

Mitochondriální DNA, oxidační stres a kostní metabolismus

P. MOLNÁROVÁ^{1,2}, V. PALIČKA^{1,2}

¹Lékařská fakulta v Hradci Králové, Karlova Univerzita v Praze;

²Ústav klinické biochemie a diagnostiky, Fakultní nemocnice v Hradci Králové

SOUHRN

Molnárová P., Palička V.: **Mitochondriální DNA, oxidační stres a kostní metabolismus**

Mitochondriální DNA kóduje geny oxidační fosforylace, vybrané geny pro komplexy I–IV. Mitochondrie jsou místem realizace kyslíkového řetězce, a proto jsou považovány za hlavní producenty radikálů oxidačního stresu (ROS), přičemž nejvíce radikálů se tvoří za účasti komplexů I a III (NADH ubichinonreduktasa a ubichinol-cytochrom c-reduktasa). Zvýšený oxidační stres má negativní vliv na kostní metabolismus, a to jak na tkáň tvořenou osteoblasty, tak i na osteoklasty degradující kostní tkáň. To může vést k rozvoji osteoporózy i dalších onemocnění kostního aparátu. Mutace vybraných mitochondriálních genů či snížené počty kopií mitochondriální DNA jsou asociovány s rozvojem osteoporózy a jiných kostních onemocnění. Epigenetika mitochondriální DNA (mitoepigenetika) je téma rozvíjející se od roku 2011, kdy byly prvně prokázány metylace mitochondriální DNA i přítomnost DNA metyltransferáz v mitochondriích. V současné době jsou sledovány vlivy těchto změn a spojitosti s dalšími poruchami.

Klíčová slova: mitochondriální DNA, metylace DNA, oxidační stres, osteoporóza

SUMMARY

Molnárová P., Palička V.: **Mitochondrial DNA, oxidative stress and bone metabolism**

Mitochondrial DNA encodes the genes of oxidative phosphorylation for complexes I–IV. Mitochondriae are the place of implementation of the electron transport chain and therefore are the main producers of reactive oxygen species (ROS), with most of them being formed with participation of complexes I and III (NADH-coenzyme Q oxidoreductase and Q-cytochrome c oxidoreductase). Increased oxidative stress has a negative effect on bone metabolism, bone-forming osteoblasts as well as osteoclasts degrading the bone tissue, and may lead to the development of osteoporosis and other bone diseases. Mitochondrial gene mutations and lowered mitochondrial DNA copy numbers are associated with the development of osteoporosis and other bone diseases. Epigenetics of mitochondrial DNA has been a subject of research since 2011 when methylation of mitochondrial DNA as well as the presence of DNA methyltransferases in mitochondria were first discovered. Currently, the effects of these changes and associations with other diseases are investigated.

Keywords: mitochondrial DNA, DNA methylation, oxidative stress, osteoporosis

Osteologický bulletin 2015;20(4):139–143

Adresa: Mgr. Petra Molnárová, Ústav klinické biochemie a diagnostiky, Fakultní nemocnice v Hradci Králové, Sokolská 581, 500 05 Hradec Králové, e-mail: molnarop@lfhk.cuni.cz

Došlo do redakce: 5. 1. 2016

Přijato k tisku: 4. 3. 2016

Úvod

Mitochondrie jsou místem procesu dýchacího řetězce a tvorby ATP. Během oxidační fosforylace dochází k přenosu elektronů mezi molekulami za účasti enzymatických komplexů I–IV. Tyto komplexy jsou kódovány jednak jadernou DNA, ale i DNA mitochondriální. Celkem se jedná o 62 enzymů, z čehož 13 je kódováno právě mitochondriální DNA (mtDNA). Během tohoto procesu mohou některé elektrony unikat volně do prostředí a vstupovat do chemických reakcí, které mají za následek vznik kyslíkových radikálů. Ty poté poškozují organismus a podílejí se na jeho stárnutí. V souvislosti s dalšími změnami spojenými se zvyšujícím se věkem a se změnami v genech mtDNA množství

volných radikálů roste, a naopak klesá schopnost obranných antioxidačních systémů, a organismus je vystaven oxidačnímu stresu [1]. Ten se podepisuje mimo jiné i na kostním metabolismu, snižuje se životnost osteoblastů tvořících kostní tkáň a zároveň dochází ke zvýšené diferenciaci osteoklastů resorbujících kost, což je základní podklad pro rozvoj osteoporózy [2].

