
ADN MITOCHONDRIAL : PROPRIETES ET APPLICATIONS

R. KEFI-BEN ATIG^{1*}, S. HSOUNA^{1,2}, E. BERAUD-COLOMB³ ET S. ABDELHAK

¹ UR26/04 : Exploration Moléculaire des Maladies Orphelines d'origine Génétique-Institut Pasteur de Tunis, 13 Place Pasteur, BP 74-1002 Tunis Belvédère.

² 05/UR/08-02, Maladies neurologiques de l'enfant, Faculté de médecine de Tunis.

³ INSERM U600-FRE2059 CNRS, Hôpital Sainte Marguerite, Marseille, France.

* Auteur correspondant: Tél : +216 71 849 110; Fax: +216 71 791 833; E-mail: rym.kefi@pasteur.rns.tn .

RESUME

La mitochondrie occupe une place essentielle dans plusieurs fonctions cellulaires tels que : le métabolisme intermédiaire, la production de l'énergie et la respiration cellulaire. Les propriétés de l'ADN mitochondrial (ADNmt): un taux élevé de substitution, absence de recombinaison et transmission maternelle, font de cette molécule un bon outil exploitable dans de nombreux domaines de recherches.

En anthropologie moléculaire, la connaissance de la diversité mitochondriale d'une population permet de déterminer ses origines et de tracer les voies de migrations qui ont été empruntées pour sa mise en place. L'étude de l'ADNmt est très utile en médecine légale afin d'identifier les restes non déterminés dans le cas des affaires criminelles et des catastrophes naturelles. Par ailleurs, les mutations affectant l'ADNmt sont impliquées dans un grand nombre de pathologies : telles que les cytopathies mitochondriales, les maladies neurologiques, les myopathies, les ischémies cardiaques et cérébrales, les maladies métaboliques et les cancers.

Mots clés: Mitochondrie, ADN mitochondrial, anthropologie génétique, criminalistique, cytopathies mitochondriales, cancer.

ABSTRACT

Mitochondria are the intracellular organelle responsible for the production of cellular energy. They play an important role in the regulation of cellular metabolism, apoptosis and oxydative stress control. Mitochondrial DNA (mtDNA) has many special features such as a high copy number in cell, maternal inheritance, and a high mutation rate which have made it attractive to scientists from many fields. In anthropological genetics, mtDNA is useful to trace geographic distribution of genetic variation, for the investigation of expansions, migrations and other pattern of gene flow. mtDNA is widely applied in forensic science. It is a powerful implement to identify human remains. mtDNA is characterized by the high rate of polymorphisms and mutations. Some of which are increasingly recognized as an important cause of human pathology such as oxidative phosphorylation (OXPHOS) disorders, maternally inherited diabetes and deafness (MIDD), Type 2 diabetes mellitus, neurodegenerative disorders, heart failure and cancer.

Key words: Mitochondria, mitochondrial DNA, anthropological genetics, forensic, OXPHOS disorders, cancer.

INTRODUCTION

La découverte de l'ADN mitochondrial (ADNmt) date de 1963¹. Mais il a fallu une vingtaine d'années pour que la séquence complète de l'ADNmt soit publiée². Depuis, les études s'intéressant à cette molécule se sont multipliées couvrant un grand nombre de domaine scientifique et marquant ainsi le début de l'ère de la génomique mitochondriale. L'objectif de

notre article est de présenter une synthèse de l'état des connaissances sur l'ADN mitochondrial, ses propriétés et ces diverses applications.

La mitochondrie est un organite situé dans le cytoplasme des cellules eucaryotes (Figure 1). Cet organite serait apparu il y a 1,5 à 2 milliards d'années à la suite d'une endosymbiose entre une protobactérie et une cellule hôte protoeucaryotique. Selon le type

cellulaire une cellule possède entre 300 et 500 mitochondries. La mitochondrie occupe une place essentielle dans le métabolisme intermédiaire. Elle est le siège des réactions de catabolisme des acides aminés et du cycle de Krebs, de l'oxydation des acides gras et de la phosphorylation oxydative. Elle assure la respiration de la cellule et la production de l'énergie^{3,4} et possède son propre ADN. Suivant le type de tissu, une cellule peut contenir entre 10 à 10.000 molécules d'ADNmt^{5,6}.

