü bilinen 31 hastadan 8'inin (%25,8) kardeşinde de benzer şikayetlerin olduğu, 11'inin (%25) eksitus olduğu saptanmıştır. Şikayetlerinin başlama yaşları incelendiğinde 20'sinin (%45,4) 1 yaşından küçükken, 14'ünün (%31,8) 1-6 yaş arasında, 10'unun (%22,7) 6 yaşından sonra olduğu saptanmıştır. Bu hastaların en sık görülen sistem tutulumları incelendiğinde 42'sinde (%95,4) nörolojik, 8'inde (%18,1) solunum sistemi, 5'inde (%11,3) kardiyolojik tutulum olduğu görülmüştür (Tablo 4.15.). En sık görülen şikayetler incelendiğinde 23'ünde (%52,2) gevşeklik, 14'ünde (%31,8) nöbet, 12'sinde (%27,2) motor ve mental gelişme geriliği olduğu saptanmıştır. 44 hastadan 8'inde (%18,1) hipotoni ile motor ve mental gelişme geriliği, 7'sinde (%15,9) hipotoni ve motor gelişme geriliği, 7'sinde (%15,9) DTR azalmış/alınamıyor olması en sık saptanan fizik muayene bulguları olarak saptanmıştır.



Şekil 4.4. ORO boyası ile bazı liflerde hafif lipid artışı bulgusu

7 hastada lipid miyopatisi saptanmıştır (Şekil 4.5.). E/K oranı 0,75 olup, akrabalık öyküsü bilinen 4 hastadan 3'ünde (%75) anne-baba arasında akrabalık öyküsü olduğu, kardeş öyküsü bilinen 2 hastadan 1'inde (%50) kardeşinde de benzer şikayetlerinin olduğu, 3'ünün (%42,8) eksitus olduğu saptanmıştır. Şikayetlerinin başlama yaşları incelendiğinde, 3'ünün (%42,8) 1-6 yaş arasında, 4'ünün (%57,1) 6 yaşından sonra başladığı saptanmıştır. En sık görülen sistem tutulumları incelendiğinde 7'sinin de (%100) nörolojik bulgularla geldiği, sadece birinde (%14,2) GİS tutulumu da (kusma, kilo alamama) olduğu saptanmıştır (Tablo 4.15.). En sık görülen şikayetler incelendiğinde 4'ünde (%57,1) kas güçsüzlüğü, 3'ünde (%42,9) yürümede zorlanma olduğu görülmüştür. 7 hastanın 4'ünde motor kuvvet kaybı bulunurken, 2 hastada DTR azalmış/alınamıyor olması en sık görülen fizik muayene bulguları olarak saptanmıştır.



**Şekil 4.5.** Vakuoler miyopati ve artmış lipid birikimi. HE boyasında kas liflerinde vakuoler görünüm (A) ve Oil-red-O boyası ile liflerde iri granüller şeklinde belirgin pozitif boyanma (lipid artışı) mevcut (B).

**Tablo 4.15.** ORO boyası ile lipid birikimi saptanan hastaların sistem tutulumları ve şikayetlerinin dağılımı

	ORO boyası			
	Lipid artışı		Lipid miyopatisi	
	N	%	N	%
- Nörolojik	42	95,5	7	100,0
- Solunum Sistemi	8	18,2	0	0
- Kardiyolojik	5	11,4	0	0
- Endokrinolojik	1	2,3	0	0
- Nefrolojik	0	0	0	0
- Hematolojik	0	0	0	0
- Gastrointestinal	2	4,5	1	14,3
- Gevşeklik/hipotoni	23	52,2	1	14,2
- Motor ve mental gelişme geriliği	12	27,2	-	-
- Motor gelişme geriliği	6	13,6	2	28,6
- Mental gelişme geriliği	-	-	-	-
- Başını tutamama	10	22,7	-	-
- Nöbet	14	31,8	-	-
- Bilinç bulanıklığı	7	15,9	-	-
- Kas güçsüzlüğü	10	22,7	4	57,1
- Yürümede zorlanma	7	15,9	3	42,9
- Çabuk yorulma	6	13,6	2	28,6
- Kas ağrısı/kramp	-	-	1	14,2
- Titreme	-	-	-	-
- İşitme kaybı	1	2,2	-	-
- Görme problemleri	2	4,5	1	14,2
- Bakış kısıtlılığı	3	6,8	-	-
- Göz kapaklarında düşüklük	3	6,8	-	-
- Halsizlik, solukluk	-	-	-	-
- Solunum sıkıntısı, morarma	11	25	-	-
- Kilo düşüklüğü/kilo alamama	5	11,3	1	14,2
- Beslenme problemi	5	11,3	-	-
- Kusma	2	4,5	1	14,2
- İshal	2	4,5	-	-
- Büyüme geriliği	1	2,2	-	-
- Boy kısalığı	-	-	-	-

Kas biyopsilerinde Oil red-O boyası ile artmış lipid birikimi saptanan hastaların laboratuvar verileri incelendiğinde (Tablo 4.16.) CK bakılan 26 hastadan 17'sinde (%65,3) CK yüksekliği mevcuttu. Lipid artışı olan grupta 12 hastada, lipid

miyopatisi olan grupta 5 hastada CK düzeyi yüksek saptandı. 8 hastanın CK değeri >1000 U/L üzerinde olup, en yüksek CK değeri 7562 U/L olarak bulunmuştur.

Sonucuna ulaşılan 22 hastadan lipid artışı olan grupta 9, lipid miyopatisi olan grupta 3 hastada ALT yüksekliği, yine sonucuna ulaşılan 22 hastadan lipid artışı olan grupta 13, lipid miyopatisi olan grupta 3 hastada AST yüksekliği saptanmıştır. Bilirubin ölçümü olan 19 hastanın ve böbrek fonksiyon testleri sonuçlarına ulaşılabilen 17 hastanın hiçbirinde anormal sonuç gözlenmemiştir.

LA sonucuna ulaşılan 22 hastadan lipid artışı olan grupta 12, lipid miyopatisi olan grupta 1 hastada LA yüksekliği saptanmıştır. Lipid artışı gözlenen grupta 18 hastadan 14'ünden (%77,7) piruvat yüksekliği saptanırken, lipid miyopatisi olan grupta anormal değer gözlenmemiştir. Ardışık kütle spektrometri tetkik sonuçları değerlendirilen lipid artışı olan grupta toplam 21 hastadan 3'ünde anormallik saptanmıştır. İKAA değerlendirmesi yapılan lipid artışı olan grupta 21 hastanın 2'sinde anormallik saptanmıştır. İOA tetkiki 22 hastada tetkik edilmiş olup, lipid artışı olan grupta 9'unda idrarda OA artışı saptandı. Lipid miyopatisi hastalarında ardışık kütle spektrometri, İKAA ve İOA tetkik sonuçlarında anormallik saptanmamıştır.

**Tablo 4.16.** ORO boyası ile lipid birikimi saptanan hastaların laboratuvar bulguları

	Oil red O boyası	
	Lipid artışı	Lipid miyopatisi
	Ortalama ± SS	Ortalama ± SS
<b>CK</b>	664,67 ± 981,78	2785,40 ± 3031,89
<b>ALT</b>	69,72 ± 65,31	207,00 ± 260,68
<b>AST</b>	93,83 ± 79,99	503,00 ± 735,44
<b>Laktat</b>	29,40 ± 21,12	16,00 ± 18,10
<b>Piruvat</b>	1,68 ± 0,81	-
<b>LA/P</b>	23,18 ± 19,67	-

Oil red O boyası ile lipid birikimi saptanan hastalardan solunum zincir enzim düzeyi çalışılan 7 hastanın dağılımı Tablo 4.17'de verilmiştir. Hastaların %42,9'unda solunum zinciri normal bulunurken, 2 hastada kompleks IV, 1'er hastada kompleks I ve II-III ve IV eksikliği saptanmıştır.

**Tablo 4.17.** ORO boyası ile lipid birikimi saptanan hastaların mitokondriyal solunum zinciri enzim aktivitesi ölçümü

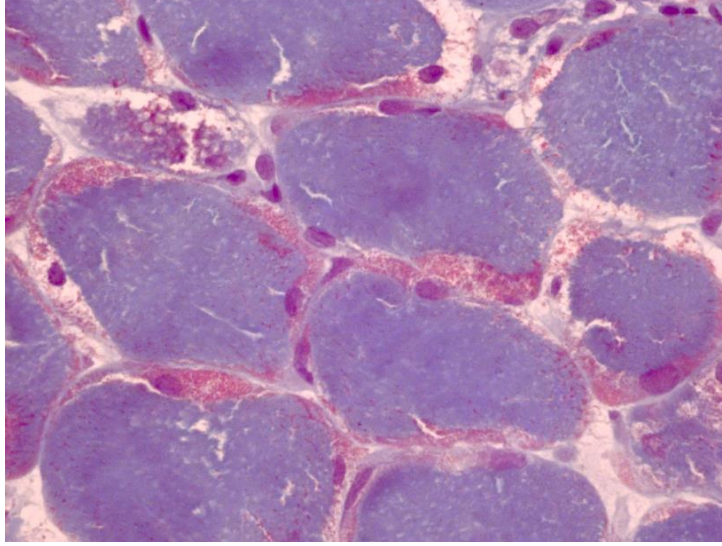
Solunum Zinciri	ORO boyası	
	Lipid Artışı	Lipid miyopatisi
Normal	3	0
Kompleks I eksikliği	1	0
Kompleks II-III eksikliği	0	0
Kompleks IV eksikliği	2	0
Kompleks I ve IV eksikliği	0	0
Kompleks II-III ve IV eksikliği	1	0
Kompleks I, II-III ve IV eksikliği	0	0

#### 4.8. Anormal Mitokondriyal Dağılım Saptanan Hastaların Klinik ve Laboratuvar Bulguları

Çalışmadaki toplam 193 hastadan 82'sinin kas biyopsilerinde anormal mitokondriyal dağılım (23 hastada RRF, 36 hastada RBF, 23 hastada subsarkolemmal birikim) saptanmıştır.

23 hastanın kas biyopsisi mikroskopik incelemesinde RRF saptanmıştır (Şekil 4.6.). E/K oranı 0,91 olup, akrabalık öyküsü bilinen 18 hastadan 10'unda (%55,5) anne-baba arasında akrabalık öyküsü olduğu, kardeş öyküsü bilinen 22 hastanın 6'sında (%27,2) kardeşinde de benzer şikayetlerinin olduğu, 6'sının (%26) eksitus olduğu saptanmıştır. 23 hastanın 11'inin (%47,8) şikayetlerin 1 yaşından küçükken, 11'inin (%47,8) 1-6 yaş arasında, 1'inin (%4) 6 yaşından sonra görüldü. Hastaların şikayetlerinin başlama yaşı ortalama  $29,3 \pm 39,8$  ay (ortanca: 14 ay) olarak bulunmuştur. RRF saptanan 23 hastanın sistem tutulumları incelendiğinde 23'ünde (%100) nörolojik 5'inde (%21,7) solunum sistemi, 4'ünde (%17,4) kardiyolojik tutulum görülürken, en sık görülen şikayetler 11'inde (%47,8) kas güçsüzlüğü, 8'inde (%34,7) çabuk yorulma, 6'sında (%26) yürümede zorlanma olarak saptanmıştır. 23 hastadan 7'sinde (%30,4)

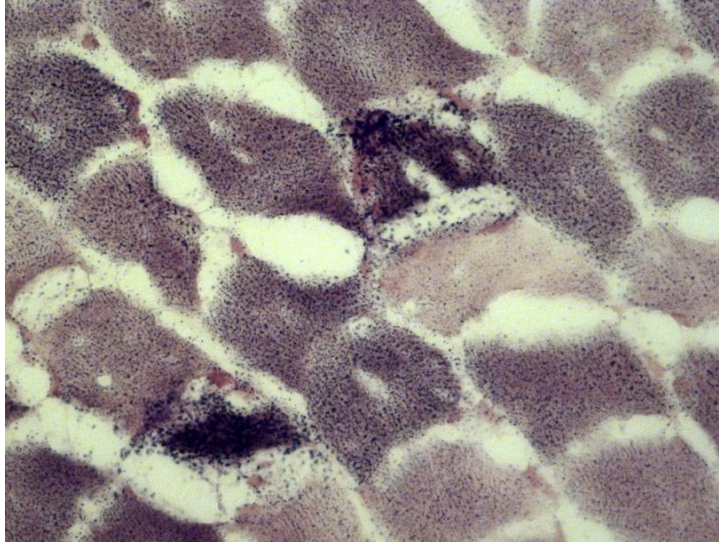
motor kuvvet kaybı, 4'ünde (%17,4) hipotoni, 3'er (%13) hastada ptozis ve oftalmopleji en sık saptanan fizik muayene bulguları olarak bulunmuştur.



**Şekil 4.6.** Gomori trikrom boyası ile RRF görünümü

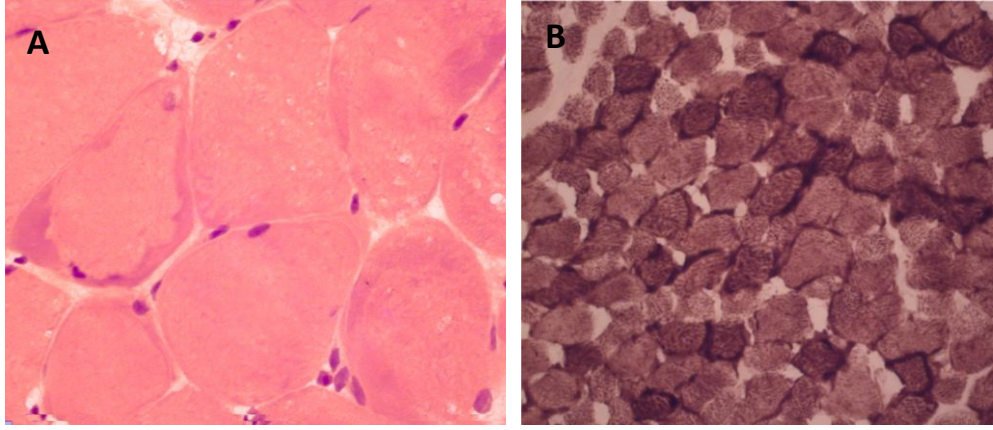
36 hastanın kas biyopsisi mikroskopik incelemesinde RBF saptanmıştır (Şekil 4.7.). E/K oranı 0,89 olup, akrabalık öyküsü bilinen 25 hastadan 11'inde (%44) anne-baba arasında akrabalık öyküsü olduğu, kardeş öyküsü bilinen 33 hastanın 6'sında (%18,1) kardeşinde de benzer şikayetlerinin olduğu, 10'unun (%27,7) eksitus olduğu saptanmıştır. 36 hastanın 17'sinin (%47,2) şikayetlerin 1 yaşından küçükken, 16'sının (%44,4) 1-6 yaş arasında, 3'ünün (%8) 6 yaşından sonra başladığı görülmüştür. Hastaların şikayetlerinin başlama yaşı ortalama  $38,3 \pm 46,4$  ay (ortanca: 17,5 ay) olarak bulunmuştur. RBF saptanan 36 hastada en sık görülen sistem tutulumları 35'inde (%97,2) nörolojik, 6'sında (%16,6) endokrinolojik olurken, en sık görülen şikayetler 16'sında (%44,4) kas güçsüzlüğü, 13'ünde (%36,1) çabuk yorulma, 12'sinde (%33,3) yürümede zorlanma ve gevşekliliktir. 36 hastadan 10'unda (%27,7) motor kuvvet kaybı, 7'sinde (%19,4) hipotoni ve motor gelişme geriliği ve ptozis, 6'sında (%16,6) oftalmopleji en sık saptanan fizik muayene bulguları olarak bulunmuştur.





**Şekil 4.7.** SDH boyası ile RBF görünümü

23 hastanın kas biyopsisi mikroskopik incelemesinde subsarkolemmal birikim saptanmıştır (Şekil 4.8.). E/K oranı 1,3 olup, akrabalık öyküsü bilinen 16 hastadan 8'inde (%50) anne-baba arasında akrabalık öyküsü olduğu, kardeş öyküsü bilinen 21 hastanın 3'ünün (%14,2) kardeşinde de benzer şikayetlerinin olduğu, 3'ünün (%13) eksitus olduğu saptanmıştır. 23 hastanın 8'inde (%34) şikayetlerin 1 yaşından küçükken, 9'unda (%39) 1-6 yaş arasında, 6'sında (%26) 6 yaşından sonra başladığı görülmüştür. Hastaların şikayetlerinin başlama yaşı ortalama  $74 \pm 60,89$  ay (ortanca: 48 ay) olarak bulunmuştur. En sık görülen sistem tutulumu 23'ünde (%100) de görülen nörolojik sistem olurken, en sık görülen şikayetlerin 7'ser (%30) hastada görülen motor ve mental gelişme geriliği, nöbet ve yürümede zorlanma olduğu saptanmıştır. 23 hastadan 6'sında (%26,1) motor ve mental gelişme geriliği, 4'ünde (%17,4) DTR azalmış/alınamıyor olması, 3'er (%13) hastada spastisite ve ptozis en sık saptanan fizik muayene bulguları olarak bulunmuştur.



**Şekil 4.8.** Hematoksilen Eozin (A) ve COX boyası (B) ile subsarkolemmal mitokondriyal birikim

Anormal mitokondriyal dağılım gösteren hastaların şikayetlerinin sistemlere göre dağılımı incelendiğinde üç grupta da nörolojik şikayetlerin en sık olduğu görülmüştür. RRF ve RBF görülen grupta kas güçsüzlüğü ve çabuk yorulma şikayetinin, subsarkolemmal birikim saptanan grupta mental motor retardasyon, nöbet ve yürüme bozukluklarının en sık karşımıza çıkan şikayetler olduğu görülmektedir. Şikayetlerin detaylı dağılımı Tablo 4.18’de gösterilmektedir.