Mitochondriální DNA

Kromě jaderné DNA je genetická informace v buňkách obsažena ještě i v mitochondriích. Ta představuje méně než 1 % celkové DNA. Mitochondriální DNA je kruhová dvou-

vláknová molekula, tvořená lehkým L a těžkým H řetězcem, neobsahuje žádné introny a dědí se v maternální linii. Mitochondrie jsou v každé buňce obsaženy ve stovkách až tisících kopiích v závislosti na typu buňky a jejích energetických požadavcích [3].

Mitochondriální genom obsahuje geny kódující 37 různých RNA, včetně 22 transferových RNA i 2 ribosomálních RNA. Zbýlých 13 genů je přepisováno do proteinů účastnících se oxidační fosforylace, hlavního procesu tvorby ATP probíhajícího právě v mitochondriích. Hlavní nekódující oblastí je tzv. D-loop (smyčka) – kontrolní úsek, ve kterém se nachází počátek pro replikaci těžkého řetězce, a promotor pro zahájení transkripce obou mitochondriálních řetězců. Každá z mnoha kopií mtDNA podstupuje replikaci zvlášť, a proto je zcela běžné, že jedna buňka obsahuje zdravou i mutovanou DNA, a to nejen mezi jednotlivými mitochondriemi v buňce, ale i mezi jednotlivými kopiemi mtDNA v jedné mitochondrii. Tento jev bývá označován jako heteroplazmie. Mutace se ve fenotypu však projevují, až pokud je mutováno více kopií, hranice se pohybuje v rozmezí od 50 do 90 % v závislosti na typu mutace [4]. Mutace mtDNA vedou k poruchám oxidační fosforylace, ty mají za následek zvýšenou produkci kyslíkových radikálů, které poškozuji proteiny, lipidy a způsobují i další poruchy DNA, jaderné i mitochondriální. Poškození DNA může způsobovat tvorbu dalších radikálů, a tím celý cyklus pokračuje. Se zvyšujícím se věkem byla prokázána snížená funkce oxidační fosforylace v různých tkáních [5,6]. V 50. letech byly vy-

tvořeny jedny z prvních teorií o mitochondriální dysfunkci, stárnutí a s věkem asociovanými nemocemi. Od prvních předpokladů, že stárnutí je způsobováno poškozením buněčných složek radikály oxidačního stresu (ROS), se poznatky vyvinuly až v dnešní mitochondriální teorii stárnutí a teorii volných radikálů. Podstatou těchto teorií je negativní vliv mitochondriálních radikálů na vznik mutací mtDNA. Četnost těchto mutací se s věkem zvyšuje, ovlivňují funkci dýchacího řetězce a vedou ke stárnutí a s ním spojeným degenerativním onemocněním [4,7]. Mitochondrie jsou označovány za největšího producenta radikálů oxidačního stresu [8].

Epigenetika mitochondriální DNA

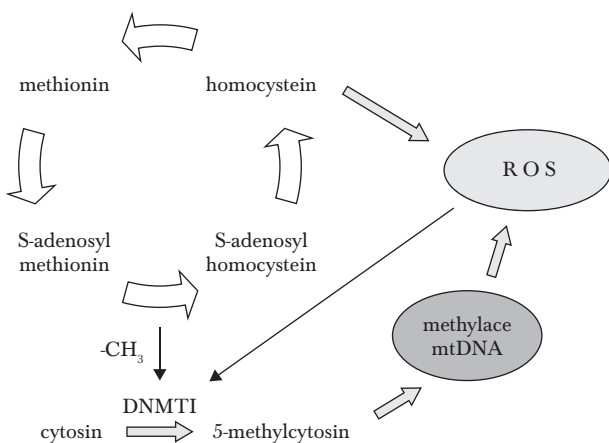
I přes fakt, že mtDNA neobsahuje histony a jednou z epigenetických změn jsou právě acetylace histonů, hraje epigenetika významnou roli v metabolismu mitochondrií. Nejčastější epigenetickou změnou DNA je metylace cytosinu, kdy dochází k navázání metylové skupiny (uvolněné z *S-adenosyl-L-methioninu*) na pozici 5 cytosinu za účasti DNAmetyltransferázy (DNMT) (obrázek 1). Vlivem translokačních enzymů metylcytosin dioxygenas (v angličtině TET enzyme family = *ten-eleven translocation enzyme family*) je 5-metylcytosin (5mC) oxidován na 5-hydroxymetylcytosin (5hmC) [9]. Zatímco metylace jaderné DNA jsou dnes již velmi dobře známé, metylace lidské mtDNA jsou na počátku zkoumání, protože se dříve předpokládalo, že metyltransferázy nemohou proniknout přes mitochondriální membránu, a tudíž nemůže být mtDNA metylována. Poprvé byly DNAmetyltransferázy, metylovaná mtDNA a TET enzymy v mitochondriích prokázány až v roce 2011 [10,11] a předpokládá se, že metylace mtDNA je mnohem častější jev, než se do té doby očekávalo. Tyto domněnky potvrdili i Bellizzi, D'Aquila (2013), kteří prokazovali metylace v kontrolním úseku D-loop. Kromě metylovaného cytosinu v CpG dinukleotidech se zaměřili především na metylace cytosinu mimo tyto úseky. Prokázali i rozdíly v metylacích kopií mtDNA v jednotlivých buňkách. Rozdíly v závislostech na věku pozorovány nebyly [12].