STRUCTURE DE L'ADN MITOCHONDRIAL

La structure de l'ADNmt est conservée chez tous les mammifères. L'ADNmt est un ADN double brin circulaire (Figure 1). Chez l'Homme, l'ADNmt mesure environ 5mm de long et sa masse est de 107 daltons. Il est constitué de 16569 paires de bases (pb)^{2,7}. Les deux brins de l'ADNmt sont très différents dans leur composition en Guanine (G) et en cytosine (C). Vu cette différence de densité, on distingue : un brin lourd H (Heavy strand) riche en G et un brin léger L (Light strand) riche en résidus cytosine. Les deux brins sont codants et sont dépourvus d'introns⁷. Les séquences intergéniques sont absentes ou limitées à quelques nucléotides⁸.

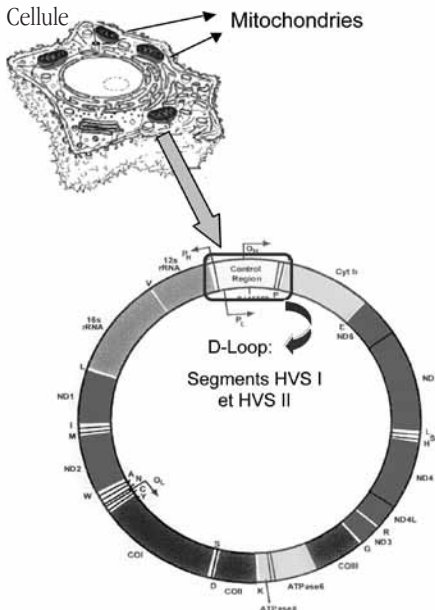


Figure 1. Structure de l'ADN mitochondrial.

L'unique région non codante de l'ADNmt est la D-Loop (Displacement Loop ou Boucle de Déplacement). Il s'agit d'une région de 1121pb située entre la position 16024 et la position 576 (d'après la numérotation de la CRS : Cambridge Référence Séquence²).

La D-Loop contient notamment l'origine de réplication et les deux promoteurs de la transcription, un pour chaque brin. En outre, cette région inclut deux zones hyper-variables : HVS1 et HVS2 (HVS pour hypervariable segment) (Figure 1)⁷. Le fragment HVS1 englobe 60% des polymorphismes de la D-Loop⁹.

L'ADNmt renferme 37 gènes dont la plupart (28 gènes) sont situés sur le brin H. Ces gènes codent pour deux ARN ribosomiques (12S et 16S), 22 ARN de transfert (ARNt) et 13 protéines de la chaîne respiratoire².

Néanmoins, la mitochondrie n'est pas autonome et dépend étroitement du génome nucléaire. Ainsi, la réplication et la transcription nécessitent une transactivation par des facteurs nucléaires. Les ARNt sont chargés par des ARNt aminoacyl-synthases codées par le génome nucléaire et synthétisés à l'extérieur de la mitochondrie. Les enzymes des voies cataboliques de la mitochondrie sont également d'origine nucléaire.

Les complexes enzymatiques de la chaîne respiratoire, impliqués dans la phosphorylation oxydative ne sont qu'en partie synthétisés dans la mitochondrie: 7 protéines sur 43 sont d'origine mitochondriale dans le complexe I (NADH Déshydrogénase 1, 2, 3, 4L, 4, 5 et 6), 1 sur 11 pour le complexe III (Cytochrome b), 3 sur 13 pour le complexe IV (Cytochrome Oxydase I, II et III) et 2 sur 16 pour le complexe V (ATPase 6 et 8)³.

REPLICATION ET TRANSCRIPTION DE L'ADNmt

La réplication de l'ADNmt se fait de manière unidirectionnelle et semi conservatrice, suivant un modèle appelé « modèle de déplacement » dû au déplacement du brin H parental par rapport au brin H néo-synthétisé⁷. La transcription débute au niveau des deux promoteurs HSP et LSP correspondant au brin H et au brin L respectivement. La transcription génère un grand transcript qui une fois clivé, libère les ARN messagers (ARNm), les ARNr et les ARNt. Les ARNm sont par la suite polyadénylés⁹.