**Tablo 4.18.** Anormal mitokondriyal dağılım saptanan hastaların sistem tutulumları ve şikayetlerinin dağılımı

	Anormal mitokondriyal dağılım					
	RRF		Subsarkolemmal Birikim		RBF	
	N	%	N	%	N	%
- Nörolojik	23	65,7	23	79,3	35	67,3
- Solunum Sistemi	5	14,3	1	3,4	5	9,6
- Kardiyolojik	4	11,4	1	3,4	2	3,8
- Endokrinolojik	2	5,7	-	-	6	11,5
- Nefrolojik	-	-	1	3,4	3	5,8
- Hematolojik	1	2,9	1	3,4	1	1,9
- Gastrointestinal	-	-	2	6,9	-	-
- Gevşeklik/hipotoni	9	39,1	2	8,6	12	33,3
- Motor ve mental gelişme geriliği	3	13	7	30,4	3	8,3
- Sadece motor gelişme geriliği	5	21,7	2	8,6	12	33,3
- Sadece mental gelişme geriliği	1	4,3	1	4,3	2	5,5
- Nöbet	2	8,6	7	30,4	8	22,2
- Bilinç bulanıklığı	-	-	2	8,6	1	2,7
- Kas güçsüzlüğü	11	47,8	5	21,7	16	44,4
- Yürümede zorlanma	6	26	7	30,4	12	33,3
- Çabuk yorulma	8	34,7	3	13	13	36,1
- Kas ağrısı/kramp	-	-	1	4,3	1	2,7
- Titreme	-	-	-	-	-	-
- İşitme kaybı	-	-	1	4,3	-	-
- Görme problemleri	1	4,3	4	17,3	7	19,4
- Bakış kısıtlılığı	2	8,6	1	4,3	5	13,8
- Göz kapaklarında düşüklük	3	13	3	13	7	19,4
- Halsizlik, solukluk	2	8,6	2	8,6	2	5,5
- Solunum sıkıntısı, morarma	4	17,3	5	21,7	4	11,1
- Kilo düşüklüğü/kilo alamama	4	17,3	1	4,3	6	16,6
- Beslenme problemi	2	8,6	2	8,6	1	2,7
- Kusma	1	4,3	2	8,6	-	-
- İshal	-	-	-	-	-	-
- Büyüme geriliği	3	13	-	-	5	13,8
- Boy kısalığı	1	4,3	-	-	1	2,7

Kas biyopsisinde RRF bulgusu olan 14 hastanın 9'unda (ortanca: 360 U/L, maksimum: 2867 U/L), anormal mitokondri görülen grupta 18 hastadan 14'ünde (ortanca: 131 U/L maksimum: 5696 U/L), RBF görülen grupta 10 hastadan 4'ünde (ortanca: 427 U/L, maksimum: 2867 U/L) CK değerinin eşik değerin üzerinde olduğu

görülmüştür. 6 hastanın CK değeri >1000 U/L iken, en yüksek görülen değer 5696 U/L olarak saptanmıştır.

RRF bulgusu olan 8 hastadan 2'sinde ALT, 5'inde AST değeri eşik değer üzerinde bulunmuştur. Anormal mitokondri görülen grupta ALT değerleri 12 hastadan 3'ünde, AST değerleri 12 hastadan 9'unda eşik değerin üzerinde bulunmuştur. RBF görülen grupta 9 hastadan 1'inde ALT, 5'inde AST eşik değerin üzerinde bulunmuştur.

RRF bulgusu olan grupta 8 hastadan 5'inde laktat değerinin, 8 hastadan 5'inde pirüvat değerinin eşik değerinin üzerinde olduğu görülmüştür. Anormal mitokondriyal dağılımın görüldüğü grupta 12 hastadan 7'sinde laktat değerinin, 12 hastadan 8'inde pirüvat değerinin eşik değerinin üzerinde olduğu görülmüştür. RBF görülen grupta 9 hastadan 1'inde laktat değerinin, 8 hastadan 4'ünde pirüvat değerinin eşik değerinin üzerinde olduğu görülmüştür.

Böbrek fonksiyonları değerlendirilen hastalardan RRF görülen 8 hastanın tümünün sonuçları normaldir. Anormal mitokondri görülen 12 hastadan 2'sinde elektrolit bozukluğu, kreatinin yüksekliği görülmüştür. RBF görülen ve böbrek fonksiyon testleri değerlendirilen 7 hastadan sadece birinde elektrolit bozukluğu görülmüştür. Anormal mitokondriyal dağılım saptanan hastaların laboratuvar bulguları Tablo 4.19.'da gösterilmiştir.

Ardışık kütle spektrometrisi değerlendirilen hastalarda RRF görülen 8 hastanın 1'inde, anormal mitokondri görülen 13 hastadan 2'sinde anormallik tespit edildi. RBF grubundaki 8 hastanın ardışık kütle spektrometrisi normal olarak görüldü. İKAA değerlendirmesi yapılan RRF görülen 8 hastadan 2'sinde, anormal mitokondri görülen 14 hastadan 1'inde anormallik tespit edildi. RBF görülen ve İKAA tetkikine bakılan 9 hastanın sonuçları normal bulundu. İOA tetkik edilmiş olup, RRF görülen 7 hastadan 2'sinde, anormal mitokondri görülen 12 hastadan 2'sinde, RBF görülen 9 hastadan 1'inde idrarda organik asit atılımı saptandı.

**Tablo 4.19.** Anormal mitokondriyal d.ağılım saptanan hastaların laboratuvar bulguları

	COX boyası		
	RRF	Subsarkolemmal Birikim	RBF
	Ortalama ± SS	Ortalama ± SS	Ortalama ± SS
CK	36 ± 1022	131 ± 1744	427 ± 863,4
ALT	33,5 ± 47,4	17 ± 17,2	32 ± 69,9
AST	60,5 ± 57,6	35 ± 29,9	52 ± 48,4
Laktat	27,77 ± 28,3	10,95 ± 9,7	24,2 ± 16,4
Pirüvat	1,21 ± 0,46	1,29 ± 0,66	1,1 ± 0,36
LA/P	18,96 ± 10	9,39 ± 5,39	21,2 ± 22,1

Kas biyopsisinde RRF görülen ve solunum zinciri enzim aktivitesi ölçülen bir hastada kompleks II-III ve IV eksikliği, RBF görülen iki hastadan birinde normal enzim düzeyleri, diğerinde ise kompleks IV eksikliği tespit edilmiştir.

#### **4.9. SDH Boyası ile SDH Eksikliği Saptanan Hastaların Klinik ve Laboratuvar Bulguları**

Çalışmadaki toplam 193 hastadan 11'inin kas biyopsilerinde SDH boyası ile soluk boyanma saptanmıştır (Şekil 4.9.). 11 hastadan 2'sinde sadece soluk SDH boyanması mevcutken, 5 hastada COX boyası ile çok soluk/negatif boyanma, 2 hastada hafif lipid artışı, 1 hastada COX soluk ve hafif lipid artışı, 1 hastada COX soluk, hafif lipid artışı ve anormal mitokondriyal dağılım gibi ek bulgular görülmüştür.

11 hastanın 7'sinin (%63,6) şikayetlerin 1 yaşından küçükken, 4'ünün (%36,4) 1-6 yaş arasında başladığı görülmüştür.

Hastaların başvurularında gevşeklik/hipotonik olma, başını tutamama, nöbet, solunum sıkıntısı, çabuk yorulma, kas güçsüzlüğü gibi yakınmalar mevcut olup, fizik muayenelerinde hipotoni, mental ve motor gelişme geriliği, DTR azalması en sık görülen bulgular olarak saptanmıştır.

SDH solukluğu ile beraber hafif lipid artışı olan 2 hasta vardı. 1 hastada laktat değeri yüksekti. Hastalardan birinin başvuru şikayeti nöbet ve gevşek/hipotonik olması iken diğer hasta nöbet, gevşek/hipotonik olması, başını tutamama ve solunum sıkıntısı olması nedeniyle başvurduğu görülmüştür. Her iki hastanın da fizik muayenesinde hipotonisite ve motor gelişme geriliği olduğu görülmüştür. Solunum zincir enzim tetkiki çalışılan bir hastada kompleks II+III ve IV eksikliği saptanırken, diğer hastada kompleks IV eksikliği olduğu görülmüştür.

SDH ve COX solukluğu olan 5 hastanın başvuru şikayetleri arasında gevşeklik/hipotonik olma, başını tutamama, yürüme bozukluğu, bilinç bulanıklığı ve solunum sıkıntısı yer almaktadır. Fizik muayenelerinde 2 hastada hipotoni, motor ve mental gelişme geriliği, 2 hastada sadece motor gelişme geriliği, 3 hastada DTR'de azalma olduğu görülmüştür. CK düzeyi bakılan üç hastanın hepsinde normal, laktat düzeyi bakılan 3 hastanın sadece birinde yüksektir. Solunum zincir enzim analizi tetkiki çalışılan bir hastada kompleks IV eksikliği olduğu görüldü. Hastalardan birinin dış merkezde eksitus olduğu öğrenilmiştir.

SDH ile soluk boyanmaya COX ile soluk boyanma ve lipid artışının eşlik ettiği bir vaka solunum yetmezliği nedeniyle eksitus olmuş olup, hastanemizde tam otopsi yapılmıştır.



**Şekil 4.9.** SDH boyası ile soluk boyanma

## 5. TARTIŞMA

Primer mitokondriyal hastalıklar, nDNA veya mtDNA mutasyonlarının bir sonucu olarak mitokondri yapısını veya işlevini etkileyen bozukluklar olarak tanımlanır. Dünya çapında yaklaşık 3000–5000 kişide 1 görülen nadir, genetik ve klinik olarak heterojen hastalıklardır (170). Ülkemizde çocuklar üzerinde mitokondriyal hastalık insidansı üzerine yapılmış bir çalışma bulunmamaktadır.

Çocuklarda patojenik mtDNA mutasyonlarının görülme sıklığı daha yüksektir (171). Mutasyon taşıyan bu çocuklarda doğumdan sonra hastalık görülmeyebilir, çünkü mtDNA mutasyonları düşük heteroplazmik düzeylerde bulunur. Ancak zaman içerisinde heteroplazmi seviyesindeki artışa bağlı olarak ileri yaşlarda hastalık bulguları görülebilir. Mitokondriyal hastalıkların büyük çoğunluğunun nDNA ilişkili ve otozomal resesif geçişle kalıtsal geçişi olması nedeniyle aile öyküsü oldukça önemlidir. Çalışmamızda akrabalık öyküsü bilinen 132 hastadan 74'ünde (%56) akrabalık öyküsü olması da ülkemizdeki mitokondriyal hastalık görülme riskinin beklenenden yüksek olabileceğini düşündürmektedir.

Çalışmamızdaki hastaların erkek/kız oranı 1,05'dir. Skladal ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada mitokondriyal hastalığı olan 75 pediatrik hastada erkek/kız oranı 1,77 olarak görülmüştür (172). Pediatrik vakalarda yapılan diğer çalışmalarda da erkeklerde daha sık olduğu görülmüştür (173, 174). Mitokondriyal hastalıklar pediatrik hasta grubu içerisinde her yaşta bulgu verebilmektedir, ancak yapılan çalışmalarda genellikle erken dönemlerde bulgu verdiği görülmektedir (18). Çalışmamızda hastaların şikayetlerinin başlama yaşı 1 ay ile 15 yıl arasında olup, ortalama  $29,90 \pm 42,89$  ay (ortanca: 12 ay) bulunmuştur. Hastaların 56'sının (%29) şikayetlerinin ilk 1 yaş içinde başladığı, 78'inin (%40,4) 1-6 yaş arasında, 59'unun (%30,5) ise 6 yaşından sonra başladığı görülmüştür. Tanı anındaki yaşları ise 1 ay ile 19 yıl arasında olup, ortalama  $57,69 \pm 58,539$  ay (ortanca: 33 ay) olarak bulunmuştur. Hastaların şikayetlerin başlama zamanı ile tanı almaları arasında geçen sürenin yaklaşık olarak 21 ay olduğu saptanmıştır.

Mitokondriyal hastalık pediatrik popülasyon içerisinde mortalite riski olan önemli bir hastalık grubudur. Mitokondriyal hastalık tanısı ile 2006-2015 yılları arasında Güney Kore Seul'de bulunan Yonsei Üniversitesi Tıp Fakültesinde Gangnam

Severance Hastanesinde izlenen 221 pediatrik hastanın kayıtlarının incelendiği bir çalışmada mortalite oranı %14 bulunmuş; ölenlerin %75'inin üç ile dokuz yaş arasında olduğu görülmüştür. 15 yaş altındaki çocuklarda ölüm nedenleri başlıca sepsis (%55) ve pnömonidir (%42) (175). Çalışmamızda yer alan hastaların sistem kayıtları incelendiğinde 40 hastanın (%20,7) vefat ettiği görülmüştür. Ölüm nedenleri ya da zamanları tıbbi kayıtlarının farklı merkezlerde olması nedeniyle net olarak bilinmemektedir. Ancak bu hastaların şikayetlerinin başlama yaşlarına bakıldığında 40 hastanın 31'inin (%77,5) ilk 1 yaş, 6'sının (%15) 1-6 yaş arasında, 3'ünün ise (%7,5) şikayetlerinin 6 yaşından sonra başladığı saptanmıştır. İlk şikayetleri bebeklik döneminde başlayan hastaların mortalite riskinin daha fazla olduğu görülmüştür.

Mitokondriyal hastalığı olan çocuklarda klinik prezantasyon oldukça değişkendir. Genellikle gelişme geriliği, nöbet veya hareket bozuklukları gibi santral sinir sistemi tutulumları daha sık görülmektedir (176). Tez çalışmasında yer alan hastaların şikayetlerinin dağılımında da benzer sonuçlar elde edilmiştir; hastaların şikayetlerinin yüzde %93,8'ini nörolojik problemler oluşturmaktadır. Bunların arasında en sık %38,3 ile gevşeklik/hipotoni, %32,6 nöbet ve %29,5 motor ve mental gelişme geriliği görülmektedir.

Böhm ve arkadaşlarının COX eksikliği olan 180 çocuk hastada yaptığı çalışmada en sık görülen bulguların ensefalopati (%90), hipotoni (%73), gelişme geriliği (%67), kardiyak bulgular (%24), hepatopati (%24), endokrinopati (%5), renal yetmezlik (%4) olduğu görülmüştür (177). Çalışmamızda yer alan COX eksikliği olan hastalarda ise %37 gevşeklik/hipotoni, %29 motor ve mental gelişme geriliği, %26 yürüme bozukluğu, %27 kas güçsüzlüğü, %25 nöbet olduğu görülmüştür.

ORO boyası ile lipid artışı saptanan 44 hastada en sık görülen sistem tutulumları incelendiğinde 42'sinde (%95,4) nörolojik, 8'inde (%18,1) solunum sistemi, 5'inde (%11,3) kardiyolojik tutulum olduğu görülmüştür. En sık görülen şikayetlerin 23'ünde (%52,2) gevşeklik, 14'ünde (%31,8) nöbet, 12'sinde (%27,2) motor ve mental gelişme geriliği olduğu saptanmıştır. Lipid miyopatisi olan 7 hastanın hepsinde (%100) nörolojik tutulum mevcutken, sadece bir hastada (%14,2) kusma ve kilo alamama gibi gastrointestinal yakınmalar saptanmıştır. En sık görülen şikayetler incelendiğinde 4 hastada (%57,1) kas güçsüzlüğü, 3'ünde (%42,9) yürümede zorlanma olduğu görülmüştür. Lipid miyopatisi saptanan hasta grubunda özellikle kas



güçsüzlüğü hakim olup, yürümenin etkilendiği nörolojik tutulum dikkat çekmektedir. Lipid artışı izlenen hastalarda ise daha farklı sistem tutulumları mevcuttur.

Anormal mitokondriyal dağılım (RRF, RBF, subsarkolemmal birikim) görülen hastalarda en sık görülen şikayetler motor ve mental gelişme geriliği, yürüme bozukluğu, kas güçsüzlüğü ve nöbet olarak saptanmıştır.

Görme ve işitme problemleri mitokondriyal hastalıklarda sık görülen problemlerdendir. Yapılan çalışmalarda genetik olarak doğrulanmış ve şüphelenilen patojenik mtDNA mutasyonları olan 59 hastanın %81'inin patolojik oftalmolojik bulgulara sahip olduğu gösterilmiştir (178). Hastaların %28'inde anormal maküler ve/veya periferel retinal pigmentasyon, %27'sinde retinal distrofi görülmüştür. Kronik progresif oftalmopleji, pigmenter retinopati, bilateral optik atrofi ve görme kaybı, mitokondriyal bozukluklarda en sık görülen diğer bulgulardır (39). Chennupati ve arkadaşlarının bilinen mitokondriyal bozukluğu olan çocuk hastalarda işitme kaybı olup olmadığına yönelik yaptığı çalışmada 26 hastadan 15'inde (%58) işitme kaybı olduğu gösterilmiştir (179). Çalışmamıza katılan hastaların %7,8'inde ptosis, %8,3'ünde oftalmopleji, %1'inde optik atrofi ve %2,1'inde katarakt gibi göz bulguları ve 7 hastada (%3) işitme kaybı tespit edilmiştir. Görme ve işitme problemi olan hastalarımızın oranının literatüre göre düşük olmasının nedeni çalışmadaki hastaların hepsinin detaylı oftalmolojik ve odyolojik bir değerlendirmeden geçmemesi, çalışmanın retrospektif olması ve kayıtların eksik tutulması ile açıklanabilir. Mitokondriyal hastalık şüphesi olan çocuk hastaların tümünün görme ve işitme testlerinin yapılması subklinik bulguları ortaya koymakta yararlı olacaktır.