MtDNA je tvořena dvěma řetězci, těžký H řetězec je bohatý na guanin, lehký řetězec L naopak obsahuje větší množství cytosinů. Možná i proto je většina metylací pozorována na L řetězci, převážně v úseku D-loop, kde se nacházejí promotorové sekvence pro oba řetězce, LSP a HSP 1 a 2 [13]. MtDNA obsahuje 435 CpG dinukleotidů a postrádá jakékoliv CpG ostrůvky (akumulované CpG dinukleotidy) [14]. Je méně metylovaná než jaderná DNA. Jelikož mtDNA netvoří histony, předpokládá se, že metylace mtDNA hraje hlavní roli ve stabilitě i funkci této DNA [15].

Stejně, jako je jaderná DNA s histony uspořádána do nukleosomů, tak i mtDNA interaguje s proteiny a tvoří komplexy zvané nukleoidy [16]. Tyto komplexy poté znemožňují přístup metyltransferáz k DNA. Mitochondriální DNA metyltransferáza 1 (MtDNMT1) je jediný typ metyltransferázy, který je fyziologicky přítomen v mitochondriích. Za patologických podmínek je možné najít i DNMT3A nebo 3B. DNAmetyltransferázy 3A a 3B se podílejí na regulaci hladin cytosinu a jeho dostupnosti pro metylaci díky přeměně

Obr. 1

Cyklus methionin-homocystein je donorem metylové skupiny ($-CH_3$) pro metylaci cytosinu. Za přítomnosti DNAmetyltransferázy 1 (DNMT1) se metylová skupina naváže na pozici 5 cytosinu. Methylace mitochondriální DNA (mtDNA) vyvolá změny v expresi genů a dochází k poruše funkce oxidační fosforylace. Výsledkem je vyšší produkce radikálů oxidačního stresu (ROS). V cyklu produkovaný homocystein má sám vliv na vyšší produkci ROS.



5hmC na cytosin a zároveň katalyzují jeho přeměnu na 5mC [14].

5hmC se nevyskytuje pouze v CpG dinukleotidech, ale i ve všech dalších dinukleotidových kombinacích s cytosinem CX (X=A/C/T). Tyto CX kombinace se v jaderné DNA vyskytují pouze zřídka, jen v 1 % ze všech cytosinových dinukleotidů, ostatní jsou dinukleotidy CpG. V mitochondriální DNA je výskyt 5hmC v CX i CpG srovnatelný. 5hmC vzniká enzymatickou hydroxymetylací za účasti TET enzymů. Změny v hladinách 5hmC jsou úzce spojovány s expresí genů pro TET [17]. Experimentálně byl 5hmC vytvořen i působením volných radikálů na 5mC [14]. Tudíž lze předpokládat, že za přeměnu methylcytosinu na hydroxy metylcytosin mohou nejenom TET enzymy, ale i oxidační stres a volné radikály přítomné v mitochondriích [17]. Výše zmínované metyltransferázy 3A a 3B mohou přeměňovat 5hmC zpět na čistý cytosin. MtDNMT1 tuto funkci postrádá.