Le code génétique de l'ADNmt est légèrement différent du code nucléaire universel. En effet le codon UGA par exemple qui est un codon STOP suivant le code universel, correspond au tryptophane selon le code mitochondrial. De même, les règles d'appariement codon-anticodon sont moins rigides. L'ARNt

reconnaît n'importe lequel des 4 nucléotides à la troisième position. La conséquence de ce type de lecture « 2 sur 3 » est que la traduction est moins rigoureuse donnant ainsi une synthèse peptidique qui ne demande qu'un petit nombre d'ARNt différents (22 ARNt seulement)⁷.

VITESSE DE MUTATION DE L'ADNmt

L'ADNmt présente un taux moyen de mutation de 10 à 17 fois supérieur à celui de l'ADN nucléaire. Même en excluant la D-Loop ce taux demeure élevé. En effet, en fonction de type de mutation considéré, le taux de variation de l'ADNmt est de 10 à 12 fois supérieur à celui de l'ADN nucléaire, soit 0,017 mutation par site et par million d'années (Ma)¹⁰.

L'évolution rapide de l'ADNmt est due d'une part, à l'absence de protéines protectrices (les histones), au manque de fidélité de la réplication et à la défaillance du système de réparation des erreurs commises par l'ADN polymérase mitochondriale¹¹. De plus l'ADNmt est constamment exposé aux radicaux oxygénés (ROS : Reactive Oxygen Species) libérés dans la matrice de la mitochondrie¹².

Les mutations ne sont pas uniformément réparties sur l'ensemble du génome mitochondrial, elles s'accumulent, préférentiellement, au niveau de la D-Loop^{13, 14}. Cependant, le taux de variation de la D-Loop est très discuté. Dans la littérature, les travaux menés sur des familles ou analyse des généalogies¹³ proposent des vitesses d'évolution comprises entre 0,32 mutation /site/Ma et 2,5 mutation /site/Ma, tandis que les vitesses estimées par les études phylogénétiques^{14, 15} sont plus faibles (taux compris entre 0,025 et 0,260 mutation /site/Ma).

Ces différences marquantes sont dues aux critères d'échantillonnage et à la taille des effectifs qui ne sont pas les mêmes dans les différentes études, aux biais introduits par les maladies¹⁷ et à l'hétérogénéité de la vitesse de mutation au sein de la D-Loop, vu la présence de site appelé « point chauds » pour lesquelles les mutations sont très fréquentes^{16, 18}. De même, les taux de mutations de la D-Loop varient en fonction des méthodes statistiques et phylogénétiques utilisées^{19, 20}.

Il est important de noter qu'une mauvaise estimation du taux de mutations et de son hétérogénéité au sein de l'ADNmt et particulièrement au niveau de la D-Loop entraînent des résultats incohérents dans les études génétiques des populations et surtout dans la datation des mouvements migratoires²⁰.

MODE DE TRANSMISSION DE L'ADNmt

Les mitochondries suivent un mode d'hérédité cytoplasmique (non mendélienne) qui fait que l'ADNmt est uni-parental. Il est admis qu'il se transmet exclusivement par la voie maternelle. Chez les mammifères, lors de la fécondation, les mitochondries de l'œuf proviennent du cytoplasme de l'ovocyte. Les mitochondries issues du spermatozoïde qui seraient éventuellement passées au sein du cytoplasme du zygote sont éliminées lors des croisements intra-spécifiques à un stade précoce de l'embryogenèse²¹. Ainsi, l'ADNmt, n'étant présent que sous une seule forme, la forme maternelle, n'est pas soumis au phénomène de recombinaison.

Cependant, depuis quelques années de nombreux travaux ont mis en cause l'absence totale de l'intervention de l'ADNmt parental^{22, 23}. Ces études ont été fortement critiquées et des arguments contredisants ont été proposées^{24, 25}. En conséquence, jusqu'à présent, il n'y a aucune évidence d'une recombinaison de l'ADNmt, nous continuons, donc, à admettre que la transmission de l'ADNmt se fait uniquement par la mère²⁶.