Mitokondriyal hastalığı olan hastalarda en sık görülen kardiyak bulgu kardiyomiyopatidir. Aritmiler ve iletim bozuklukları, pulmoner hipertansiyon, perikardiyal efüzyon, dilate aort kökü ve koroner kalp hastalığı görülebilir. Kardiyomiyopatinin mitokondriyal hastalıklı çocukların %20-40'ında görüldüğü tahmin edilmektedir (180). Hipertrofik, dilate, restriktif, sol ventrikül *non-compaction* ve histiyositoid kardiyomiyopatiler görülebilir. Çalışmamızda toplam 69 hastaya EKO yapılmış, 18'inde (%26) normal bulgular saptanmıştır. 11 hastada (%16) hipertrofik kardiyomiyopati, 4 hastada (%5,8) dilate kardiyomiyopati, 2 hastada (%2,9) *non-compaction* hipertrofi, 1 hastada (%1,5) interventriküler septum hipertrofisi saptanmıştır. Hipertrofik kardiyomiyopati mitokondriyal hastalıklarda en sık görülen

kardiyak belirtidir ve mitokondriyal kardiyomiyopati bireylerin %50'sinden fazlasında ortaya çıkabilir (173). Antenatal dönemde saptanabilir ve izole olabileceği gibi multisistemik tutulumun da bir parçası olabilir. Hipertrofik kardiyomiyopati sıklıkla sistolik disfonksiyona dönüşür, bunu sol ventrikül dekompanasyonu ve dilatasyonu izler.

Hastalarda ASD, VSD ya da foramen ovale gibi yapısal bulgular da nadiren görülebilmektedir. MELAS sendromu olan hastalardan *DNA2* veya *BSCL2* genlerinde mutasyon taşıyanlarda patent foramen ovale tespit edilmiştir (181,182). MtDNA depleksiyon sendromu veya tRNA Leu mutasyonları olan hastalarda ventriküler septal defektler görülebilmektedir (183,184). Çalışmamızda 34 hastada (%49,3) patent foramen ovale, patent duktus arteriozus ve atrial septal defekt gibi yapısal defektler literatüre oranla daha sık görülmüştür.

Mitokondriyal hastalıkta sık görülen EKG anormallikleri ise atriyal fibrilasyon, AV blok, Wolff-Parkinson-White (WPW) sendromu, dal bloğu, QT uzamasıdır (185). Çalışmamızda 3 hastada (%1,6) ritm bozukluğu görülmüştür.

Kompleks I eksikliği klinik ve genetik olarak oldukça heterojendir. Hipertrofik kardiyomiyopati izole ya da multi organ tutulumu ile beraber görülebilir. Kardiyomiyopati mitokondriyal (*MTND1* ve *MTND5*) ya da nükleer (*NDUFS2*, *NDUFV2*, *NDUFA2*) mutasyonlarla beraberlik gösterebilir (186,187). Kompleks II eksikliğine neden olan kompleks II subunit genlerinde mutasyonu olan hastalarda hipertrofik, dilate ya da non-compaction kardiyomiyopati görülebilir (188). Kompleks III eksikliği de kardiyomiyopatiye neden olabilmektedir. Sitokrom b'yi kodlayan *MTCYB* geninde mutasyon olan vakalarda hipertrofik, dilate ve histiyositoid kardiyomiyopatiler gösterilmiştir (189). Kompleks IV alt ünite genleri (*COX6B1*, *MTCO2* ve *MTCO3*) ve kompleks IV birleştirme faktör genlerinde (*SURF1* ve *SCO2*) mutasyonu olan hastalarda da dilate, hipertrofik ve histiyositoid kardiyomiyopati görülebilir (190).

Çalışmamızda dilate kardiyomiyopatisi olan hastalardan solunum zinciri çalışılan iki hastada kompleks II-III ve IV, bir hastada I, II-III ve IV eksikliği saptanmıştır. Hipertrofik kardiyomiyopatisi olan hastalardan solunum zinciri çalışılan olmadığı görülmüştür.

Mitokondriyal hastalıkların multisistemik tutulumu içerisinde gastrointestinal sistem sık tutulum gösteren sistemlerden biridir. Sık görülen gastrointestinal sistem bulguları arasında iştahsızlık, gastroözofageal sfinkter disfonksiyonu, konstipasyon, disfaji, kusma, gastroparezi, psödo-obstrüksiyon, diare, pankreatit ve hepatopati sayılabilir (191).

Karaciğer tutulumu ise genellikle ilerleyici ve fatal seyretmektedir. Pearson sendromu, MNGIE, Leigh sendromlarında gastrointestinal sistem tutulumu sıklıkla görülmektedir. Mitokondriyal hastalıklarda görülen bazı spesifik moleküler defektlerde (nükleer gendeki *SCO1*, *BCS1L*, *POLG*, *DGUOK* ve *MPV17*, mtDNA'daki delesyon) karaciğer tutulumu görülebilmektedir (192).

Yükselmiş karaciğer transaminaz seviyeleri sıklıkla karaciğer tutulumunun ilk bulgusu olabilir, nadiren normalin üst sınırınının 10 katından fazla yükselir. Patolojik olarak tek bulgu steatoz olabilir, bazen de fibroze, kolestaza ve yaygın hepatosellüler nekroza dönüşebilir. Karaciğerden yapılan biyokimyasal çalışmalar, iskelet kası veya deri fibroblastlarında tespit edilemeyen, tek veya çoklu solunum zincir kompleksi eksikliklerini ortaya çıkarmaya yardımcı olabilir (191). Çalışmamızda 47 hastada (%66,2) AST yüksekliği, 24 hastada (%33,8) ALT yüksekliği; AST ve/veya ALT >1000 U/L olan 2 hasta mevcuttur. 5 hastada hepatosplenomegali saptanmıştır. Hipotoni, hepatomegali, nöbet öyküsü, laktik asit yüksekliği ve idrar organik asit atılımı olan bir hastada olası karaciğer tutulumu açısından karaciğer iğne biyopsisi yapılmış ve hepatositlerde hidropik değişiklikler dışında patolojik bulgu görülmemiştir. Metabolik asidoz, ensefalopati ve solunum sıkıntısı nedeniyle eksitus olan ve tam otopsi yapılan bir hastanın incelemesinde karaciğerde mikroskopik değişiklik görülmemiş, ancak dondurulmuş karaciğer dokusunda bazı hepatositlerde COX negatifliği saptanmıştı. Aynı hastanın kas biyopsisinde COX ile mozaik boyanma paternine, lipid artışının eşlik etmekte olduğu görülmüştür. Karaciğer tutulumunun mortaliteye etkisi olduğu düşünüldüğünde, hastalarda karaciğer fonksiyon testleri rutin olarak incelenmelidir.

Mitokondriyal hastalıkların böbrek tutulumu bulguları arasında, polikistik böbrek, nefrit, fokal segmental glomerüloskleroz veya sıklıkla hemodiyaliz gerektiren kronik böbrek yetmezliğine dönüşen tübüler disfonksiyon yer almaktadır (193). Çalışmamızda yer alan 8 hastada böbrek tutulumuna bağlı bulgular görülmüştür. 8

hastanın 4'üne böbrek biyopsisi yapılmış olup bir hastada mezengial matriks artışı, bir hastada fokal segmental glomerüloskleroz, bir hastada bazal membranda kalınlaşma ve tübüllerde atrofi, bir hastada da glomeruloskleroz ve interstisyumda tübüler atrofi bulgusu saptanmıştır.

Hastalar proksimal tübüler disfonksiyon, hiperfosfatüri, hiperaminoasidüri ve glukozüri ile karakterize olan Fanconi sendromu ile karşımıza çıkabilmektedir. Tübüler asidoz, Bartter sendromu, kronik tubulointerstisyel nefrit veya nefritik sendrom ile seyreden hastalar da bildirilmiştir (194). Çalışmamızda yer alan ve böbrek fonksiyon testlerine bakılan 59 hastanın 51'inin (%86,4) sonucu normal olarak değerlendirilmiştir. Hastalarda elektrolit bozukluğu, kan üre azotu yüksekliği, kreatinin yüksekliği ve renal tübüler asidoz tespit edilmiştir. Renal tübüler asidoz saptanan 2 hastada da kas biyopsisinde COX eksikliği görülmüştür.

MELAS, MERRF, Pearson sendromu, Kearns–Sayre sendromu, Leigh sendromu gibi mitokondriyal hastalık sendromları olan bireylerde böbrek bulguları bildirilmiştir. Tanımlanan sendromlar haricinde mitokondriyal proteinleri etkileyen nükleer veya mitokondriyal DNA mutasyonları olan vakalarda da böbrek tutulumu olabilmektedir Mitokondriyal seril-tRNA sentazını kodlayan *SARS2* genindeki mutasyonların da, böbrek yetmezliği ve tübüler disfonksiyonun hakim olduğu multiorgan tutulumlu hastalıklara neden olduğu bildirilmiştir (195). Klinik fenotip, hiperürisemi, pulmoner hipertansiyon, böbrek yetmezliği ve alkaloz ile karakterizedir. DM, adrenal yetmezlik, kronik böbrek yetmezliği ve hipoparatiroidi nedeniyle takipli olan bir hastamızda *SARS-2* geninde mutasyon saptanmıştır.

Mitokondriyal hastalıklara endokrin disfonksiyon genellikle eşlik edebilmektedir. Hormonların hücre içi üretiminde veya hücre dışına sekresyonunda azalma patogeneizde rol oynamaktadır. DM kalıtsal mitokondriyal hastalığı olan hastalarda en sık tanımlanan endokrin hastalıktır. CPEO ve KSS'li hastaların %11'inde diyabete neden olan mtDNA delesyonları bildirilmiştir (196).

Ayrıca büyüme hormonu eksikliği, hipogonadizm, adrenal disfonksiyon, hipoparatiroidizm ve tiroid hastalıkları da diğer görülen endokrin bozukluklardır (197, 198). Çalışmamızda yer alan hastalarda hastalardan 3'ünde diabet, 2'sinde hipoparatiroidi, 2 hastada hipotiroidi, 1 hastada adrenal yetmezlik, 1 hastada da büyüme hormonu eksikliği görülmüştür.

Mitokondriyal hastalıkların hematolojik bulguları arasında aplastik, megaloblastik veya sideroblastik anemi, lökopeni, nötropeni, trombositopeni veya pansitopeni görülmektedir. Bazı vakalarda kalıcı ya da tekrarlayan eozinofili de görülmektedir. Hematolojik anormallikler sendromik veya nonsendromik hastalıklarla birlikte ortaya çıkabilir. Pearson sendromu, Kearns-Sayre sendromu, MERRF, Leber'in kalıtsal optik nöropatisi gibi sendromlarda hematolojik tutulumun olduğu bilinmektedir (101). Çalışmamızda yer alan hastalardan 6'sında hematolojik bulgular (anemi, nötropeni) görülmüş, 3 hastaya kemik iliği aspirasyonu yapılmıştır. Bir hastanın kemik iliğinde demir içeriğinde artma, bir hastada eritroid seride baskılanma ve eozinofili, bir hastada da megakaryositlerde ve myeloid seride artış görülmüştür.

Mitokondriyal hastalık tanısını koymada özgül ve duyarlı güvenilir bir test yöntemi bulunmamaktadır. Mitokondriyal hastalıkta en çok bilinen laboratuvar bulgusu laktik asidozdur (199). Jackson ve arkadaşları mitokondriyal hastalıklı 51 hasta üzerinde yaptığı araştırmada laktik asidozu %50 oranında tespit etmiştir (200). Munnich ve arkadaşları ise mitokondriyal hastalığı olan 235 çocukta sadece %30 oranında yüksek venöz laktat seviyesi bulmuşlardır (201). Çalışmamızda yer alan değerlendirmesi yapılan 74 hastanın 21'inde (%28,4) metabolik asidoz görülürken, 91 hastanın 42'inde (%46,2) laktat yüksekliği, 61 hastanın 19'unda (%31) serum LA/PA oranı 20'nin üzerinde bulunmuştur.

Laktik asidozun mitokondriyal bozuklukların yanı sıra venöz staz, hipoksi, hipoperfüzyon, hepatik disfonksiyon, böbrek yetmezliği, ilaç toksisitesi, nörodejeneratif hastalıklar, sepsis, spastisite, hiperinsülinizm, kronik tiamin eksikliği, nöbetler ve diğer birçok metabolik bozukluk ile beraber görülebileceği unutulmamalıdır (202).

Mitokondriyal hastalığı olan hastaların beyin omurilik sıvısında protein, laktat, pirüvat ve hatta beyaz küre sayısının arttığı gösterilmiştir. Yapılan çalışmalar laktat değeri kanda normal olsa bile, beyin omurilik sıvısında yükselebileceğini ve nörolojik semptomları olan hastalarda BOS laktat değerinin venöz laktattan daha güvenilir olabileceğini göstermiştir (201). Debray ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada 37 (%88) vakada BOS laktat düzeyinin arttığı bildirilmiştir (174). Çalışmamıza katılan hastalardan BOS laktat düzeyine bakılan 5 hastadan sadece birinde BOS laktat seviyesi yüksek bulunmuştur.

Çalışmamızdaki metabolik tetkiklerde, plazma aminoasit seviyesi ile mitokondriyal hastalık arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır; çoğu hastada plazma aminoasit seviyesi normalken az sayıda hastada (5/84) alanin düzeyinde artış görülmüştür. Verilerimize göre, açil karnitin testi de tanı açısından yardımcı değildir. Ardışık kütle spektrometri analizi toplam 81 hastada yapılmış olup, hastaların 7'sinde (%8,6) anormal sonuç elde edilmiştir. Teorik olarak, bozulmuş mitokondriyal fonksiyonlara bağlı olarak mitokondriyal yağ asidi oksidasyonunun etkilenmesi ve daha sonra açil karnitin birikimi görülmesi beklenirken, çalışmamızda kas biyopsisinde lipid artışı ya da miyopatisi olan 50 hastanın sadece üçünde açil karnitin seviyesi anormal bulunmuştur. Bu bulgular Mitokondriyal Tıp Derneği tarafından yayımlanan konsensüs bildirisi ile uyumludur (203). Bu açıdan açil karnitin düzeyi normal bulunan hastalarda olası lipid artışı ile bulgu verebilecek metabolik ve mitokondriyal hastalıkları atlamamak için ileri incelemeler yapılması gerekmektedir. Örneğin, *ETFDH* genindeki patojenik mutasyonlara bağlı olarak kısa, orta ve uzun zincirli açil karnitin seviyeleri her zaman artma göstermeyebilir ve egzersiz intoleransı, proksimal miyopati ile seyreden bu hastaların riboflavin ve CoQ10 ile tedavisi mümkün olduğu için tanı koymak oldukça önemlidir (151). Kas biyopsisinde lipid artışı görüldüğünde, metabolik inceleme negatif bile olsa genetik tanıya gidilmesi gerekir.

Hem kan aminoasit hem de açil karnitin testleri, üre döngüsü bozukluklarını, amino, yağ asidi oksidasyon defektlerini, primer/sekonder karnitin eksikliğini dışlamak açısından da önemlidir.

İdrar organik asit atılımı mitokondriyal hastalığı olan hastalarda değişkenlik gösterir. Yapılan retrospektif bir analizde mitokondriyal hastalığı olan 67 hastadan alınan örneklerde artmış malat ve fumarat düzeyleri hastalıkla en iyi korelasyonu gösterirken, sitrik asit döngüsüne ait diğer metabolitler ve laktat daha zayıf korelasyon göstermiştir (204). Bazı mitokondriyal hastalıklarda hafif-orta 3 metilglutakonik asit yükselmesi, dikarboksilik asidüri, 2-oksoadipik asidüri, 2-aminoadipik asidüri ve metilmalonik asidüri görülebilir. İdrar organik asit analizi çalışmamızda 86 hastada yapılmış olup, 26'sında (%30,2) idrarda organik asit atılımı saptanmıştır.

CK düzeyi mitokondriyal hastalıklarda normal ya da yükselmiş bulunabilir. Glutarik asidüri, CPT-2 eksikliği gibi yağ asidi oksidasyon bozukluğu olan durumlarda

ve kas tutulumu gözlenen mtDNA deplesyon sendromlarında CK seviyesi yüksek bulunabilir. Çalışmamızda CK sonucu bilinen 91 hastanın 50'sinde (%54,9) normal değerler görülürken, 41'inde (%45,1) CK'nın yüksek olduğu saptanmıştır. CK 18-8609 U/L (N: 26-192 U/L) arasında değişmekte olup, CK değeri 1000 U/L'den yüksek 16 (%19) hasta mevcuttu. Bu 16 hastanın biyopsi sonuçlarını incelediğimizde 4 hastada anormal mitokondriyal dağılım, 4 hastada lipid artışı, 3 hastada lipid miyopatisi, 4 hastada distrofik değişiklikler, 5 hastada COX eksikliği görülmüştür. CK yüksekliği ile kas biyopsisinde distrofik değişiklikler ve COX eksikliği olan hastaların öncelikle *TK-2* mutasyonları yönünden değerlendirilmesi önerilmektedir.

Mitokondriyal hastalıklarda geniş santral sinir sistemi bulguları arasında nöbet en sık görülen bulgulardandır. Mitokondriyal disfonksiyon hem nöbete neden olmakta hem de nöronal hücre ölümünün tetiğini çekmektedir. Mitokondriyal hastalık bulgusu olan hastalarda epilepsinin gerçek prevalansı bilinmemekle birlikte, çocuklarda bildirilen nöbet sıklığı %35 ile %61 arasında değişmektedir (174). Bu açıdan hastalarda nöbet varlığının anlaşılması açısından EEG tetkiki oldukça önemlidir. Chevallier JA ve arkadaşlarının 2007 ile 2012 tarihleri arasında 165 mitokondriyal hastalık tanısı alan hasta üzerinde yaptığı araştırmada en sık görülen EEG bulgusu generalize yavaşlama (%60), en sık görülen epileptiform aktivite multifokal deşarjlar (%41) olup, bunu fokal (%39) ve jeneralize (%39) deşarjlar izlenmiştir (205). Çalışmamızda nöbet şikayeti olan ve EEG'si yapılan 38 hastanın 17'sinde EEG normal (%44,7) olup, 11'inde (%28,9) epileptiform odak, 2'sinde (%5,2) zemin ritmi düzensizliği ve 8'inde (%21,1) ensefalopati bulgusu saptanmıştır.