Stárnutí byl první proces spojený s ovlivněním mitoepigenetiky. Prokázalo se, že hladiny 5mC a 5hmC se s věkem mění. Stejně tak se mění i exprese mtDNMT1, mRNA a TET mRNA. Exprese mtDNMT1 je regulována jadernými faktory reagujícími na míru oxidačního stresu. Oxidační stres stabilizuje koaktivátor PGC 1 α (peroxisome proliferator activated receptor-gamma coactivator 1 alpha), který aktivuje a posléze reaguje s jaderným faktorem NRF1 (nuclear respiratory factor 1), což vede ke znásobení hladin jaderně kódovaných mitochondriálních proteinů, např. právě mtDNMT1. Další z možných regulátorů mtDNMT1 je protein p53, jehož funkce je vlivem oxidačního stresu oslabena. Studie prokázaly zvýšené množství mtDNMT1 v buňkách postrádajících p53 [11].

Mezi epigenetické změny patří i výskyt mikroRNA (miRNA). miRNA jsou krátké jednovláknové úseky RNA, které jsou komplementární k buněčným mRNA a regulují expresi genů. Existují dva typy miRNA regulující expresi mitochondriálních proteinů (mitomiRs). Jednak to jsou miRNA transkribované přímo v mitochondriích z mitochondriálního genomu, které mohou působit rovnou v mitochondriích, nebo být přemístěny do cytosolu, a jednak jaderné miRNA regulující mRNA pro mitochondriální proteiny transportované z jádra do mitochondrií [18,19]. O těchto mitochondriálních miRNA je však zatím známo velmi málo. Víme však, že se v mitochondriích vyskytují miRNA zacílené na mRNA jednotlivých komplexů oxidační fosforylace. Změnou exprese genů ovlivňují celý proces oxidační fosforylace, a tím i míru vznikajícího oxidačního stresu.

Oxidační stres a kostní metabolismus

Oxidační stres je definován jako nepoměr mezi volnými kyslíkovými radikály a antioxidační kapacitou organismu.

Proces dýchacího řetězce je lokalizován ve vnitřní mitochondriální membráně a je uskutečňován prostřednictvím komplexů I–IV přenášejících elektrony a komplexem V odpovědným za syntézu ATP. Uvolněné elektrony redukují kyslík na jeho aktivnější formu – superoxidový anion, který je dále redukován na hydroxylový radikál a peroxid vodíku. Peroxid je mnohem stabilnější než jiné formy kyslíku a může proniknout mitochondriální membránou do cytosolu a následně i do jádra, kde je Fentonovou reakcí opět přeměňován

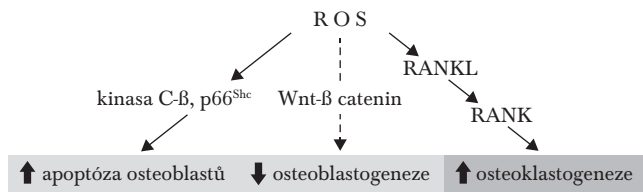
zpět na hydroxylový radikál, a způsobuje oxidační poškození. Tento proces v malé míře probíhá současně s dýchacím řetězcem. Pokud je ten však poškozen, produkce radikálů se zvyšuje. Fentonova reakce probíhá za účasti železnatých iontů (Fe²⁺) bohatě přítomných v mitochondriích, jelikož mnoho mitochondriálních enzymů obsahuje ve svém aktivním centru hemovou skupinu [20]. Předpokládá se, že komplexy I (NADH dehydrogenázy) a III (cytochrom c oxidoreduktázy, mitochondrií kódovaný cytochrom b) dýchacího řetězce mají hlavní podíl na produkci kyslíkových radikálů [21]. Vzhledem k produkci enzymů důležitých pro kostní remodelaci hrají mitochondrie důležitou roli v novotvorbě kostní tkáně [15,22].

Proti nadměrnému hromadění radikálů působí mimo jiné i antioxidanty superoxid dismutázy (SOD), enzymy přeměňující kyslíkový radikál na kyslík nebo peroxid. Jsou známy tři isoformy dismutáz SOD1-3. SOD1 je lokalizována v cytoplasmě, ale působí na vnější mitochondriální membráně, kde vzniká superoxid, nebo v mezimembránovém prostoru. Deficit SOD1 u myši byl spojen s nižšími hodnotami kostní minerální hustoty (BMD – *bone mineral density*) i změnami v pevnosti femuru bez ohledu na pohlaví [23]. SOD2 je mitochondriální enzym, který zabraňuje apoptóze vyvolané oxidačním stresem. SOD3 je enzym nacházející se v mezibuněčném prostoru. Jeho tetramer je v extracelulární matrix ukotven díky vazbě s heparan sulfátem či kolagenem.