APPLICATIONS DE L'ADN MITOCHONDRIAL

Les propriétés de l'ADNmt : un taux élevé de substitution, absence de recombinaison et transmission maternelle, font de cette molécule un bon outil biologique exploitable dans de nombreux domaines de recherches tels la biologie de l'évolution, l'anthropologie génétique, l'histoire des maladies, la systématique et la phylogénie. Nous développons ci-dessous quelques applications.

ADNmt et Anthropologie Génétique

L'anthropologie génétique est la science qui étudie l'histoire naturelle des populations humaines en utilisant des techniques immunologiques, biochimiques et moléculaires.

L'origine de notre espèce, la position de l'Homme de Neandertal dans l'évolution humaine et le peuplement de la Terre par l'Homme Moderne *Homo sapiens sapiens*, sont les principaux thèmes traités par cette discipline.

La connaissance de la diversité mitochondriale d'une population humaine permet de déterminer ses origines et de tracer les voies de migrations qui ont été empruntées pour sa mise en place, puisque

les variations observées sur l'ADNmt d'un sujet donné sont dues à l'accumulation d'événements au cours du temps à partir de son ancêtre.

Les variants moléculaires de l'ADNmt ont été étudiés au moyen des polymorphismes de longueur des fragments de restriction (RFLP). D'abord, par une méthode de faible résolution utilisant 9 enzymes de restrictions et permettant d'analyser 2 à 3% de l'ADNmt. Puis par une méthode de haute résolution utilisant un système de 12 enzymes de restrictions, permettant d'analyser 20% de l'ADNmt^{27,28}.

Depuis cette dernière décennie, le séquençage de l'ADNmt, ainsi que l'utilisation des méthodes statistiques et phylogénétiques (Neighbour-joining, median network, ...) ²⁹ viennent s'associer aux résultats des RFLPs pour fournir des informations plus précises concernant les modes de différenciation, d'expansion et de dispersion des populations humaines ^{30,31}.

Le nombre des populations étudiées a remarquablement augmenté donnant naissance à un large éventail de types mitochondriaux dont la classification est devenue indispensable. Les différents caractères mitochondriaux appelés aussi « haplotypes » sont répartis en 19 haplogroupes qui sont encore subdivisés en sous haplogroupes ³³. La majorité de ces haplogroupes sont continents-spécifiques. Ainsi les haplogroupes L1, L2, L3 regroupent les populations sub-sahariennes africaines. Les haplogroupes H, I, J, K, T, U, V, W et X, incluent les variants mitochondriaux des populations européennes, nord africaines, et les caucasiens de l'Asie de l'Ouest. Enfin, les haplogroupes A, B, C, D, E, F, G, et M réunissent la majorité des haplotypes de l'Asie, de l'Océanie et des natifs américains ^{31,32,33}.

Dans le but de rechercher l'origine de l'Homme, les premières études sur l'ADNmt couronnée par celle de Cann et ses collaborateurs en 1987 ³⁴, ont avancé une hypothèse désignée « Out of Africa ». Selon cette hypothèse l'ancêtre commun de l'Homme Moderne appelé « Eve mitochondriale » serait apparu en Afrique entre 140.000 ans et 290.000 ans. Bien que les méthodes et les considérations suivies dans cette étude ont été sévèrement critiquées ^{35,36,37,38}, d'autres travaux utilisant aussi bien l'ADNmt que d'autres marqueurs du génome nucléaire sont en faveur de l'origine africaine de l'Homme ³⁹. En effet, l'analyse de l'ADNmt effectuée sur plusieurs populations mondiales actuelles a montré que les Kungs et les Pygmées (populations africaines subsahariennes) dont les séquences appartiennent exclusivement à

l'haplogroupe L (daté de 126.000 et 165.000 ans), pourront être considéré comme les plus anciennes des populations humaines actuelles ³⁹.