Mitokondriyal miyopatisi olan birçok hasta EMG çalışmalarında normal veya spesifik olmayan değişikliklere sahiptir. Çalışmamızda yer alan ve EMG yapılan 35 hastanın 11'inin (%31,4) sonucu normaldir, 14'ünde miyopati (%40), 8'inde (%22,8) nöropatik değişiklikler saptanmış olup, 2 hastada hem nöropatik hem miyopatik değişiklikler görülmüştür. Mikroskopik incelemede 7 hastada nörojenik değişiklikler saptanmış olup, bunlar arasında EMG'si nöropatik olan 2 hasta mevcuttur.

Mitokondriyal hastalıklarda MR değişiklikleri çok geniş bir spektruma sahiptir. Mitokondriyal hastalık tanısında duyarlı ve oldukça anlamlı olan bazı MR bulguları vardır. En sık görülen spesifik MR bulguları T2 ve FLAIR görüntülemelerde hiperintensite ve T1 görüntülemelerde hipointensite ile kendini gösteren derin gri

cevherde simetrik değişikliklerdir. Serebral ve/veya serebellar atrofi eşlik edebilir. Solunum zinciri enzim eksikliği olan bazı hastalarda non-spesifik diffüz beyaz cevher değişiklikleri gösterilmiştir (206). Çalışmamızdaki 193 hastanın 98'ine kranial MR tetkiki yapılmış olup, 23 hastanın (%19,5) tetkik sonuçları normal, 19 hastada (%16,1) bazal ganglia tutulumu, 15 hastada (%12,7) bazal gangliada sinyal artışı, 16 hastada (%13,6) beyaz cevher tutulumu/sinyal değişikliği, 7 hastada (%5,9) derin gri cevher tutulumu, beyin sapı ve/veya mezensefalonda sinyal artışı, 30 hastada (%25,4) korpus kallozumda incelme, pineal kist, ventriküllerde genişleme veya beyaz cevherde hacim kaybı gibi yapısal değişiklikler, 5 hastada (%4,2) myelinizasyonda gecikme ve 3 hastada (%2,5) diğer değişiklikler rapor edilmiştir.

Mitokondriyal hastalığı olan hastaların MRS bulguları arasında artmış laktat, azalmış NAA düzeyleri sıklıkla görülmektedir. Laktat düzeyindeki artışla beraber NAA düzeyindeki azalma inme, nöbet gibi başka hastalıklarda da görülebilmektedir (207). Çalışmamızda MRS tetkiki 32 hastanın 11'inde (%34,4) normal bulunurken, 21'inde (%65,6) laktat piki saptanmıştır.

Kas biyopsisi mitokondriyal miyopati tanısını koymakta oldukça önemlidir. Solunum zincir enzimi kompleks IV'ün aktivitesinin azaldığı durumlarda, kas biyopsisinde liflerde COX boyası ile yaygın ya da mozaik paternde soluk ya da çok soluk boyanma olarak kendini gösterir. Aynı kesit üzerine COX boyasını takiben SDH boyası ile boyama COX eksikliği gösteren liflerin tespitinde oldukça yardımcıdır; COX soluk/çok soluk lifler ile beraber SDH pozitif liflerin görülmesi mitokondriyal miyopati tanısında oldukça duyarlı ve özgüldür (208). Çalışmamızda yer alan 193 hastanın 107'sinin (%55,4) kas biyopsileri COX eksikliği gösterirken, bunların 21'inde (%13,7) COX çok soluk/negatif, 33'ünde (%21,7) soluk/hafif soluk, 53'ünde (%34,9) COX mozaik olarak boyanmıştır. Çalışmamızda yer alan hastaların biyopsileri içinde literatürle uyumlu olarak en sık görülen mikroskopik bulgu COX eksikliği olarak saptanmıştır (209).

Çocuklarda RRF görülmesi mitokondriyal miyopati tanısını koymakta oldukça önemlidir. RRF, anormal mitokondrinin proliferasyonuna bağlı olarak gelişir ve yüksek düzeyde (%85-90) delesyona veya mutasyona uğramış mtDNA içerir. 3 yaş altında oldukça nadirdir (167). Çalışmamızda yer alan hastaların kas biyopsilerinin 23'ünde (%15,1) RRF görülmüştür. Literatürde 118 kas biyopsisi üzerinde yapılan bir



çalışmada RRF görülme oranı %2,5 olarak bulunmuştur; bu açıdan çalışmamızda RRF görülme oranı daha fazla bulunmuştur (210).

Mozaik paternde COX eksikliğinin yanısıra Hematoksilen eozin boyası ile tespit edilen distrofik bulguların mitokondriyal deplesyon sendromu içinde yer alan *TK-2* mutasyonlarına bağlı olarak görülebileceği unutulmamalıdır. Bir çalışmada *TK-2* eksikliği olan 36 hastanın miyopatik değişiklikleri arasında atrofik veya nekrotik lifler (%69.5), lif büyüklükleri arasında farklılık (%66.6), artmış santral nukleus (%30.5), sarkoplazmik vakuoller (%13.9), lipit artışı (%19.5), fibrozis veya bağ dokusu artışı (%38,9) bildirilmiştir (211).

Solunum zinciri enzim aktivite ölçümü çeşitli dokulardan yapılabilmektedir ve mitokondriyal miyopati tanısı için oldukça önemlidir. Fibroblastlar da solunum zinciri enzim aktivitesini incelemek için kullanılabilir, fibroblast enzim aktivitesindeki anormallikler genellikle persistan laktik asidoz varlığında belirgindir. Yapılan bir çalışmada çizgili kasında solunum zinciri enzim eksikliği olan çocukların yarısının fibroblast kültürlerinde normal enzim aktivitesi olduğu gösterilmiştir (212). Solunum zinciri enzim eksiklikleri olan hücreler hassas olduğundan, çalışma için fibroblastların kültürlenmesinde dikkatli olunmalıdır. Merkezimizde solunum zinciri enzim aktivitesi ölçümü sadece çizgili kas dokusundan yapılmaktadır.

Karaciğer veya kalp gibi etkilenmiş diğer dokulardan da solunum zinciri enzim aktivitesi incelenebilir. İskelet kasında normal enzim aktivitesi normal olan ancak karaciğerde veya kalpte enzim defekti olan birçok olgu sunumu vardır (213). Mitokondriyal hastalıkların klinik ve biyokimyasal doku özgüllüğü sergilediği bilindiğinden, tek organ tutulumu durumlarında, ilgili dokunun araştırılması tercih edilebilir. Çalışmamızda yer alan hastalardan 56'sında solunum zinciri enzim analizi dondurulmuş kas dokusundan çalışılmış olup karaciğer ve kalp gibi dokulardan enzim çalışması yapılmamıştır.

Scaglia ve arkadaşlarının mitokondriyal hastalık tanısı almış 113 pediatrik hastada yaptığı solunum zinciri enzim düzeyi ölçümlerinde en sık kompleks I eksikliği (%32) olduğu, bunu kompleks I, III ve IV eksiklikleri (%26), kompleks IV eksikliği (%19), kompleks III eksikliği (%16) ve kompleks II eksikliğinin (%7) takip ettiği görülmüştür (173). Çalışmamızda ise 28 hastada (%93,3) kompleks IV eksikliği, 14

hastada (%46,7) kompleks I eksikliği görülmüş olup en sık olarak kompleks IV eksikliği saptanmıştır.

Çalışmamızda mitokondriyal solunum zinciri enzim aktivitesi ölçümü yapılan 56 hastanın 26'sında (%46,4) enzim eksikliği saptanmazken, 30'unda (%53,6) kompleks eksikliği saptanmıştır. İzole kompleks eksikliği 9 hastada mevcuttur: 8 hastada (%14,3) kompleks IV eksikliği, 1 hastada (%3,3) kompleks I eksikliği görülmüştür. Kombine kompleks eksiklikleri içinde 7 hastada (%12,5) kompleks II-III ve IV eksikliği, 7 hastada (%12,5) kompleks I, II-III ve IV eksikliği, 6 hastada (%10,7) kompleks I ve IV eksikliği ile bir hastada kompleks II-III eksikliği saptanmıştır.

Kompleks I eksikliği mitokondriyal veya nükleer DNA mutasyonlarından kaynaklanabilir. Kompleks I eksikliği olan çoğu çocukta belirgin nörolojik tutulumla seyreden ciddi multisistemik hastalık görülür (214). Çocuklar genellikle beş yaşından önce bulgu vermeye başlar. Görülen başlıca fenotipler, Leigh veya Leigh benzeri sendrom ve lökoensefalopatidir. Lökoensefalopati, kompleks I eksikliğinde sık tanımlanan bir fenotiptir. Kompleks I eksikliği olan bir hastamızda sendromik yüz görünümü ve laktat yüksekliği dışında patolojik bulgu saptanmamıştır.

Çalışmamızda klinik olarak Leigh sendromu ön tanısı belirtilmiş olan 5 hasta değerlendirilmiş olup, hastaların birinde kas biyopsisinde anormal mitokondriler, lipid artışı ve RBF; birinde anormal mitokondriler, COX solukluğu ve lipid artışı; diğer hastada ise COX ve SDH ile soluk boyanma saptanmıştır. Diğer 2 hastanın hem kas biyopsileri hem de mitokondriyal solunum zinciri enzim aktivitesi ölçümleri normal olarak saptanmıştır. Bu hastaların klinik skorlamalarına baktığımızda 3'ü "muhtemel" 2'si "kesin" mitokondriyal hastalık grubunda yer almaktadır. Ancak literatürde solunum zinciri enzim aktivesi normal olan Leigh sendromlu hastalara yapılan ileri araştırmalar ile hastalığı tanımlayıcı mutasyonlar gösterilmiştir. Bu nedenle, kuvvetle mitokondriyal hastalık düşünülen ve klinik skoru yüksek olan hastalara solunum zinciri eksikliği gösterilemese bile ileri incelemeler yapılabilir (215).

Bir seride, kompleks III eksikliğinin, mitokondriyal hastalığı olan çocukların yaklaşık %2-16'sında olduğu bildirilmiştir (173).

Kompleks IV eksikliğinde de farklı fenotipler görülebilmektedir. Kompleks IV eksikliği olan hastalarda yapılan çalışmalarda Leigh sendromunun en yaygın görülen fenotip olduğu gösterilmiştir (216). Çalışmamızda izole kompleks IV eksikliği olan 8

hasta tanımlanmıştır. Hastaların başvuru nedenleri global gelişme geriliği, hipotoni, ensefalopati, nöbet, solunum sıkıntısı, malnutrisyon, anemi, kusma, elektrolit dengesizliği olarak görüldü. Leigh sendromu ön tanısı çalışmamızda yer alan tüm hastalarda düşünülmesi de klinik bulguları bu sendrom ile uyumlu olabilir.

Solunum zincirinde çoklu kompleks eksiklikleri MELAS ve CPEO'da sık görülürken, non-sendromik grup içerisinde miyopati, epilepsi, ataksi, nöropati ve nöroregresyon ile karşımıza çıkmaktadır. Bu fenotipler genellikle mitokondriyal genomun translasyon, transkripsiyon veya bakımından sorumlu olan nükleer genlerden ya da tRNA mutasyonları veya varyasyonlarıyla ilişkilidir. Bu genlerin çoklu kompleks eksikliklerine neden olduğu bildirilmiştir (217).

Çalışmamızda mikroskopik incelemedeki COX ve SDH boyaları ile mitokondriyal solunum zinciri enzim aktivitesi ölçümünde kompleks II ve IV düzeylerinin her zaman uyumlu olmadığı saptanmıştır. COX eksikliği saptanan ve mitokondriyal solunum zinciri enzim aktivitesi çalışılan 6 hastanın 5'inde solunum zinciri enzim eksikliği eksikliği görülmüş olup 3 hastada kompleks IV, bir hastada kompleks I ve IV, bir hastada kompleks II-III ve IV eksikliği saptanmıştır. SDH eksikliği saptanan ve mitokondriyal solunum zinciri enzim aktivitesi çalışılan 4 hastadan 2'ser hastada kompleks kompleks IV ve kompleks II-III ve IV eksikliği saptanmıştır.

Mikroskopik değerlendirme ile solunum zinciri enzim analizi sonuçları arasındaki uyumsuzluk tanıda tek bir kritere bağlı kalmadan, tüm bulguların birlikte değerlendirilmesi gerektiğini ortaya koymaktadır. Mikroskopik olarak SDH ve COX boyalarının normal görünmesine rağmen enzim düzeyi düşük bulunuyorsa düşükünün referans değerinin ne kadar altında olduğu önemlidir. Alt sınıra çok yakın değerler mikroskopik olarak ayırt edilemiyor olabilir. Enzim eksikliğinden bahsedebilmek için hangi *cut-off* değerinin kabul edileceği önemlidir. Biyokimya laboratuvarının standart ölçümü, her ölçümde pozitif kontrol kullanılması, uyumsuz sonuçların tekrar edilerek doğrulanması diğer önemli parametrelerdir. Benzer şekilde, biyopsiye yapılan enzim boyalarında da pozitif kontrol kullanılması önemlidir. Dokunun uygun transfer edilmemesi, geç dondurulması gibi teknik nedenler de hatalı sonuçlara neden olabilir, bu nedenle internal kontrollerin kullanılması gereklidir.

Solunum zinciri anormallikleri mitokondriyal olmayan hastalıklarda da görülebileceği unutulmamalıdır. Kalsiyum metabolizması, nöromüsküler iletim ve anormal mRNA yıkımı dahil olmak üzere çeşitli hücrel süreçlere ikincil olabilir (218). Nörogenetik hastalığı olan hastalarda sekonder solunum zincir defektleri daha önce bildirilmiştir. Örneğin, Alexander hastalığı, solunum zincirinde olmayan zincir proteinlerini kodlayan nükleer mutasyonlardan kaynaklanır, ancak hastalar tipik olarak solunum zincir eksiklerinde görülen anormal biyokimyasal ve MR bulgularını sergilerler (219).

Çocukluk çağındaki mitokondriyal hastalıklar için farklı konsensus tanı kriterleri kullanılmaktadır (145,146). Genellikle klinik, biyokimyasal ve moleküler bulgulara dayanarak majör ve minör kriterler kullanılmaktadır. Majör ve minör kriterler genellikle klinik, biyokimyasal, patolojik ve moleküler bulgulara dayanır. Çalışmamızdaki hastaların mitokondriyal hastalık skorlamaları kas semptomlarının klinik özellikleri, santral sinir sistemi ve diğer sistem tutulumları, metabolik anormallikler ve nörogörüntüleme özellikleri ve histopatolojik bulguları temel alınarak Wolf ve arkadaşları (146) tarafından oluşturulan mitokondriyal hastalık klinik skorlaması ile değerlendirilmiştir. 2 hasta “olası değil”, 37 hasta “mümkün”, 85 hasta “muhtemel”, 68 hasta “kesin” grubunda yer almıştır. 2006 yılında Morava ve arkadaşları aynı klinik skorlama sistemini nDNA ya da mtDNA’da mutasyonu olan 44 çocuk hasta üzerinde uygulamış; tüm çocuklar “muhtemel” sınıfında yer alırken, %73’ü “kesin” mitokondriyal hastalık grubunda değerlendirilmiştir (220). Çalışmamızda yer alan hastaların histopatolojik değerlendirme öncesi ve sonrasındaki puanları karşılaştırıldığında, histopatolojik değerlendirmenin 134 hastada (%69,4) sınıflamayı değiştirerek bir üst sınıfa taşıdığı görülmüştür. Bu açıdan bakıldığında, kas biyopsisinin hem klinik skora hem de tanıya katkısı oldukça önemlidir.

Skorlama yapılırken tutulan organa özgü bulgulara bağlı olarak düşük puan alan hastaların tanılarının mitokondriyal hastalık olabileceği unutulmamalıdır. Ayrıca klinik şüphe olan hastaların biyokimyasal ve histopatolojik bulgularının normal olması mitokondriyal hastalık tanısını tamamen dışlamaz.

Kas biyopsisinde mitokondriyal hastalığı destekleyen bulgu olmayan ancak klinikte kuvvetle mitokondriyal hastalık düşünülen ve mitokondriyal solunum zinciri enzim aktivitesi ölçümü yapılan hastalar da çalışmamıza dahil edilmiştir.

Çalışmamızda amaç biyopsinin mitokondriyal miyopati tanısına katkısını görmektir. Kas biyopsisi ve mitokondriyal solunum zinciri enzim aktivitesi ölçümü normal olan 2 hasta mitokondriyal hastalık açısından artık “olası değil” olarak kabul edilmiştir (146). Ancak daha öncede belirtildiği gibi, mikroskopik ve biyokimyasal incelemenin negatif olması yine de mitokondriyal hastalığı kesin olarak ekarte ettirmez. Yapılan ölçümlerde yalnızca kompleks I, II-III ve IV düzeyleri bakılması, kompleks V düzeyi çalışılmaması nedeniyle olası mitokondriyal hastalık tanısı konulamayabilir (221).

Mitokondriyal hastalıkların moleküler tanısı için periferik kan veya biyopsi yapılan, tutulum gösteren organlardan elde edilen DNA’da Southern blot analizi veya *long range polimerase chain reaction* (long range PCR) analizi ile tek delesyon, çoklu delesyon veya duplikasyona bağlı mitokondriyal hastalıklar, PCR ve *restriction fragment length polymorphism* (RFLP) çalışmaları ile nokta mutasyonları gösterilebilir. Tüm ekzon sekanslama (WES) ise, 2011 yılından sonra klinik olarak kullanıma girmiştir ve mitokondriyal hastalık şüphesi olan hastalarda giderek yaygınlaşan bir tanı aracıdır. Çok sayıda araştırma, nükleer mitokondriyal genlerdeki yeni patojenik mutasyonların tüm ekzon sekanslama ile saptanabildiğini söylemektedir. Ancak tek gen sekanslamasının, nükleer gen panellerinin ya da tüm ekzon sekanslamasının mitokondriyal hastalığı olan hastalarda klinik kullanımını değerlendiren net kanıta dayalı uygulama önerisi bulunmamaktadır (221-224).