Oxidační stres ovlivňuje vývoj a diferenciaci kost resorbujících osteoklastů, kost tvořících osteoblastů i osteocytů aktivací či inhibicí různých signálních drah. V kostech byl prokázán zvýšený oxidační stres v závislosti se zvyšujícím se věkem a na snížených hladinách pohlavních hormonů. Kostnímu úbytku způsobenému gonadektomií u potkanů bylo zabráněno podáváním antioxidantů [24]. Naopak podání prooxidantů vyvolalo pokles počtu osteoblastů a snížení kostní formace a u modelů se projevila osteoporóza. Velmi častý je rozvoj osteoporózy u žen po menopauze, kdy je zvýšená kostní resorpce spojována s akcelerovanou ztrátou hormonů. Ženy po menopauze trpí nedostatkem estrogenu, přirozeného antioxidantu. Tento hormon působí proti ROS, které stimulují tvorbu osteoklastů, a tím i proces kostní resorpce. Pohlavní hormony potlačují osteoklastogenezi a stimulují apoptózu osteoklastů mimo jiné i aktivací glutationu a thioredoxin reduktázy. Thioredoxin, hlavní intracelulární antioxidant, brání zvyšování oxidačního stresu a zmírňuje potlačování kostní formace. Vlivem oxidačního stresu se snižují hladiny thiolových antioxidantů v kostní dřeni, které mohou být vyrovnány exogenním podáním estrogenu [23].

Vyšší hladiny homocysteinu jsou spojovány se zvýšeným oxidačním stresem a vyšším rizikem rozvoje osteoporózy (obrázek 1) [25]. U vyšších hladin homocysteinu během homocystinurie byl prokázán pokles kostní hustoty [15]. Homocystinurie zvyšuje riziko rozvoje osteoporózy. Homocystein podporuje aktivitu osteoklastů a naopak potlačuje osteoblasty. Radikály oxidačního stresu také snižují životnost, schopnost diferenciaci i funkci **osteoblastů**. Peroxid vodíku je schopný inhibovat diferenciaci preosteoblastických buněk. Zralé osteoblasty zpětně produkují antioxidant, jako glutathion peroxidázu nebo růstový faktor β . Při poruše zrání osteoblastů nemohou být tyto antioxidanty uvolňovány a snižuje se celková antioxidační ochrana.

Obr. 2
Negativní vliv radikálů oxidačního stresu (ROS)
na signální dráhy vývoje osteoblastů a osteoklastů



Zkratky: Wnt = Wingless/Int 1; RANK = receptor activator of nuclear factor kappa-B; RANKL = RANK ligand

Zároveň nekontrolovaná produkce ROS v důsledku s věkem rostoucím poškozením mitochondrií vede ke snížení funkce osteoblastů [25]. ROS poškozují proteiny, lipidy i DNA. Všechna tato poškození mohou vyústit až v buněčnou smrt. Apoptóza je vyvolána především fosforylací proteinů p53 a p66^{Shc}. Tomu lze zabránit podáním antioxidantů. P66^{Shc} je lokalizován převážně v cytoplazmě, pouze malé množství se nachází i v mitochondriích. Volné radikály aktivují proteinovou kinázu C-β, a tím fosforylaci proteinu p66^{Shc}. Fosforylovaný protein se pak lépe transportuje do mitochondrií, kde působí jako redoxní enzym katalyzující redukci kyslíku na peroxid vodíku přenosem elektronu z cytochromu c, zvyšuje se tak produkce peroxidu vodíku a dochází k buněčné smrti (obrázek 2). Negativní vliv peroxidu lze potlačit podáním estrogenu, a tím podpořit zrání osteoblastů a tvorbu kostí [22]. Zvýšená apoptóza osteoblastů v kostech stárnoucích myší byla odstraněna podáním antioxidantů [26]. Nedostatek proteinů p53 a p66^{Shc} zvyšuje odolnost buňky vůči oxidačnímu poškození a apoptóze. Ztráta kostní hmoty je spojována se zvýšeným oxidačním stresem v kostech a oslabenou Wnt signalizací (Wingless/Int-1), hlavním regulátorem tvorby kostí [24,27,28] (obrázek 2). Zvýšená apoptóza osteocytů je spojována se sníženou hladinou RANKL (Receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand) a sklerostinu.