Il est également intéressant de noter que certaines études d'ADNmt semblent indiquer une origine asiatique ^{40,41,42}. En outre, l'analyse des polymorphismes des marqueurs GM des immunoglobulines propose une nouvelle hypothèse, suggérant que le Yémen est le lieu le plus probable de la population ancestrale commune. Cette hypothèse n'est pas en contradiction avec celle de l'origine Africaine vu que l'extrême Est de l'Afrique sub-Saharienne n'est séparé de Yémen que de quelques kilomètres au niveau du détroit de Bab-al Mandeb. Les travaux prochains pourraient préciser sur quel coté de ce détroit serait apparu le premier groupe d'homme moderne ^{38,43}.

Une autre sortie de l'Afrique vers le Proche Orient, aurait eu lieu probablement autour de 60.000 ans, a été mise en évidence grâce à l'haplogroupe mitochondrial M1, dont les taux les plus élevés sont observés en Afrique de l'Est ^{44,45}.

L'étude de la diversité mitochondriale des populations actuelles et anciennes nord africaines ⁴⁶ souligne un retour en Afrique entre 45.000 et 52.000 ans, attesté par l'haplogroupe mitochondrial U6 ^{31,33}.

D'autres flux de migrations en provenance du Proche Orient, de l'Europe vers 30.000 ans et plus tardivement depuis l'Afrique sub-saharienne ont contribué au pool génétique des populations nord africaines, et ont été mis en évidence grâce aux haplogroupes mitochondriaux tels que T, J, H et les haplogroupes subsahariens L1 et L2 ^{30,46}.

Outre le continent africain, l'étude du peuplement de l'Europe a fait l'objet de nombreuses analyses quantitatives de la diversité mitochondriale (distance génétique, autocorrélation...). Les populations européennes à l'exception des Saamis, en Scandinavie, forment un groupe homogène ^{47,48}. Néanmoins, un léger gradient de divergence est observé de l'Est à l'Ouest tout au long de la méditerranée, témoignant d'un flux génétique, suivant la lignée maternelle, depuis l'Asie vers l'Europe durant le Néolithique (8.000 ans) ⁴⁸. L'estimation du temps de divergence des haplogroupes majoritaires en Europe montre que seulement 20 à 30% des européens actuels (individus appartenant aux haplogroupes T1, J1, U3) sont issus de migrations néolithiques depuis le Proche Orient. Alors que 70 à 80% des européens (individus appartenant aux haplogroupes U, T2, W...) seraient issus d'une population autochtone

occupant l'Europe dès le Paléolithique Supérieur (45.000 ans)⁴⁹.

L'haplogroupe U5 est l'haplogroupe le plus ancien de l'Europe. U5 et U6 aurait un ancêtre commun en Asie du Sud Ouest, à partir duquel deux branches ont divergé : une vers la rive Nord de la méditerranée donnant naissance à l'haplogroupe U5 en Europe. Une seconde longeant la rive Sud de la méditerranée où elle aura donné naissance à l'haplogroupe U6 en Afrique du Nord^{31, 33}.

Les apports génétiques en provenance du Proche Orient au cours du Paléolithique et au Néolithique ne sont pas les seules sources de la diversité mitochondriale des populations européennes actuelles. Un flux génétique en provenance de l'Europe du Sud Ouest a été mis en évidence grâce à l'haplogroupe V⁵⁰. La fréquence et la diversité de l'haplogroupe V suit un gradient décroissant de la Péninsule Ibérique vers l'Europe du Nord Est et témoigne de la recolonisation de l'Europe, après la dernière glaciation (20.000 ans), à partir des refuges glaciaires^{50, 51}.

La présence de U6 (1 à 2 %) en Europe indique un apport génétique de l'Afrique du Nord qui y aurait eu lieu avant 8.000 ans^{30, 52}.

Enfin, la présence de l'haplogroupe L (2 à 3%) en Europe témoigne d'un apport génétique de type africain subsaharien qui pourrait être lié à des migrations pendant la désertification du Sahara au cours du Néolithique et aux compagnes d'esclavages pendant l'époque historique⁵².