MtDNA mutasyonlarının neden olduğu mitokondriyal hastalık teşhisine yardımcı olmak için yapılan moleküler testlerin sonuçları, periferik kandan elde edilen mtDNA’daki mutasyonun saptanabilirlik seviyesinin altında olabildiği durumlarda negatif sonuçlar verebilir. Bu nedenle, klinik olarak kuvvetli mitokondriyal hastalık şüphesi olan durumlarda mtDNA eldesinin ve analizinin etkilenen dokulardan (kas, böbrek, karaciğer gibi) yapılması önemlidir. Bu da kas biyopsisi gibi doku biyopsilerinin özellikle mtDNA kökenli hastalıklarda histolojik katkının yanısıra genetik tanı için de önemli olduğunu göstermektedir. Uygun örneğin elde edilememesi ve laboratuvara uygun şartlarda ulaştırılmaması gibi durumlarda mtDNA’daki mutasyonların tespiti oldukça zordur.

Çalışmamızdaki 193 hastanın bir kısmına genetik araştırma yapılamaması ya da yapılan hastaların sonuçlarının farklı merkezlerde olması ve sonuçlara

ulaşılamaması nedeniyle, genetik araştırmalarla ilgili bilgilerin azlığı çalışmamızda kısıtlayıcı faktörlerden biri olarak görülmektedir. Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'ndan alınan verilere göre, çalışmamızdaki hastalardan 22'sinde mtDNA mutasyonları çalışılmış, 3 hastada *common* delesyon saptanmıştır. *Common* delesyon saptanan birinci hasta, sadece mental gelişme geriliği nedeniyle başvurmuş olup kas biyopsisinde COX ile soluk boyanma, solunum zinciri biyokimyasında kompleks I ve IV eksikliği görülmüştür. İkinci hasta, yürüme bozukluğu, kas güçsüzlüğü nedeniyle başvurmuş olup kas biyopsisinde COX ile mozaik boyanma ve anormal mitokondriyal dağılım görülmüştür. Üçüncü hasta, mental gelişme geriliği ve göz kapaklarında düşüklük nedeniyle başvurmuş olup kas biyopsisinde COX mozaik ve RBF saptanmıştır. mtDNA mutasyonu araştırılan 22 hastanın 5'inde mitokondriyal solunum zinciri enzim aktivitesi ölçümü yapıldığı, 2'sinin normal bulunduğu, birinde kompleks I ve IV, birinde kompleks IV, birinde kompleks I, II-III ve IV eksikliği olduğu saptanmıştır. 22 hastadan 8'inde anne baba arasında akrabalık öyküsü olduğu bilinmektedir. Bu nedenle diğer hastalarda otozomal resesif geçişli genetik bir defekt ihtimali olması nedeniyle hastalık riskini tamamen dışlamak zordur.

Çalışmamızda kas güçsüzlüğü ve öğrenme güçlüğü olan bir hastanın WES sonucunda otozomal resesif nöromiyotoni ve aksonal nöropati (NMAN) ile ilişkili 5. Kromozomun *HINT1* geninin 5q23.3 bölgesinde patojenik sınıflandırmaya ait bir mutasyon saptanmıştır. Hastanın kas biyopsisi sonucunda anormal mitokondriyal dağılım görülürken, solunum zinciri enzim analizi sonucu normal olarak raporlanmıştır.

Nöbet ve nistagmusu olan bir hastanın WES sonucunda *NDUFS1* geninde c.593G>C (p. Arg198Thr) homozigot mutasyon saptanmış olup, kas biyopsisinde RRF ve COX eksikliği görülürken, solunum zincir biyokimyasında kompleks II-III ve IV eksikliği saptanmıştır.

Emmeme ve solunum sıkıntısı nedeniyle başvuran 3 yaşında bir hastada *TK-2* homozigot mutasyonu saptanırken, kas biyopsisinde RRF, RBF, lipid artışı ve distrofik bulgular görülmüştür. Bu açıdan distrofik bulguların varlığı *TK-2* mutasyonuna bağlı mitokondriyal depleksiyon sendromunu aklımıza getirmelidir.

DM, adrenal yetmezlik, KBY, hipoparatiroidi nedeniyle takipli olan bir hastamızda *SARS-2* gen defekti saptanmış olup, kas biyopsisinde RBF ve COX eksikliği görülmüştür.

Global gelişme geriliği ve nöbet öyküsü olan bir hastamızın genetik analizinde *ETHE1* geninde homozigot mutasyon saptanıp etilmalonik ensefalopati tanısı alırken, kas biyopsisi COX eksikliği olarak raporlanmıştır.

Günümüzde yapılan genetik çalışmalarla mitokondriyal hastalıklara neden olan yeni mutasyonlar tanımlanmaya devam etmektedir. Ancak sadece genetik çalışmalar mitokondriyal hastalıkların fenotipinin ve genotipinin oldukça karmaşık olması nedeniyle tanı koymada yeterli değildir.

Klinik olarak şüphelenilen ancak solunum zinciri enzim analizi ya da genetik çalışmalarda mutasyon saptanmayan hastalarda tanıya giden yolda kas biyopsisinin önemi unutulmamalıdır. Aynı şekilde mitokondriyal hastalık açısından kas biyopsisi bulguları olan hastalarda solunum zinciri ya da genetik sonuçların farklı olabileceği de bilinmelidir.

Hekimler, hastaların ayrıntılı anamnezini aldıktan ve fizik muayenesini tamamladıktan sonra şüphelenilen hastalarda tanıda kas biyopsisinin yanı sıra, solunum zinciri enzim analizi ve genetik incelemeleri bütüncül olarak ele alması gerektiğini unutmamalıdır.

Çalışmamızın kısıtlayıcı faktörleri arasında yer alan diğer bir faktör ise hasta dosyaları kayıtlarının eksiksiz tutulmaması ve retrospektif olmasıdır. Bu açıdan gelecekte mitokondriyal hastalık şüphesi olan hastalar için yapılacak çalışmalara doğru ve güvenilir bilgi sağlanması açısından kayıtların eksiksiz tutulması oldukça önemlidir.

## 6. SONUÇLAR

1 Ocak 2007 – 31 Aralık 2017 tarihleri arasında Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Pediatrik Patoloji Ünitesi'nde kas biyopsisi değerlendirilen, biyopsi bulguları mitokondriyal miyopati ile uyumlu olan ve/veya kas biyopsisinden solunum zinciri enzim analizi çalışılan 193 hastanın klinik, laboratuvar, nöroradyolojik, histopatolojik bulguları ve solunum zinciri enzim analizi sonuçları değerlendirilmiştir.

Çalışmamızda aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir.

1. Hastaların 99'u (%51,2) erkek, 94'ü (%48,8) kız olup, erkek/kız oranı 1,05 olarak bulunmuştur.

2. Hastaların şikayetlerinin başlama yaşı 1 ile 179 ay arasında olup, ortalama  $29,90 \pm 42,89$  ay (ortanca: 12 ay) olarak bulunmuştur.

3. Hastaların tanı anındaki yaşları (biyopsi yaşı) 1 ay ile 19 yıl arasında olup, ortalama  $57,69 \pm 58,539$  ay (ortanca: 33 ay) olarak bulunmuştur.

4. Akrabalık öyküsü bilinen 132 hastanın 74'ünde (%56) anne baba arasında akrabalık mevcuttur. 35 hastanın (%22,9) kardeşinde benzer şikayetler görülürken, 25 hastanın (%22,3) akrabalarında da benzer şikayetler mevcuttur. Birçok vakada otozomal resesif kalıtım olabilir.

5. Hastalardan 153'ünün (%79,3) sağ, 40'ının (%20,7) eksitus olduğu görülmüştür.

6. Hastaların başvuru şikayetlerine bakıldığında en sık nörolojik yakınmalar (%93,8) saptanmıştır. Bunların içinde en sık gevşek-hipotonik olma (%38,3), nöbet (%32,6) ve motor ve mental gelişme geriliği (%29,5) görülmüştür. Hastaların %8,3'ünde oftalmopleji, %7,8'inde ptosis görülmüştür.

7. Nörolojik muayene bulguları arasında en sık hipotoni ve mental motor retardasyon (%19,7), motor kuvvet azlığı (%18,7), mental ve motor gelişme geriliği (%10,4), DTR'de azalma/alamama (%14,5) ve hipotoni ve motor gelişme geriliği (%9,8) yer almaktadır.

8. Hastaların %15'inde solunum sistemi, %8,3'ünde kardiyolojik sistem, %4,1'inde endokrin, %4,1'inde nefrolojik, %3,1'inde hematolojik, %2,6'sında gastrointestinal sistem tutulum bulguları görülmüştür.



9. Toplam 69 hastaya EKO yapılmış olup, 18'inde normal saptanmıştır. 11 hastada hipertrofik kardiyomiyopati, 4 hastada dilate kardiyomiyopati, 2 hastada *non-compaction* hipertrofi, 1 hastada interventriküler septum hipertrofisi saptanmıştır. Ayrıca 3 hastada (%1,6) ritm bozukluğu görülmüştür. 34 hastada (%49,3) ise patent foramen ovale, patent duktus arteriozus ve atrial septal defekt gibi yapısal bulgular olduğu görülmüştür.

10. Kreatin kinaz sonucu bilinen 91 hastanın 50'sinin (%54,9) sonucu normal bulunurken, 41 (%45,1) hastada yüksek olarak bulunmuştur. CK değerleri 18 U/L ve 8609 U/L (N: 26-192 U/L) arasında değişmekte olup, CK değeri 1000 U/L'den yüksek olan 16 (%17,6) hasta görülmüştür.

11. Metabolik asidoz 21/74 (%28,4) hastada görülürken, 91 hastanın 42'inde (%46,2) laktat yüksekliği, 70 hastanın 49'unda (%70) pirüvat yüksekliği saptanmıştır. Serum laktat/pirüvat oranı 19/61 (%31) hastada 20'nin üzerinde bulunmuştur.

12. 193 hastanın 98'ine kranial MR tetkiki yapılmış olup, 23 hastanın (%19,5) sonuçları normaldir; 19 hastada (%16,1) bazal ganglia tutulumu, 15 hastada (%12,7) basal gangliada sinyal artışı, 16 hastada (%13,6) beyaz cevher tutulumu/sinyal değişikliği, 7 hastada (%5,9) derin gri cevher tutulumu, beyin sapı ve/veya mezensefalonda sinyal artışı, 30 hastada (%25,4) korpus kallozumda incelleme, pineal kist, ventriküllerde genişleme veya beyaz cevherde hacim kaybı gibi yapısal değişiklikler, 5 hastada (%4,2) myelinizasyonda gecikme ve 3 hastada (%2,5) da diğer değişiklikler rapor edilmiştir. MRS 32 hastanın 11'inde (%34,4) normal bulunurken, 21'inde (%65,6) laktat piki saptanmıştır.

13. Çalışmaya alınan 193 hastanın 152'sinde mitokondriyal miyopatiyle uyumlu histopatolojik bulgu saptanmıştır. 41 hastanın mikroskopik değerlendirmesi normal bulunmuştur. Distrofik değişiklikler olan 10 hasta, denervasyon bulguları olan 7 hasta saptanmıştır.

14. En sık rastlanan histopatolojik bulgu COX eksikliğidir (%55,4). Bunu anormal mitokondriyal dağılım (RRF, RBF ve subsarkolemmal birikim) (%42,5), lipid birikimi (%26,4) ve SDH eksikliği (%5,7) takip etmektedir.

15. Tüm histopatolojik alt gruplarda hastaların en sık nörolojik şikayetlerle başvurduğu, nörolojik muayene bulgularında en sık motor +/- mental gelişme geriliği, nöbet ve hipotoni olduğu görülmüştür.

16. COX boyamasında en sık bulgunun mozaik COX eksikliği (%27) olduğu görülmüştür. Soluk COX %17 vakada, negatif/çok soluk COX %10,8 vakada tespit edilmiştir.

17. COX boyası ile negatif boyanan grupta solunum sıkıntısı, COX boyası ile soluk boyanan ve COX boyası ile mozaik boyanan grupta gevşek ya da hipotonik olma en sık görülen yakınmalardır.

18. 193 hastadan 51'inin kas biyopsileri ORO boyası ile patolojik boyanma göstermiştir. 44 hastada (%22,8) hafif lipid artışı, 7 hastada (%3,6) lipid miyopatisi saptanmıştır.

19. Lipid miyopatisi olan grupta kız hastaların %57,1 oranında olduğu, şikayet başlama yaşının hastaların %85,7'sinde 6 yaşından sonra olduğu görülmüştür.

20. Lipid artışı olan grupta gevşek ya da hipotonik olma, lipid miyopatisi olan grupta kas güçsüzlüğü en sık gözlenen şikayetlerdir.

21. Lipid miyopatisi hastalarında ardışık kütle spektrometri, İKAA ve İOA tetkik sonuçlarında anormallik saptanmamıştır. Metabolik incelemeler negatif bile olsa tanıda kas biyopsisinin önemli olduğunu göstermektedir.

22. Anormal mitokondriyal dağılım saptanan 82 hastanın 23'ünde RRF, 36'sında RBF, 23'ünde subsarkolemmal birikim görülmüştür.

23. RRF ve RBF görülen grupta kas güçsüzlüğü ve çabuk yorulmanın, subsarkolemmal birikim görülenlerde ise mental motor retardasyon, nöbet ve yürüme bozukluklarının en sık karşımıza çıkan şikayetler olduğu görülmüştür.

24. Göz kapaklarında düşüklük olan vakaların önemli bir kısmında anormal boyanma paterni ve/veya mozaik COX eksikliği olduğu, solunum sistemini ilgilendiren şikayetler ile başvuran hastaların büyük çoğunluğunda artmış lipid birikimi ve/veya COX eksikliği olduğu saptanmıştır.

25. İşitme azlığı ve oftalmolojik bulguları olan vakaların büyük çoğunluğunda COX eksikliği ve anormal mitokondriyal dağılımın olduğu, renal tübüler asidozu olan vakaların hepsinde COX eksikliği olduğu görülmüştür.

26. Solunum zinciri enzim aktivitesi çalışılan 56 hastanın 30'unda (%53,6) solunum zinciri enzim eksikliği saptanmıştır. 9 hastada (%30) tek bir kompleks (8'i kompleks IV, biri kompleks I), 21 hastada (%70) birden fazla kompleks eksikliği mevcuttur. En sık kompleks IV eksikliği (28 hasta, %93,3) olduğu saptanmıştır. Bunu

kompleks I (14 hasta, %46,7) ve kompleks II-III (15 hasta, %50) eksikliği takip etmektedir.

27. Mikroskopik incelemede COX eksikliği saptanan 6 hastada solunum zincir enzim düzeyi çalışılmıştır. Bunların 5'inde mikroskopik bulgularla uyumlu olarak biyokimyasal olarak da kompleks IV eksikliği saptanmıştır.

28. Kompleks I ve V gibi solunum zincir enzim eksikliklerinde kas biyopsisinde patolojik bulgu saptanmayabilir. Mitokondriyal hastalık kuvvetle düşünülen hastalarda kas biyopsisinin histopatolojik incelemesi normal bile olsa ileri araştırmalara devam edilmelidir.

29. Mikroskopik bulgularla solunum zinciri enzim analizi sonuçlarının ilişkisine bakıldığında, mikroskopik incelemede COX ve SDH boyaları normal bulunup mitokondriyal solunum zinciri enzim aktivitesi ölçümünde kompleks IV ve II düzeyi düşük saptanan hastaların dikkatle yeniden değerlendirilmesi, hastaların klinik bulgularıyla birlikte solunum zinciri enzim düzeyinin ne kadar düşük olduğu ve teknik şartların dikkatle gözden geçirilmesi önemlidir.

30. Çalışmamızdaki hastalardan ileri incelemelerle spesifik genetik tanı alanların sayısı azdır. Elde edilebilen kısıtlı bilgilere göre, otozomal resesif nöromiyotoni ve aksonal nöropati (NMAN) ile ilişkili *HINT1*, nöbet ve nistagmusu olan bir hastada *NDUFS1*, emme ve solunum sıkıntısı nedeniyle başvuran bir hastada *TK-2*, DM, adrenal yetmezlik, KBY, hipoparatiroidi nedeniyle takipli olan bir hastada *SARS-2*, global gelişme geriliği ve nöbet öyküsü olan bir hastada *ETHE1*, 3 hastada ise mtDNA'da *common* delesyon saptanmıştır.

31. Mitokondriyal hastalık tanı kriterlerine göre 68 hasta (%35,4) “kesin mitokondriyal hastalık”, 85 hasta (%44,3) “muhtemel”, 37 hasta (%19,2) “mümkün” olarak sınıflandırılmıştır. Vakaların histopatolojik değerlendirmelerinin öncesi ve sonrasındaki puanları karşılaştırıldığında, histopatolojik değerlendirmenin 134 hastada (%69,4) sınıflamayı değiştirerek bir üst sınıfa taşıdığı görülmüştür. İleri genetik veya biyokimyasal incelemeler olmasa bile bu kriterlerin kullanılması hastaların detaylı incelenmesi ve bulguların birlikte yorumu açısından yararlıdır.