Osteoklasty obsahují velké množství mitochondrií. Mitochondrie a kyslíkové radikály, především peroxid vodíku, hrají hlavní roli ve vývoji a funkci osteoklastů. ROS zvyšuje kostní resorpci aktivací NF-κB a stimulací RANK-RANKL dráhy mezi osteoblasty a prekursorů osteoklastů (obrázek 2). Peroxid vodíku indukuje expresi RANKL a M-CSF (stimulační faktor makrofágů). Ten indukuje expresi RANK [29]. RANKL svou vazbou na RANK iniciuje diferenciaci a aktivaci osteoklastů. Už v roce 1990 Mundy a jeho skupina prokázali vyšší počty a aktivitu osteoklastů po přidávku xanthin oxidázy, enzymu produkujícího superoxid. Tento efekt byl zpětně zmírněn přidáním SOD [30]. Na produkci superoxidu v kostech mají vliv i isoformy NADPH oxidáz (Nox). Mezi nejvíce zmiňované patří Nox4 přítomná v osteoklastech. U pacientů s neléčenou osteoporózou byly imunocytochemicky prokázány vyšší hladiny Nox4 i její

mRNA. Po podání Nox inhibitorů testovaným myším se úbytek kostní hmoty v porovnání s kontrolními vzorky zmírnil [31].

Existuje hypotéza, že oxidační stres je nezávislý faktor vzniku či rozvoje osteoporózy [32]. Nízká hodnota minerální hustoty kostí je spojována jednak s faktory vnitřního prostředí, jako je oxidační stres a zánět, jednak i s faktory genetickými. Míra souhry všech faktorů pak vede k poškození kostí a k rozvoji méně či více závažné formy osteoporózy.

Závěr

Proces stárnutí je spojován s poruchami funkce mitochondrií, které hrají důležitou roli v energetickém metabolismu, transportu elektronů a tvorbě reaktivních forem kyslíku. Se zvyšujícím se věkem koreluje zvýšený oxidační stres a snížená schopnost oxidační fosforylace. Proto je i mnoho nemocí vyššího věku spojováno se zvýšeným oxidačním stresem i možnými mitochondriálními poruchami, vedoucími ke zvýšené tvorbě volných kyslíkových radikálů [33]. Mitochondriální DNA obsažená ve všech savčích buňkách je náchylná k poškození volnými radikály. Specifické mutace jsou poté spojovány se zvýšeným oxidačním stresem a mohou přispívat k vývoji osteoporózy [34], z čehož lze předpokládat spojitost mezi osteoporózou a mitochondriální dysfunkcí [35].

Kim and Lee (2012) prokázali pozitivní vztah mezi množstvím mtDNA v periferní krvi a hustotou kostního minerálu v krčku stehenní kosti. Podobný vztah u jiných metabolických onemocnění prokázaly i další studie, a proto lze předpokládat, že změny v mtDNA by mohly sloužit jako marker onemocnění souvisejících s dysfunkcí mitochondrií.

Dále byly prokázány různé souvislosti mitochondriálních mutací s onemocněním kostního aparátu, např. snížený počet kopií mtDNA ve vzorcích kostní tkáně postižené osteosarkomem. Navzdory tomu, množství mtDNA v leukocytech u těchto pacientů bylo v normálu [36]. Dále pak ve vzorcích kostní tkáně byly pozorovány mitochondriální delecce při zlomeninách krčku a osteoporóze, či mutace některých vybraných mitochondriálních genů. Cytochrom c, z části kódovaný mitochondriální DNA, je důležitý enzym v procesu apoptózy osteoblastů [15]. Ta je také velmi silně ovlivněna oxidačním stresem a jeho radikály. Není vyloučeno, že se na buněčné smrti mohou podílet mutace genů pro cytochrom c vyvolané oxidačním stresem.

Oxidační stres má vliv i na další komplexy oxidační fosforylace. Kromě komplexu IV (cytochrom c oxidáza), zastoupeného 3 podjednotkami kódovanými mtDNA, mají radikály vliv i na NADH dehydrogenázy komplexu I, jehož 7 ND podjednotek je kódováno mtDNA. Zvýšený oxidační stres podporuje expresi DNA metyltransferázy 1 a následně je díky zvýšené metylaci potlačena exprese genu ND6, jediného protein-kódujícího genu na lehkém řetězci. Zároveň tento stres zvyšuje transkripci genu ND1 na těžkém řetězci [9,13]. Polymorfismy v genu pro ND2 a cytochrom b, a těchto enzymů následná snížená funkce, jsou spojovány s možným rizikem vzniku osteoporózy [34]. I když mechanismus vlivu je stále nejasný, víme, že oba geny kódují důležité složky dýchacího řetězce [21].

Kostní hmotu oslabuje i dlouhodobé podávání některých léčiv, např. glukokortikoidů, antiepileptik či antacid. Kyselina valproová, běžně používané antiepileptikum, podporuje změny v metylacích v mitochondriích fibroblastů a snižuje hladiny metyltransferáz [17]. Dlouhodobá léčba valproátem má za následek úbytek kostní denzity.

Jednou z dřívějších oblastí zkoumání stárnutí byla metylace cytosinu, avšak většina studií byla zaměřena pouze na jadernou DNA. S-adenosylmethionin (SAM), ze kterého následnými reakcemi vzniká homocystein, je nositel metylové skupiny pro DNA metylace (obrázek 1). Homocystein tedy hraje roli v epigenetické regulaci. Produkce SAM je regulována mitochondriálním metabolismem, konkrétně produkcí ATP a folátu, který se jako meziprodukt zapojuje do cyklu metionin homocystein [17]. Vzhledem k výše zmiňovaným faktům a souvislostem se lze domnívat, že epigenetické změny mitochondriální DNA, jak metylace vybraných mitochondriálních genů, tak výskyt a vliv mitomiRNA, mohou vést k poruchám funkce mitochondrií, oxidační fosforylace a ty dále k vyšší produkci volných kyslíkových radikálů, které škodí správné kostní rovnováze. Zároveň oxidační stres může přímo způsobovat metylace DNA, čímž vzniká uzavřený kruh a míra oxidačního stresu se může neustále zvětšovat [25]. Proto by jistě bylo zajímavé, zaměřit se na spojitost mezi epigenetikou mitochondriální DNA a poruchami kostního metabolismu, případně ještě ve spojitosti s mírou oxidačního stresu.

Podpořeno MZ ČR – RVO (FN HK, 00179906) a výzkumným záměrem SVV 260289.