## 7. KAYNAKLAR

1. Altmann R. Die Elementarorganismen und ihre Beziehungen zu den Zellen: Veit; 1894.
2. Benda C. Ueber die spermatogenese der vertebraten und höherer evertebraten, II. Theil: Die histiogenese der spermien. Arch Anat Physiol. 1898;73:393-8.
3. Warburg O, Negelein E. Über das Absorptionsspektrum des Atmungsferments. Biochem Z. 1929;214:64-100.
4. Keilin D. On cytochrome, a respiratory pigment, common to animals, yeast, and higher plants. Proc R Soc Lond B. 1925;98(690):312-39.
5. Fiske CH, Subbarow Y. The colorimetric determination of phosphorus. J Biol Chem. 1925;66(2):375-400.
6. Krebs HA, Kornberg HL, Burton K. A survey of the energy transformations in living matter. Ergeb Physiol. 1957;49(1):212-98.
7. Nass MM, Nass S. Intramitochondrial fibers with DNA characteristics: I. Fixation and electron staining reactions. J Cell Biol. 1963;19(3):593-611.
8. 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.
9. 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.
10. Mitchell P. Coupling of phosphorylation to electron and hydrogen transfer by a chemi-osmotic type of mechanism. Nature. 1961;191(4784):144-8.
11. Anderson S, Bankier AT, Barrell BG, de Bruijn MH, Coulson AR, Drouin J, ve ark. Sequence and organization of the human mitochondrial genome. Nature. 1981;290(5806):457-65.
12. Holt IJ, Harding AE, Morgan-Hughes JA. Deletions of muscle mitochondrial DNA in patients with mitochondrial myopathies. Nature. 1988;331(6158):717-9.
13. Schon EA, Bonilla E, DiMauro S. Mitochondrial DNA mutations and pathogenesis. J Bioenerg Biomembr. 1997;29(2):131-49.
14. Wallace DC, Singh G, Lott MT, Hodge JA, Schurr TG, Lezza A, ve ark. Mitochondrial DNA mutation associated with Leber's hereditary optic neuropathy. Science. 1988;242(4884):1427-30.
15. Brandon MC, Lott MT, Nguyen KC, Spolim S, Navathe SB, Baldi P, ve ark. MITOMAP: a human mitochondrial genome database—2004 update. Nucleic Acids Res. 2005;33(Database issue):D611-3.
16. DiMauro S. Mitochondrial encephalomyopathies: back to Mendelian genetics. Ann Neurol. 1999;45(6):693-4.
17. 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.

18. Skladal D, Halliday J, Thorburn DR. Minimum birth prevalence of mitochondrial respiratory chain disorders in children. *Brain*. 2003;126(8):1905-12.
19. Arpa J, Cruz-Martínez A, Campos Y, Gutiérrez-Molina M, García-Río F, Pérez-Conde C, ve ark. Prevalence and progression of mitochondrial diseases: a study of 50 patients. *Muscle Nerve*. 2003;28(6):690-5.
20. Majamaa K, Moilanen JS, Uimonen S, Remes AM, Salmela PI, Kärppä M, ve ark. Epidemiology of A3243G, the mutation for mitochondrial encephalomyopathy, lactic acidosis, and strokelike episodes: prevalence of the mutation in an adult population. *Am J Hum Genet*. 1998;63(2):447-54.
21. Gorman GS, Schaefer AM, Ng Y, Gomez N, Blakely EL, Alston CL, ve ark. Prevalence of nuclear and mitochondrial DNA mutations related to adult mitochondrial disease. *Ann Neurol*. 2015;77(5):753-9.
22. Dyall SD, Brown MT, Johnson PJ. Ancient invasions: from endosymbionts to organelles. *Science*. 2004;304(5668):253-7.
23. Palade GE. An electron microscope study of the mitochondrial structure. *J Histochem Cytochem*. 1953;1(4):188-211.
24. Pfanner N, Wiedemann N. Mitochondrial protein import: two membranes, three translocases. *Curr Opin Cell Biol*. 2002;14(4):400-11.
25. 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.
26. Bayrhuber M, Meins T, Habeck M, Becker S, Giller K, Villinger S, ve ark. Structure of the human voltage-dependent anion channel. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008;105(40):15370-5.
27. 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.
28. Neupert W, Herrmann JM. Translocation of proteins into mitochondria. *Annu Rev Biochem*. 2007;76(1):723-49.
29. Arco AD, Satrustegui J. New mitochondrial carriers: an overview. *Cell Mol Life Sci*. 2005;62(19-20):2204-27.
30. Frey TG, Mannella CA. The internal structure of mitochondria. *Trends Biochem Sci*. 2000;25(7):319-24.
31. Koehler CM, Beverly KN, Leverich EP. Redox pathways of the mitochondrion. *Antioxid Redox Signal*. 2006;8(5-6):813-22.
32. Calvo S, Jain M, Xie X, Sheth SA, Chang B, Goldberger OA, ve ark. Systematic identification of human mitochondrial disease genes through integrative genomics. *Nat Genet*. 2006;38(5):576-82.
33. Srere PA. The infrastructure of the mitochondrial matrix. *Trends Biochem Sci*. 1980;5(5):120-1.
34. 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.
35. 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.

36. 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.
37. 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.
38. 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.
39. 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.
40. Stewart JB, Chinnery PF. The dynamics of mitochondrial DNA heteroplasmy: implications for human health and disease. *Nat Rev Genet.* 2015;16(9):530-42.
41. Gyllenstein U, Wharton D, Josefsson A, Wilson AC. Paternal inheritance of mitochondrial DNA in mice. *Nature.* 1991;352(6332):255-7.
42. Schwartz M, Vissing J. Paternal inheritance of mitochondrial DNA. *N Engl J Med.* 2002;347(8):576-80.
43. Taanman J-W. The mitochondrial genome: structure, transcription, translation and replication. *Biochim Biophys Acta.* 1999;1410(2):103-23.
44. Kasamatsu H, Vinograd J. Replication of circular DNA in eukaryotic cells. *Annu Rev Biochem.* 1974;43(1):695-719.
45. 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.
46. 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.
47. 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.
48. Wallace DC, Chalkia D. Mitochondrial DNA genetics and the heteroplasmy conundrum in evolution and disease. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2013;5(11):a021220.
49. Cao L, Shitara H, Sugimoto M, Hayashi J-I, Abe K, Yonekawa H. New evidence confirms that the mitochondrial bottleneck is generated without reduction of mitochondrial DNA content in early primordial germ cells of mice. *PLoS Genet.* 2009;5(12):e1000756.
50. 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.
51. 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.
52. Scarpulla RC. Nuclear activators and coactivators in mammalian mitochondrial biogenesis. *Biochim Biophys Acta.* 2002;1576(1-2):1-14.
53. Shutt TE, Shadel GS. A compendium of human mitochondrial gene expression machinery with links to disease. *Environ Mol Mutagen.* 2010;51(5):360-79.

54. Evans MJ, Scarpulla R. Interaction of nuclear factors with multiple sites in the somatic cytochrome c promoter. Characterization of upstream NRF-1, ATF, and intron Sp1 recognition sequences. *J Biol Chem.* 1989;264(24):14361-8.
55. Scarpulla RC. Nuclear activators and coactivators in mammalian mitochondrial biogenesis. *Biochim Biophys Acta.* 2002;1576(1-2):1-14.
56. Gleyzer N, Vercauteren K, Scarpulla RC. Control of mitochondrial transcription specificity factors (TFB1M and TFB2M) by nuclear respiratory factors (NRF-1 and NRF-2) and PGC-1 family coactivators. *Mol Cell Biol.* 2005;25(4):1354-66.
57. Virbasius JV, Virbasius C-mA, Scarpulla RC. Identity of GABP with NRF-2, a multisubunit activator of cytochrome oxidase expression, reveals a cellular role for an ETS domain activator of viral promoters. *Genes Dev.* 1993;7(3):380-92.
58. Barish GD, Narkar VA, Evans RM. PPAR delta: a dagger in the heart of the metabolic syndrome. *J Clin Invest.* 2006;116(3):590-7.
59. Morrish F, Giedt C, Hockenbery D. c-MYC apoptotic function is mediated by NRF-1 target genes. *Genes Dev.* 2003;17(2):240-55.
60. Puigserver P, Wu Z, Park CW, Graves R, Wright M, Spiegelman BM. A cold-inducible coactivator of nuclear receptors linked to adaptive thermogenesis. *Cell.* 1998;92(6):829-39.
61. DiMauro S, Schon EA. Mitochondrial respiratory-chain diseases. *N Engl J Med.* 2003;348(26):2656-68.
62. Hudson G, Chinnery PF. Mitochondrial DNA polymerase- $\gamma$  and human disease. *Hum Mol Genet.* 2006;15(Spec No 2):R244-R52.
63. Naïmi M, Bannwarth S, Procaccio V, Pouget J, Desnuelle C, Pellissier J-F, ve ark. Molecular analysis of ANT1, TWINKLE and POLG in patients with multiple deletions or depletion of mitochondrial DNA by a dHPLC-based assay. *Eur J Hum Genet.* 2006;14(8):917-22.
64. Goffart S, Cooper HM, Tyynismaa H, Wanrooij S, Suomalainen A, Spelbrink JN. Twinkle mutations associated with autosomal dominant progressive external ophthalmoplegia lead to impaired helicase function and in vivo mtDNA replication stalling. *Hum Mol Genet.* 2008;18(2):328-40.
65. Keen BA, Bailey LJ, Jozwiakowski SK, Doherty AJ. Human PrimPol mutation associated with high myopia has a DNA replication defect. *Nucleic Acids Res.* 2014;42(19):12102-11.
66. Ronchi D, Di Fonzo A, Lin W, Bordoni A, Liu C, Fassone E, ve ark. Mutations in DNA2 link progressive myopathy to mitochondrial DNA instability. *Am J Hum Genet.* 2013;92(2):293-300.
67. Uhler JP, Thörn C, Nicholls TJ, Matic S, Milenkovic D, Gustafsson CM, ve ark. MGME1 processes flaps into ligatable nicks in concert with DNA polymerase  $\gamma$  during mtDNA replication. *Nucleic Acids Res.* 2016;44(12):5861-71.
68. Reyes A, Melchionda L, Nasca A, Carrara F, Lamantea E, Zanolini A, ve ark. RNASEH1 Mutations Impair mtDNA Replication and Cause Adult-Onset Mitochondrial Encephalomyopathy. *Am J Hum Genet.* 2015;97(1):186-93.
69. Litonin D, Sologub M, Shi Y, Savkina M, Anikin M, Falkenberg M, ve ark. Human mitochondrial transcription revisited: only TFAM and TFB2M are

- required for transcription of the mitochondrial genes in vitro. *J Biol Chem.* 2010;285(24):18129-33.
70. Stiles AR, Simon MT, Stover A, Eftekharian S, Khanlou N, Wang HL, ve ark. Mutations in TFAM, encoding mitochondrial transcription factor A, cause neonatal liver failure associated with mtDNA depletion. *Mol Genet Metab.* 2016;119(1-2):91-9.
  71. Posse V, Shahzad S, Falkenberg M, Hällberg BM, Gustafsson CM. TEFM is a potent stimulator of mitochondrial transcription elongation in vitro. *Nucleic Acids Res.* 2015;43(5):2615-24.
  72. Moustafa IM, Uchida A, Wang Y, Yennawar N, Cameron CE. Structural models of mammalian mitochondrial transcription factor B2. *Biochim Biophys Acta.* 2015;1849(8):987-1002.
  73. Saada A, Shaag A, Mandel H, Nevo Y, Eriksson S, Elpeleg O. Mutant mitochondrial thymidine kinase in mitochondrial DNA depletion myopathy. *Nat Genet.* 2001;29(3):342-4.
  74. Mazurova S, Magner M, Kucerova-Vidrova V, Vondrackova A, Stranecky V, Pristoupilova A, ve ark. Thymidine kinase 2 and alanyl-tRNA synthetase 2 deficiencies cause lethal mitochondrial cardiomyopathy: case reports and review of the literature. *Cardiol Young.* 2017;27(5):936-44.
  75. Dimmock DP, Zhang Q, Dionisi-Vici C, Carrozzo R, Shieh J, Tang LY, ve ark. Clinical and molecular features of mitochondrial DNA depletion due to mutations in deoxyguanosine kinase. *Hum Mutat.* 2008;29(2):330-1.
  76. Pontarin G, Ferraro P, Bee L, Reichard P, Bianchi V. Mammalian ribonucleotide reductase subunit p53R2 is required for mitochondrial DNA replication and DNA repair in quiescent cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2012;109(33):13302-7.
  77. Kaukonen J, Juselius JK, Tiranti V, Kyttälä A, Zeviani M, Comi GP, ve ark. Role of adenine nucleotide translocator 1 in mtDNA maintenance. *Science.* 2000;289(5480):782-5.
  78. Kawamata H, Tiranti V, Magrané J, Chinopoulos C, Manfredi G. adPEO mutations in ANT1 impair ADP-ATP translocation in muscle mitochondria. *Hum Mol Genet.* 2011;20(15):2964-74.
  79. Hudson G, Amati-Bonneau P, Blakely EL, Stewart JD, He L, Schaefer AM, ve ark. Mutation of OPA1 causes dominant optic atrophy with external ophthalmoplegia, ataxia, deafness and multiple mitochondrial DNA deletions: a novel disorder of mtDNA maintenance. *Brain.* 2008;131(2):329-37.
  80. Ranieri M, Brajkovic S, Riboldi G, Ronchi D, Rizzo F, Bresolin N, ve ark. Mitochondrial fusion proteins and human diseases. *Neurol Res Int.* 2013;2013:293893.
  81. Vielhaber S, Debska-Vielhaber G, Peeva V, Schoeler S, Kudin AP, Minin I, ve ark. Mitofusin 2 mutations affect mitochondrial function by mitochondrial DNA depletion. *Acta Neuropathol.* 2013;125(2):245-56.
  82. Fahrner JA, Liu R, Perry MS, Klein J, Chan DC. A novel de novo dominant negative mutation in DNMI1 impairs mitochondrial fission and presents as childhood epileptic encephalopathy. *Am J Med Genet A.* 2016;170(8):2002-11.
  83. Koch J, Feichtinger RG, Freisinger P, Pies M, Schrodler F, Iuso A, ve ark. Disturbed mitochondrial and peroxisomal dynamics due to loss of MFF causes



- Leigh-like encephalopathy, optic atrophy and peripheral neuropathy. *J Med Genet.* 2016;53(4):270-8.
84. J M Shoffner a, Wallace DC. Oxidative Phosphorylation Diseases and Mitochondrial DNA Mutations: Diagnosis and Treatment. *Annu Rev Nutr.* 1994;14:535-68.
  85. Wong L-JC. Diagnostic challenges of mitochondrial DNA disorders. *Mitochondrion.* 2007;7(1-2):45-52.
  86. Rahman S, Poulton J, Marchington D, Suomalainen A. Decrease of 3243 A-->G mtDNA mutation from blood in MELAS syndrome: a longitudinal study. *Am J Hum Genet.* 2001;68(1):238-40.
  87. Trifunov S, Pyle A, Valentino ML, Liguori R, Yu-Wai-Man P, Burte F, ve ark. Clonal expansion of mtDNA deletions: different disease models assessed by digital droplet PCR in single muscle cells. *Sci Rep.* 2018;8(1):11682.
  88. Cree LM, Samuels DC, de Sousa Lopes SC, Rajasimha HK, Wonnapijit P, Mann JR, ve ark. A reduction of mitochondrial DNA molecules during embryogenesis explains the rapid segregation of genotypes. *Nat Genet.* 2008;40(2):249-54.
  89. Cao L, Shitara H, Horii T, Nagao Y, Imai H, Abe K, ve ark. The mitochondrial bottleneck occurs without reduction of mtDNA content in female mouse germ cells. *Nat Genet.* 2007;39(3):386-90.
  90. Wai T, Teoli D, Shoubridge EA. The mitochondrial DNA genetic bottleneck results from replication of a subpopulation of genomes. *Nat Genet.* 2008;40(12):1484-8.
  91. Khan NA, Govindaraj P, Meena AK, Thangaraj K. Mitochondrial disorders: challenges in diagnosis & treatment. *Indian J Med Res.* 2015;141(1):13-26.
  92. Haas RH, Zolkipli Z. Mitochondrial disorders affecting the nervous system. *Semin Neurol.* 2014;34(3):321-40.
  93. Nascimento A, Ortez 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.
  94. Milone M, Wong LJ. Diagnosis of mitochondrial myopathies. *Mol Genet Metab.* 2013;110(1-2):35-41.
  95. Finsterer J, Kothari S. Cardiac manifestations of primary mitochondrial disorders. *Int J Cardiol.* 2014;177(3):754-63.
  96. Fraser JA, Biousse V, Newman NJ. The neuro-ophthalmology of mitochondrial disease. *Surv Ophthalmol.* 2010;55(4):299-334.
  97. Rahman S. Gastrointestinal and hepatic manifestations of mitochondrial disorders. *J Inher Metab Dis.* 2013;36(4):659-73.
  98. Maechler P. Mitochondrial function and insulin secretion. *Mol Cell Endocrinol.* 2013;379(1-2):12-8.
  99. Schaefer AM, Walker M, Turnbull DM, Taylor RW. Endocrine disorders in mitochondrial disease. *Mol Cell Endocrinol.* 2013;379(1-2):2-11.
  100. O'Toole JF. Renal manifestations of genetic mitochondrial disease. *Int J Nephrol Renovasc Dis.* 2014;7:57-67.
  101. Finsterer J, Frank M. Haematological abnormalities in mitochondrial disorders. *Singapore Med J.* 2015;56(7):412-9.

102. 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.
103. Bodemer C, Rötig A, Rustin P, Cormier V, Niaudet P, Saudubray J-M, ve ark. Hair and skin disorders as signs of mitochondrial disease. *Pediatrics.* 1999;103(2):428-33.
104. Sofou K, De Coo IF, Isohanni P, Ostergaard E, Naess K, De Meirleir L, ve ark. A multicenter study on Leigh syndrome: disease course and predictors of survival. *Orphanet J Rare Dis.* 2014;9(1):52.
105. Rahman S, Blok RB, Dahl HH, Danks DM, Kirby DM, Chow CW, ve ark. Leigh syndrome: clinical features and biochemical and DNA abnormalities. *Ann Neurol.* 1996;39(3):343-51.
106. Claeys KG, Abicht A, Häusler M, Kleinle S, Wiesmann M, Schulz JB, ve ark. Novel genetic and neuropathological insights in neurogenic muscle weakness, ataxia, and retinitis pigmentosa (NARP). *Muscle Nerve.* 2016;54(2):328-33.
107. El-Hattab AW, Adesina AM, Jones J, Scaglia F. MELAS syndrome: clinical manifestations, pathogenesis, and treatment options. *Mol Genet Metab.* 2015;116(1-2):4-12.
108. Sproule DM, Kaufmann P. Mitochondrial encephalopathy, lactic acidosis, and strokelike episodes. *Ann N Y Acad Sci.* 2008;1142(1):133-58.
109. Kaufmann P, Shungu DC, Sano M, Jhung S, Engelstad K, Mitsis E, ve ark. Cerebral lactic acidosis correlates with neurological impairment in MELAS. *Neurology.* 2004;62(8):1297-302.
110. 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.
111. Berkovic S, Carpenter S, Evans A, Karpati G, Shoubridge E, Andermann F, ve ark. 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.
112. 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.
113. Man PYW, Turnbull D, Chinnery P. Leber hereditary optic neuropathy. *J Med Genet.* 2002;39(3):162-9.
114. Matthews L, Enzinger C, Fazekas F, Rovira A, Ciccarelli O, Dotti MT, ve ark. MRI in Leber's hereditary optic neuropathy: the relationship to multiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2015;86(5):537-42.
115. Farruggia P, Di Marco F, Dufour C. Pearson syndrome. *Expert Rev Hematol.* 2018;11(3):239-46.
116. 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.
117. Topaloglu R, Lebre AS, Demirkaya E, Kuskonmaz B, Coskun T, Orhan D, ve ark. Two new cases with Pearson syndrome and review of Hacettepe experience. *Turk J Pediatr.* 2008;50(6):572-6.

118. Broomfield A, Sweeney MG, Woodward CE, Fratter C, Morris AM, Leonard JV, ve ark. Paediatric single mitochondrial DNA deletion disorders: an overlapping spectrum of disease. *J Inher Metab Dis*. 2015;38(3):445-57.
119. Saneto RP, Cohen BH, Copeland WC, Naviaux RK. Alpers-Huttenlocher syndrome. *Pediatr Neurol*. 2013;48(3):167-78.
120. Gauthier-Villars M, Landrieu P, Cormier-Daire V, Jacquemin E, Chretien D, Rötig A, ve ark. Respiratory chain deficiency in Alpers syndrome. *Neuropediatrics*. 2001;32(3):150-2.
121. Suomalainen A, Isohanni P. Mitochondrial DNA depletion syndromes—many genes, common mechanisms. *Neuromuscul Disord*. 2010;20(7):429-37.
122. Spinazzola A. Mitochondrial DNA mutations and depletion in pediatric medicine. *Semin Fetal Neonatal Med*. 2011;16(4):190-6.
123. Pons R, Andreetta F, Wang CH, Vu TH, Bonilla E, DiMauro S, ve ark. Mitochondrial myopathy simulating spinal muscular atrophy. *Pediatr Neurol*. 1996;15(2):153-8.
124. Ostergaard E, Schwartz M, Batbayli M, Christensen E, Hjalmarsen O, Kollberg G, ve ark. A novel missense mutation in *SUCLG1* associated with mitochondrial DNA depletion, encephalomyopathic form, with methylmalonic aciduria. *Eur J Pediatr*. 2010;169(2):201-5.
125. Elpeleg O, Miller C, Hershkovitz E, Bitner-Glindzicz M, Bondi-Rubinstein G, Rahman S, ve ark. 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.
126. Bourdon A, Minai L, Serre V, Jais J-P, Sarzi E, Aubert S, ve ark. Mutation of *RRM2B*, encoding p53-controlled ribonucleotide reductase (p53R2), causes severe mitochondrial DNA depletion. *Nat Genet*. 2007;39(6):776-80.
127. Mandel H, Szargel R, Labay V, Elpeleg O, Saada A, Shalata A, ve ark. The deoxyguanosine kinase gene is mutated in individuals with depleted hepatocerebral mitochondrial DNA. *Nat Genet*. 2001;29(3):337-41.
128. Labarthe F, Dobbelaere D, Devisme L, De Muret A, Jardel C, Taanman J-W, ve ark. Clinical, biochemical and morphological features of hepatocerebral syndrome with mitochondrial DNA depletion due to deoxyguanosine kinase deficiency. *J Hepatol*. 2005;43(2):333-41.
129. 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.
130. Saneto RP, Naviaux RK. Polymerase gamma disease through the ages. *Dev Disabil Res Rev*. 2010;16(2):163-74.
131. Hirano M, Silvestri G, Blake DM, Lombes A, Minetti C, Bonilla E, ve ark. Mitochondrial neurogastrointestinal encephalomyopathy (MNGIE): clinical, biochemical, and genetic features of an autosomal recessive mitochondrial disorder. *Neurology*. 1994;44(4):721-7.
132. Parikh S, Goldstein A, Koenig MK, Scaglia F, Enns GM, Saneto R, ve ark. Diagnosis and management of mitochondrial disease: a consensus statement from the Mitochondrial Medicine Society. *Genet Med*. 2015;17(9):689-701.
133. Ramaekers V, Sequeira JM, Quadros EV. Clinical recognition and aspects of the cerebral folate deficiency syndromes. *Clin Chem Lab Med*. 2013;51(3):497-511.

134. Haas RH, Parikh S, Falk MJ, Saneto RP, Wolf NI, Darin N, ve ark. The in-depth evaluation of suspected mitochondrial disease. *Mol Genet Metab.* 2008;94(1):16-37.
135. Morovat A, Weerasinghe G, Nesbitt V, Hofer M, Agnew T, Quaghebeur G, ve ark. Use of FGF-21 as a Biomarker of Mitochondrial Disease in Clinical Practice. *J Clin Med.* 2017;6(8):80.
136. Yatsuga S, Fujita Y, Ishii A, Fukumoto Y, Arahata H, Kakuma T, ve ark. Growth differentiation factor 15 as a useful biomarker for mitochondrial disorders. *Ann Neurol.* 2015;78(5):814-23.
137. Chi CS. Diagnostic approach in infants and children with mitochondrial diseases. *Pediatr Neonatol.* 2015;56(1):7-18.
138. 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.
139. Bourgeois JM, Tarnopolsky MA. Pathology of skeletal muscle in mitochondrial disorders. *Mitochondrion.* 2004;4(5-6):441-52.
140. Kyriacou K, Mikellidou C, Hadjianastasiou A, Middleton L, Panousopoulos A, Kyriakides T. Ultrastructural diagnosis of mitochondrial encephalomyopathies revisited. *Ultrastruct Pathol.* 1999;23(3):163-70.
141. 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.
142. Honzik T, Wenchich L, Bohm M, Hansikova H, Pejznochova M, Zapadlo M, ve ark. Activities of respiratory chain complexes and pyruvate dehydrogenase in isolated muscle mitochondria in premature neonates. *Early Hum Dev.* 2008;84(4):269-76.
143. Calvo SE, Compton AG, Hershman SG, Lim SC, Lieber DS, Tucker EJ, ve ark. Molecular diagnosis of infantile mitochondrial disease with targeted next-generation sequencing. *Sci Transl Med.* 2012;4(118):118ra10.
144. Walker UA, Collins S, Byrne E. Respiratory chain encephalomyopathies: a diagnostic classification. *Eur Neurol.* 1996;36(5):260-7.
145. Bernier F, Boneh A, Dennett X, Chow C, Cleary M, Thorburn D. Diagnostic criteria for respiratory chain disorders in adults and children. *Neurology.* 2002;59(9):1406-11.
146. Wolf NI, Smeitink JA. Mitochondrial disorders A proposal for consensus diagnostic criteria in infants and children. *Neurology.* 2002;59(9):1402-5.
147. 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.
148. Montgomery MK, Turner N. Mitochondrial dysfunction and insulin resistance: an update. *Endocr Connect.* 2015;4(1):R1-R15.
149. Finsterer J, Mahjoub SZ. Epilepsy in mitochondrial disorders. *Seizure.* 2012;21(5):316-21.
150. Parikh S, Goldstein A, Karaa A, Koenig MK, Anselm I, Brunel-Guitton C, ve ark. Patient care standards for primary mitochondrial disease: a consensus statement from the Mitochondrial Medicine Society. *Genet Med.* 2017;19(12).
151. Gempel K, Topaloglu H, Talim B, Schneiderat P, Schoser BG, Hans VH, ve ark. 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.
152. Glover EI, Martin J, Maher A, Thornhill RE, Moran GR, Tarnopolsky MA. A randomized trial of coenzyme Q10 in mitochondrial disorders. *Muscle Nerve*. 2010;42(5):739-48.
  153. Carelli V, La Morgia C, Valentino ML, Rizzo G, Carbonelli M, De Negri AM, ve ark. Idebenone treatment in Leber's hereditary optic neuropathy. *Brain*. 2011;134(9):e188-e.
  154. Parikh S, Goldstein A, Koenig MK, Scaglia F, Enns GM, Saneto R, ve ark. Practice patterns of mitochondrial disease physicians in North America. Part 2: treatment, care and management. *Mitochondrion*. 2013;13(6):681-7.
  155. Abdelmalak M, Lew A, Ramezani R, Shroads AL, Coats BS, Langae T, ve ark. Long-term safety of dichloroacetate in congenital lactic acidosis. *Mol Genet Metab*. 2013;109(2):139-43.
  156. Kerr DS. Review of clinical trials for mitochondrial disorders: 1997–2012. *Neurotherapeutics*. 2013;10(2):307-19.
  157. Mancuso M, Orsucci D, LoGerfo A, Rocchi A, Petrozzi L, Nesti C, ve ark. Oxidative stress biomarkers in mitochondrial myopathies, basally and after cysteine donor supplementation. *J Neurol*. 2010;257(5):774-81.
  158. Johnson SC, Yanos ME, Kayser E-B, Quintana A, Sangesland M, Castanza A, ve ark. mTOR inhibition alleviates mitochondrial disease in a mouse model of Leigh syndrome. *Science*. 2013;342(6165):1524-8.
  159. Golubitzky A, Dan P, Weissman S, Link G, Wikstrom JD, Saada A. Screening for active small molecules in mitochondrial complex I deficient patient's fibroblasts, reveals AICAR as the most beneficial compound. *PLoS One*. 2011;6(10):e26883.
  160. Creelan BC, Gabrilovich DI, Gray JE, Williams CC, Tanvetyanon T, Haura EB, ve ark. Safety, pharmacokinetics, and pharmacodynamics of oral omaxeloxolone (RTA 408), a synthetic triterpenoid, in a first-in-human trial of patients with advanced solid tumors. *Onco Targets Ther*. 2017;10:4239-50.
  161. Van De Weijer T, Phielix E, Bilet L, Williams EG, Ropelle ER, Bierwagen A, ve ark. Evidence for a direct effect of the NAD<sup>+</sup> precursor acipimox on muscle mitochondrial function in humans. *Diabetes*. 2015;64(4):1193-201.
  162. Baker SK, Tarnopolsky MA. Targeting cellular energy production in neurological disorders. *Expert Opin Investig Drugs*. 2003;12(10):1655-79.
  163. Khan NA, Auranen M, Paetau I, Pirinen E, Euro L, Forsström S, ve ark. Effective treatment of mitochondrial myopathy by nicotinamide riboside, a vitamin B3. *EMBO Mol Med*. 2014;6(6):721-31.
  164. Koga Y, Akita Y, Nishioka J, Yatsuga S, Povalko N, Tanabe Y, ve ark. L-arginine improves the symptoms of strokelike episodes in MELAS. *Neurology*. 2005;64(4):710-2.
  165. Garone C, Garcia-Diaz B, Emmanuele V, Lopez LC, Tadesse S, Akman HO, ve ark. Deoxypyrimidine monophosphate bypass therapy for thymidine kinase 2 deficiency. *EMBO Mol Med*. 2014;6(8):1016-27.
  166. Boschetti E, D'Alessandro R, Bianco F, Carelli V, Cenacchi G, Pinna AD, ve ark. Liver as a source for thymidine phosphorylase replacement in mitochondrial neurogastrointestinal encephalomyopathy. *PLoS One*. 2014;9(5):e96692.

167. Santorelli F, Gagliardi M, Dionisi-Vici C, Parisi F, Tessa A, Carrozzo R, ve ark. Hypertrophic cardiomyopathy and mtDNA depletion. Successful treatment with heart transplantation. *Neuromuscul Disord*. 2002;12(1):56-9.
168. 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.
169. Craven L, Tuppen HA, Greggains GD, Harbottle SJ, Murphy JL, Cree LM, ve ark. Pronuclear transfer in human embryos to prevent transmission of mitochondrial DNA disease. *Nature*. 2010;465(7294):82-5.
170. Cree LM, Samuels DC, Chinnery PF. The inheritance of pathogenic mitochondrial DNA mutations. *Biochim Biophys Acta*. 2009;1792(12):1097-102.
171. Elliott HR, Samuels DC, Eden JA, Relton CL, Chinnery PF. Pathogenic mitochondrial DNA mutations are common in the general population. *Am J Hum Genet*. 2008;83(2):254-60.
172. Skladal D, Sudmeier C, Konstantopoulou V, Stockler-Ipsiroglu S, Plecko-Startinig B, Bernert G, ve ark. The clinical spectrum of mitochondrial disease in 75 pediatric patients. *Clin Pediatr (Phila)*. 2003;42(8):703-10.
173. Scaglia F, Towbin JA, Craigen WJ, Belmont JW, Smith EO, Neish SR, ve ark. Clinical spectrum, morbidity, and mortality in 113 pediatric patients with mitochondrial disease. *Pediatrics*. 2004;114(4):925-31.
174. Debray FG, Lambert M, Chevalier I, Robitaille Y, Decarie JC, Shoubbridge EA, ve ark. Long-term outcome and clinical spectrum of 73 pediatric patients with mitochondrial diseases. *Pediatrics*. 2007;119(4):722-33.
175. Eom S, Lee HN, Lee S, Kang HC, Lee JS, Kim HD, ve ark. Cause of Death in Children With Mitochondrial Diseases. *Pediatr Neurol*. 2017;66:82-8.
176. Parikh S. The neurologic manifestations of mitochondrial disease. *Dev Disabil Res Rev*. 2010;16(2):120-8.
177. Bohm M, Pronicka E, Karczmarewicz E, Pronicki M, Piekutowska-Abramczuk D, Sykut-Cegielska J, ve ark. Retrospective, multicentric study of 180 children with cytochrome C oxidase deficiency. *Pediatr Res*. 2006;59(1):21-6.
178. Gronlund MA, Honarvar AK, Andersson S, Moslemi AR, Oldfors A, Holme E, ve ark. Ophthalmological findings in children and young adults with genetically verified mitochondrial disease. *Br J Ophthalmol*. 2010;94(1):121-7.
179. 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.
180. Holmgren D, Wahlander H, Eriksson BO, Oldfors A, Holme E, Tulinius M. Cardiomyopathy in children with mitochondrial disease; clinical course and cardiological findings. *Eur Heart J*. 2003;24(3):280-8.
181. Ronchi D, Di Fonzo A, Lin W, Bordonni A, Liu C, Fassone E, ve ark. Mutations in DNA2 link progressive myopathy to mitochondrial DNA instability. *Am J Hum Genet*. 2013;92(2):293-300.
182. Rahman OU, Khawar N, Khan MA, Ahmed J, Khattak K, Al-Aama JY, ve ark. Deletion mutation in BSCL2 gene underlies congenital generalized lipodystrophy in a Pakistani family. *Diagn Pathol*. 2013;8:78.

183. Cave D, Ross DB, Bahitham W, Chan A, Sergi C, Adatia I. Mitochondrial DNA depletion syndrome-an unusual reason for interstage attrition after the modified stage 1 Norwood operation. *Congenit Heart Dis.* 2013;8(1):E20-3.
184. Barisic N, Kleiner IM, Malcic I, Papa J, Boranic M. Spinal dysraphism associated with congenital heart disorder in a girl with MELAS syndrome and point mutation at mitochondrial DNA nucleotide 3271. *Croat Med J.* 2002;43(1):37-41.
185. Zhang LH, Fang LG, Cheng ZW, Fang Q. [Cardiac manifestations of patients with mitochondrial disease]. *Zhonghua Xin Xue Guan Bing Za Zhi.* 2009;37(10):892-5.
186. Moslemi AR, Darin N, Tulinius M, Wiklund LM, Holme E, Oldfors A. Progressive encephalopathy and complex I deficiency associated with mutations in MTND1. *Neuropediatrics.* 2008;39(1):24-8.
187. Loeffen J, Elpeleg O, Smeitink J, Smeets R, Stockler-Ipsiroglu S, Mandel H, ve ark. Mutations in the complex I NDUFS2 gene of patients with cardiomyopathy and encephalomyopathy. *Ann Neurol.* 2001;49(2):195-201.
188. Jain-Ghai S, Cameron JM, Al Maawali A, Blaser S, MacKay N, Robinson B, ve ark. Complex II deficiency--a case report and review of the literature. *Am J Med Genet A.* 2013;161A(2):285-94.
189. Hagen CM, Aidt FH, Havndrup O, Hedley PL, Jespersgaard C, Jensen M, ve ark. MT-CYB mutations in hypertrophic cardiomyopathy. *Mol Genet Genomic Med.* 2013;1(1):54-65.
190. Abdulhag UN, Soiferman D, Schueler-Furman O, Miller C, Shaag A, Elpeleg O, ve ark. Mitochondrial complex IV deficiency, caused by mutated COX6B1, is associated with encephalomyopathy, hydrocephalus and cardiomyopathy. *Eur J Hum Genet.* 2015;23(2):159-64.
191. Finsterer J, Frank M. Gastrointestinal manifestations of mitochondrial disorders: a systematic review. *Therap Adv Gastroenterol.* 2017;10(1):142-54.
192. Lee WS, Sokol RJ. Mitochondrial hepatopathies: advances in genetics and pathogenesis. *Hepatology.* 2007;45(6):1555-65.
193. Finsterer J, Scorza FA. Renal manifestations of primary mitochondrial disorders. *Biomed Rep.* 2017;6(5):487-94.
194. Emma F, Montini G, Salviati L, Dionisi-Vici C. Renal mitochondrial cytopathies. *Int J Nephrol.* 2011;2011:609213.
195. Belostotsky R, Ben-Shalom E, Rinat C, Becker-Cohen R, Feinstein S, Zeligson S, ve ark. Mutations in the mitochondrial seryl-tRNA synthetase cause hyperuricemia, pulmonary hypertension, renal failure in infancy and alkalosis, HUPRA syndrome. *Am J Hum Genet.* 2011;88(2):193-200.
196. Whittaker RG, Schaefer AM, McFarland R, Taylor RW, Walker M, Turnbull DM. Prevalence and progression of diabetes in mitochondrial disease. *Diabetologia.* 2007;50(10):2085-9.
197. Balestri P, Grosso S. Endocrine disorders in two sisters affected by MELAS syndrome. *J Child Neurol.* 2000;15(11):755-8.
198. Chow J, Rahman J, Achermann JC, Dattani MT, Rahman S. Mitochondrial disease and endocrine dysfunction. *Nat Rev Endocrinol.* 2017;13(2):92-104.
199. Koenig MK. Presentation and diagnosis of mitochondrial disorders in children. *Pediatr Neurol.* 2008;38(5):305-13.