Literatura

- Greaves LC, Reeve AK, Taylor RW, Trunbull DM. Mitochondrial DNA and disease. *J Pathol* 2012; 274:286.
- Almeida M, O'Brien C. Basic Biology of Skeletal Aging: Role of Stress response pathways. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2013; 1197–1208.
- Taylor RW, Turnbull DM. Mitochondrial DNA mutations in human disease. *Nat Rev Genet* 2005; 389–402.
- Shokolenko IN. Aging: A mitochondrial DNA perspective, critical analysis and an update. *World Journal of Experimental Medicine* 2014; 4(4):46.
- Trounce I, Byrne E, Marzuki S. Decline in skeletal muscle mitochondrial respiratory chain function: possible factor in ageing. *Lancet* 1989; 1(8639):637–639.
- Yen TC, Chen YS, King KL, Yeh SH, Wei YH. Liver mitochondrial respiratory functions decline with age. *Biochem Biophys Res Commun* 1989; 165(3): 944–1003.
- Trifunovic A, Larsson NG. Mitochondrial dysfunction as a cause of ageing. *J Intern Med* 2008; 263(2):167–178.
- Almeida M, O'Brien CA. Basic biology of skeletal aging: role of stress response pathways. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2013; 68(10):1197–1208.
- Iacobazzi V, Castegna A, Infantino V, Andria G. Mitochondrial DNA methylation as a next-generation biomarker and diagnostic tool. *Mol Genet Metab* 2013; 110(1–2):25–34.
- Infantino V, Castegna A, Iacobazzi F, Spera I, Scala I, Andria G, Iacobazzi V. Impairment of methyl cycle affects mitochondrial methyl availability and glutathione level in Down's syndrome. *Mol Genet Metab* 2011; 102(3):378–382.
- Shock LS, Thakkar PV, Peterson EJ, Moran RG, Taylor SM. DNA methyltransferase 1, cytosine methylation, and cytosine hydroxymethylation in mammalian mitochondria. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011; 108(9):3630–3635.
- Bellizzi D, D'Aquila P, Scafione T, Giordano M, Riso V, Riccio A, Passarino G. The control region of mitochondrial DNA shows an unusual CpG and non-CpG methylation pattern. *DNA Res* 2013; 20(6):537–547.
- van der Wijst MG, Rots MG. Mitochondrial epigenetics: an overlooked layer of regulation? *Trends Genet* 2015; 31(7):353–356.
- Manev H, Dzitojeva S. Progress in mitochondrial epigenetics. *Biomol Concepts* 2013; 4(4):381–389.
- Kalani A, Kamat PK, Voor MJ, Tyagi SC, Tyagi N. Mitochondrial epigenetics in bone remodeling during hyperhomocysteinemia. *Mol Cell Biochem* 2014; 395(1–2):89–98.
- Bogenhagen DF. Mitochondrial DNA nucleoid structure. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Gene Regulatory Mechanisms* 2012; 1819(9–10):914–920.
- Ghosh S, Singh KK, Sengupta S, Scaria V. Mitoeigenetics: The different shades of grey. *Mitochondrion* 2015; 25:60–66.
- Barrey E, Saint-Auret G, Bonnamy B, Damas D, Boyer O, Gidrol X. Pre-microRNA and mature microRNA in human mitochondria. *PLoS One* 2011; 6(5):e20220.
- Duarte FV, Palmeira CM, Rolo AP. The Role of microRNAs in Mitochondria: Small Players Acting Wide. *Genes (Basel)* 2014; 5(4):865–886.
- Shokolenko IN, Wilson GL, Alexeyev MF. Aging: A mitochondrial DNA perspective, critical analysis and an update. *World J Exp Med* 2014; 46–57.
- Lane RK, Hilsabeck T, Rea SL. The role of mitochondrial dysfunction in age-related diseases. *Biochim Biophys Acta* 2015; 1847(11):1387–1400.
- Rigoulet M, Yoboue ED, Devin A. Mitochondrial ROS generation and its regulation: mechanisms involved in H(2)O(2) signaling. *Antioxid Redox Signal* 2011; 14(3):459–468.
- Almeida M. Aging mechanisms in bone. *Bonekey Rep* 2012; 1.
- Hegedus C, Robaszkiewicz A, Lakatos P, Szabo E, Virag L. Poly(ADP-ribose) in the bone: from oxidative stress signal to structural element. *Free Radic Biol Med* 2015; 82:179–86.
- Schroder K. NADPH oxidases in bone homeostasis and osteoporosis. *Cell Mol Life Sci* 2015; 72(1):25–38.
- Almeida M. Aging and oxidative stress: A new look at old bone. *IBMS Bone Key* 2010; 7(10):340–352.
- Manolagas SC. From estrogen-centric to aging and oxidative stress: a revised perspective of the pathogenesis of osteoporosis. *Endocr Rev* 2010; 31(3):266–300.
- Filaire E, Toumi H. Reactive oxygen species and exercise on bone metabolism: friend or enemy? *Joint Bone Spine* 2012; 79(4):341–346.
- Cervellati C, Bonaccorsi G, Cremonini E, Romani A, Fila E, Castaldini MC, Ferrazzini S, Giganti M, Massari L. Oxidative Stress and Bone Resorption Interplay as a Possible Trigger for Postmenopausal Osteoporosis. *Bio Med Research International* 2014; 2014:8.
- Garrett IR, Boyce BF, Oreffo RO, Bonewald L, Poser J, Mundy GR. Oxygen-derived free radicals stimulate osteoclastic bone resorption in rodent bone in vitro and in vivo. *J Clin Invest* 1990; 85(3):632–639.
- Callaway DA, Jiang JX. Reactive oxygen species and oxidative stress in osteoclastogenesis, skeletal aging and bone diseases. *J Bone Miner Metab* 2015; 33(4): 359–370.
- Baek KH, Oh KW, Lee WY, Lee SS, Kim MK, Kwon HS, Rhee EJ, Han JH, Song KH, Cha BY, Lee KW, Kang MI. Association of oxidative stress with postmenopausal osteoporosis and the effects of hydrogen peroxide on osteoclast formation in human bone marrow cell cultures. *Calcif Tissue Int* 2010; 87(3):226–235.
- Lagouge M, Larsson NG. The role of mitochondrial DNA mutations and free radicals in disease and ageing. *J Intern Med* 2013; 273(6):529–543.
- Guo Y, Yang TL, Liu YZ, Shen H, Lei SF, Yu N, Chen J, Xu T, Cheng Y, Tian Q, Yu P, Deng HW. Mitochondria-wide association study of common variants in osteoporosis. *Ann Hum Genet* 2011; 75(5):569–574.
- Kim JH, Lee DC. Mitochondrial DNA copy number in peripheral blood is associated with femoral neck bone mineral density in postmenopausal women. *J Rheumatol* 2012; 39(7):1465–1472.
- Yu M, Wan Y, Zou Q. Reduced mitochondrial DNA copy number in Chinese patients with osteosarcoma. *Transl Res* 2013; 161(3):165–171.