200. Jackson MJ, Schaefer JA, Johnson MA, Morris AA, Turnbull DM, Bindoff LA. Presentation and clinical investigation of mitochondrial respiratory chain disease. A study of 51 patients. *Brain*. 1995;118 ( Pt 2):339-57.
201. Munnich A, Rotig A, Chretien D, Cormier V, Bourgeron T, Bonnefont JP, ve ark. Clinical presentation of mitochondrial disorders in childhood. *J Inherit Metab Dis*. 1996;19(4):521-7.
202. Kraut JA, Madias NE. Lactic acidosis. *N Engl J Med*. 2014;371(24):2309-19.
203. Parikh S, Goldstein A, Koenig MK, Scaglia F, Enns GM, Saneto R, ve ark. Diagnosis and management of mitochondrial disease: a consensus statement from the Mitochondrial Medicine Society. *Genet Med*. 2015;17(9):689-701.
204. Barshop BA. Metabolomic approaches to mitochondrial disease: correlation of urine organic acids. *Mitochondrion*. 2004;4(5-6):521-7.
205. Chevallier JA, Von Allmen GK, Koenig MK. Seizure semiology and EEG findings in mitochondrial diseases. *Epilepsia*. 2014;55(5):707-12.
206. Lerman-Sagie T, Leshinsky-Silver E, Watemberg N, Luckman Y, Lev D. White matter involvement in mitochondrial diseases. *Mol Genet Metab*. 2005;84(2):127-36.
207. 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.
208. Murphy JL, Ratnaike TE, Shang E, Falkous G, Blakely EL, Alston CL, ve ark. Cytochrome c oxidase-intermediate fibres: importance in understanding the pathogenesis and treatment of mitochondrial myopathy. *Neuromuscul Disord*. 2012;22(8):690-8.
209. Sonam K, Bindu PS, Srinivas Bharath MM, Govindaraj P, Gayathri N, Arvinda HR, ve ark. Mitochondrial oxidative phosphorylation disorders in children: Phenotypic, genotypic and biochemical correlations in 85 patients from South India. *Mitochondrion*. 2017;32:42-9.
210. 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.
211. Garone C, Taylor RW, Nascimento A, Poulton J, Fratter C, Dominguez-Gonzalez C, ve ark. Retrospective natural history of thymidine kinase 2 deficiency. *J Med Genet*. 2018;55(8):515-21.
212. Thorburn DR, Chow CW, Kirby DM. Respiratory chain enzyme analysis in muscle and liver. *Mitochondrion*. 2004;4(5-6):363-75.
213. Panetta J, Gibson K, Kirby DM, Thorburn DR, Boneh A. The importance of liver biopsy in the investigation of possible mitochondrial respiratory chain disease. *Neuropediatrics*. 2005;36(4):256-9.
214. Loeffen JL, Smeitink JA, Trijbels JM, Janssen AJ, Triepels RH, Sengers RC, ve ark. Isolated complex I deficiency in children: clinical, biochemical and genetic aspects. *Hum Mutat*. 2000;15(2):123-34.
215. Ogawa E, Shimura M, Fushimi T, Tajika M, Ichimoto K, Matsunaga A, ve ark. Clinical validity of biochemical and molecular analysis in diagnosing Leigh syndrome: a study of 106 Japanese patients. *J Inherit Metab Dis*. 2017;40(5):685-93.
216. Diaz F. Cytochrome c oxidase deficiency: patients and animal models. *Biochim Biophys Acta*. 2010;1802(1):100-10.



217. Mayr JA, Haack TB, Freisinger P, Karall D, Makowski C, Koch J, ve ark. Spectrum of combined respiratory chain defects. *J Inherit Metab Dis.* 2015;38(4):629-40.
218. Pyle A, Nightingale HJ, Griffin H, Abicht A, Kirschner J, Baric I, ve ark. Respiratory chain deficiency in nonmitochondrial disease. *Neurol Genet.* 2015;1(1):e6.
219. Hui J, Kirby DM, Thorburn DR, Boneh A. Decreased activities of mitochondrial respiratory chain complexes in non-mitochondrial respiratory chain diseases. *Dev Med Child Neurol.* 2006;48(2):132-6.
220. Morava E, van den Heuvel L, Hol F, de Vries MC, Hogeveen M, Rodenburg RJ, ve ark. Mitochondrial disease criteria: diagnostic applications in children. *Neurology.* 2006;67(10):1823-6.
221. McCormick E, Place E, Falk MJ. Molecular genetic testing for mitochondrial disease: from one generation to the next. *Neurotherapeutics.* 2013;10(2):251-61.
222. Wong L-JC. Next generation molecular diagnosis of mitochondrial disorders. *Mitochondrion.* 2013;13(4):379-87.
223. Falk MJ, Pierce EA, Consugar M, Xie MH, Guadalupe M, Hardy O, ve ark. Mitochondrial disease genetic diagnostics: optimized whole-exome analysis for all MitoCarta nuclear genes and the mitochondrial genome. *Discov Med.* 2012;14(79):389-99.
224. Theunissen TEJ, Nguyen M, Kamps R, Hendrickx AT, Sallevelt S, Gottschalk RWH, ve ark. Whole Exome Sequencing Is the Preferred Strategy to Identify the Genetic Defect in Patients With a Probable or Possible Mitochondrial Cause. *Front Genet.* 2018;9:400.

## 8. EKLER

### EK-1 Mitokondriyal Hastalık Kriterleri - Genel Kriterler

#### A. Kas bulguları

##### Kas bulguları ve semptomları (en fazla 2 puan):

- Progresif eksternal oftalmopleji (2 puan)
- Ptozis, miyopatik yüz görünümü (1 puan)
- Egzersiz intoleransı (oyun ya da günlük yaşam aktivitelerinden sonra gelişen anormal/erken yorgunluk/güçsüzlük/kas ağrısı ya da kramp ile karakterize bir semptom) (1 puan)
- Azalmış kas gücü (kas zayıflığını ortaya koyan testler ya da Gower's bulgusu ya da baş kontrolünün olmaması ya da azalması ya da motor gelişim basamaklarında gecikme -zihinsel gelişimin normal olması ya da motor gelişime göre daha iyi olması) ya da hipotoni (yenidoğan döneminde ve gelişimsel olarak 6. ayda, traksiyon testinde başın geride kalması, baş kontrolünün yetersiz olması, "kayma" bulgusunun olması, uyanırken kurbağa benzeri postür olması ve ventral süspansiyonda baş ve kalçanın gevşek kalması) (1 puan)
- Akut rabdomiyoliz atakları (akut ağır kas ağrısı atakları, kas güçsüzlüğü, CK'nın aşırı artışı ya da idrarda myoglobulin saptanması) (1 puan)
- Anormal EMG (hafif miyopatik değişiklikler: motor ünite potansiyellerinin amplitüd ve süresinde, polifazik potansiyellerin sayısında artışla birlikte erken düzelme ya da azalma olması)
- MSS ile ilgili (1 puan) ya da multisistemik (en fazla 2 puan) herhangi bir tutulum olması– maksimum 2 puan

#### B. MSS

##### MSS bulguları ve semptomları (maksimum 2 puan, herbiri 1 puan):

- Psikomotor gelişimin olmaması ya da gecikmesi (2 ya da daha fazla gelişimsel alanda önemli gecikme: kaba/ince motor beceriler, bilişsel, konuşma/dil, kişisel/sosyal ya da günlük yaşam aktivitelerinde, gelişimsel tarama testleri ile gösterilmiş) ya da zihinsel yetersizlik (IQ<70)
- Kazanılmış becerilerde kayıp
- İnme benzeri ataklar (geçici hemianopi, hemipleji vb)
- Migren
- Nöbet ya da anormal EEG (zemin aktivitede yavaşlama, yaygın epileptiform aktivite ya da fokal yavaş dalga ya da nöbet aktivitesi)
- Myoklonus ya da myoklonik aktivite
- Kortikal körlük (göz muayenesi ve pupil ışık refleksi normal olan bir hastada görme kaybı ve optokinetik nistagmus olması)
- Piramidal yol tutulumuna ait bulgu ve semptomlar (artmış kan tonusu, opistotonus, artmış tendon refleksleri, ekstansör plantar yanıt vb.)

- Ekstrapiramidal yol tutulum işaret ve semptomları (atetoz, distoni, istemsiz hareketler)
- Beyin sapı tutulumuna dair bulgu ve semptomlar (santral apne gibi otonomik bozukluk, santral hipoventilasyon, sinüs bradikardisi ya da taşikardisi; yutma güçlükleri, nistagmus, strabismus; BEAR'da III-V arasında anormal dalga varlığı ya da dalga olmaması)
- Serebellar tutulumuna ait bulgu ve semptomlar (ataksi, intansiyonel tremor, disdiadokinezi vb.)
- Kas ile ilgili (1 puan) ya da multisistemik (en fazla 2 puan) herhangi bir tutulum olması– maksimum 2 puan

### **C. Multisistemik tutulum**

**Multisistemik tutulum (maksimum 3 puan, her sistem için 1 puan)**

#### **Hematoloji**

- Sideroblastik anemi
- Pansitopeni

#### **Gastrointestinal Sistem**

- Akut ya da kronik hepatik disfonksiyon (karaciğer enzimlerinde artış, karaciğer protein sentezinde azalma, bilirübin salgısında azalma, hipoglisemi)
- Büyüme geriliği (kilo alımının yetersiz olması, vücut ağırlığının 3. persantilin / -2 SS altında olması ya da persantil kaybının olması)
- Ekzokrin pankreas disfonksiyonu (%7'den fazla yağ salgısı olması)
- İntestinal psödoobstrüksiyon (organik obstrüksiyon olmadan kabızlık, kolik ağrı ve kusma olması)
- Açıklanamayan kronik ishal (>3 hafta)

#### **Endokrin**

- Kısa boy (-2 SS ya da <3. Pers.)
- Gecikmiş puberte
- Diabetes mellitus tip I ya da II ya da bozulmuş glukoz toleransı)
- Hipoparatiroidizm
- Santral diyabetes insipitus

#### **Kalp**

- Kalp hastalığı ya da hipertansiyon olmadan kardiyomiyopati (hipertrofik ya da dilate)
- İletimsel blok (I-III arası AV blok, dal blokları, preeksitasyon sendromları)

#### **Böbrek**

- Proksimal tübüler disfonksiyon (komplet ya da parsiyel Fanconi sendromu)
- Fokal segmental glomerüloskleroz (biyopsi)

#### **Gözler**

- Katarakt

- Retinopati (ERG’de görülen retinal fonksiyonda kayıp ya da bozulma)
- Optik atrofi

### **Kulaklar**

- Sensörinöral işitme kaybı

### **Sinir Sistemi**

- Periferel nöropati

### **Genel**

- Minör hastalık bulgularının veya belirtilerin alevlenmesi
- Aile hikayesinde açıklanamayan ani yenidoğan ya da bebek ölümü olması

Başka herhangi tutulum-kas (maksimum 1 puan) ya da SSS (maksimum 1 puan)-maksimum 1 puan

### **Metabolik ve diğer incelemeler (maksimum 4 puan)**

- En az 3 durumda (spontan, postprandiyal ya da GTT sonrası) laktat artışı (kan)  $> 2000 \mu\text{mol/l}$  (2 puan)
- L/P oranında artış  $> 18$  (sadece laktat yüksekliği varsa) (1 puan)
- Alanin artışı (kanda)  $> 450 \mu\text{mol/l}$  (2 puan)
- BOS laktatında artış ( $> 1800 \mu\text{mol/l}$ , sadece kan laktatı normale skorla) (2 puan)
- BOS proteininde artış (1 puan)
- BOS alanininde artış (2 puan)
- İdrar: laktat ya da TCA siklus ürünlerinde artış (2 puan)
- Etilmalonik asit ya da 3-metilglutakonik asit ya da dikarbonik asitlerin atılımında artış (adipik, suberik ve sebasik asit) (1 puan)

### **Diğer**

- Kasta anormal  $^{31}\text{P}$  -MRS varlığı-inorganik fosfatta (Pi) anormal artış ve normal kontrolle göre Fosfokreatin/Pi oranında azalma (2 puan)
- MR: Leigh sendromu (T2’de putamen, globus pallidus, kaudat çekirdekte hiperintens lezyonlar) (2 puan)
- MR: İnme benzeri tablo (bir vasküler alanda sınırlanmayan) ya da lökodistrofik ya da serebral ya da serebellar atrofi (maksimum 1 puan)
- $^1\text{H}$  -MRS beyin: Açıkça görülebilen laktat piki (1 puan)

### **Morfoloji (Maksimum 4 puan)**

- *Ragged red fibres* ya da *ragged blue fibres* (herhangi bir pediatrik hastaysa 2 puan, %2’den fazlaysa 4 puan)
- COX-negatif lifler (herhangi bir pediatrik hastaysa 2 puan, %2’den fazlaysa 4 puan)
- COX boyamasında yaygın solukluk (CAVE teknik problemleri) (4 puan)
- Anormal (azalmış ya da parçalı) SDH boyama (1 puan)
- SDH-reaktif kan damarlarının fazla olması (2 puan)
- EM: anormal mitokondri (maksimum 2 puan)

Mitokondride subsarkolemmal ya da intermiyofibriler agregatlar (1 puan)  
Genişlemiş ya da iri mitokondri (2 puan)

- Krista yapısında düzensiz artış, bal peteği paterni, konsantrik daireler ya da kristada azalma (ikinci durumda mitokondride vakuolizasyon ya da boş görünüm olması) (2 puan)
- Anormal mitokondriyal inklüzyonlar (kristal, globüler) (2 puan)
- Lipit damlacıkları (1 puan)

**Değerlendirme:**

- 1 puan: Solunum zincir bozukluğu “olası değil”
- 2-4 puan: Solunum zincir bozukluğu “mümkün”
- 5-7 puan: Solunum zincir bozukluğu “muhtemel”
- 8-12 puan: Solunum zincir bozukluğu “kesin”

## EK-2. Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurul Onayı



**T.C.**  
**HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ**  
Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu

Sayı : 16969357 - 1600

Konu :

## ARAŞTIRMA PROJESİ DEĞERLENDİRME RAPORU

**Toplantı Tarihi** : 11 EYLÜL 2018 SALI  
**Toplantı No** : 2018/21  
**Proje No** : GO 18/819 (Değerlendirme Tarihi: 11.09.2018)  
**Karar No** : GO 18/819-22

Üniversitemiz Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Dr. Öğr. Üyesi Beril TALİM'in sorumlu araştırmacı olduğu, Arş. Gör. Dr. Batuhan YEKE'nin uzmanlık tezi olan, GO 18/819 kayıt numaralı "*Mitokondriyal Miyopati Tanısında Kas Biyopsisinin Rolü*" başlıklı proje önerisi araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş olup, 01 Ocak 2007 - 31 Aralık 2017 tarihleri arasındaki arşiv kayıtlarının incelenmesi 15 Eylül 2018-15 Eylül 2019 tarihleri arasında geçerli olmak üzere etik açıdan uygun bulunmuştur.

- |                                       |          |                                   |       |
|---------------------------------------|----------|-----------------------------------|-------|
| 1. Prof. Dr. Nурten AKARSU            | (Başkan) | 10 Doç. Dr. Gürzde GİRGİN         | (Üye) |
| 2. Prof. Dr. Seval F. MÜFTÜOĞLU       | (Üye)    | 11 Doç. Dr. Fatma Visal OKUR      | (Üye) |
| 3. Prof. Dr. M. Yıldırım KARAR        | (Üye)    | 12. Doç. Dr. Can Ebru KURT        | (Üye) |
| 4. Prof. Dr. Neccdet SAĞLAM           | (Üye)    | 13. Doç. Dr. H. Hüseyin TURNAGÖL  | (Üye) |
| 5. Prof. Dr. Hatice Doğan BİLİRİNGİLİ | (Üye)    | 14. Dr. Öğr. Üyesi Özay GÖKÖZ     | (Üye) |
| 6. Prof. Dr. R. Köksal ÖZGÜL          | (Üye)    | 15. Dr. Öğr. Üyesi Muge DEMİR     | (Üye) |
| 7. Prof. Dr. Ayşe Lale DOĞAN          | (Üye)    | 16. Öğr. Gör. Dr. Meltem ŞENGELEN | (Üye) |
| 8. Prof. Dr. Mintaze Kerem GÜNEL      | (Üye)    | 17. Av. Meltem ONURLU             | (Üye) |
| 9. Prof. Dr. Oya Nuran EMİROĞLU       | (Üye)    |                                   |       |