ADN mitochondrial et sciences forensiques (médecine légale et criminalistique)

L'étude de l'ADNmt s'est avérée très utile en médecine légale et en criminalistique, notamment quand l'investigation de l'ADN nucléaire échoue à cause de la dégradation et la faible quantité du matériel biologique, ce qui est souvent le cas⁵³. C'est ainsi qu'il était possible d'identifier de nombreux restes non déterminés, comme des victimes de la guerre du Vietnam⁵⁴, des victimes d'affaires criminelles^{55, 56} ou des victimes de catastrophes naturelles comme le Tsunami⁵⁷. De même, grâce à l'analyse de l'ADNmt des énigmes de l'histoire ont pu être résolues, tels que l'identification des restes de la famille Romanov, derniers tsars de Russie disparus en 1918 et découverts en 1991⁵⁸.

En forensic, c'est le séquençage des fragments HVSI et HVSI2 de la région de contrôle de l'ADN mitochondrial qui se fait en routine. Des bases de données

regroupant ces séquences en provenance de différentes populations humaines ont été élaborées dans le but d'augmenter le succès dans la résolution des affaires. Parmi ces banques nous citons la banque de donnée de la FBI (Federal Bureau of Investigation -USA)⁵⁹ et la banque EMPOP réalisée par l'institut de médecine légale d'Innsbruck en Australie et l'AFDIL (Armed Forces DNA Identification Laboratory-USA)⁶⁰. Récemment, des travaux proposent l'analyse de certaines régions codantes de l'ADNmt afin d'accroître la discrimination entre les spécimens analysés^{61, 62}.

ADN mitochondrial et pathologies humaines

L'ADN mitochondrial est vulnérable au stress oxydatif et aux dérivés oxygénés : ROS (Reactive Oxygen Species) produits au cours des réactions de la phosphorylation oxydative. Il s'agit d'un cercle vicieux dans lequel les ROS induisent une augmentation des mutations mitochondriales ce qui altèrent le transfert des électrons au niveau de la mitochondrie et augmente par conséquent la production des ROS, et ainsi de suite⁶³.

Les mutations affectant l'ADNmt et/ou l'ADN nucléaire entraînent un changement dans l'activité des enzymes mitochondriales et donc un déficit de la phosphorylation oxydative et de la respiration cellulaire ce qui donnent naissances à des pathologies : les cytopathies mitochondriales et des maladies multifactorielles^{63, 64, 65, 66}.

• Les cytopathies mitochondriales

Les pathologies mitochondriales ou « cytopathies mitochondriales » (ou défaillance de la phosphorylation oxydative : OXPHOS) ne sont pas aussi rares qu'on le croyait et leur fréquence est estimée à 10-15 cas/ 100.000 individus. Ces maladies peuvent survenir à n'importe quel âge et peuvent concerner un seul type d'organe c'est le cas par exemple de la neuropathie optique de Leber (LHON) ou tous les organes et toutes les fonctions cellulaires c'est le cas par exemple du syndrome de Kearns-Sayre (KSS). Cependant, les tissus les plus dépendants en énergie tels les muscles squelettiques et cardiaques, le système nerveux et le système neuro-sensoriel et les systèmes endocriniens sont le plus souvent affectés. Les cytopathies mitochondriales présentent divers aspects cliniques, morphologiques et biochimiques. Leur diagnostic nécessite trois types d'investiga-

tions: métabolique, biochimique et génétique. L'investigation métabolique apporte des arguments en faveur ou non d'une cytopathie mitochondriale et seule les investigations enzymatiques et moléculaires peuvent confirmer le diagnostic^{63, 64}.

Une centaine de maladie mitochondriales sont actuellement recensées. Du fait que les causes peuvent être dues à des mutations ponctuelles ou à des délétions au niveau des gènes mitochondriaux et/ou nucléaires, la transmission de ces maladies peut être donc maternelle ou mendélienne⁶⁷. La base de données MITOMAP (www.mitomap.org) fait l'inventaire de toutes les mutations mitochondriales et nucléaires publiées jusqu'à présent.

Le diagnostic des maladies mitochondriales reste difficile du fait de la variabilité des symptômes : des anomalies génomiques différentes peuvent présenter le même phénotype. La même anomalie à son tour peut donner lieu à des phénotypes différents⁶⁸. Un diagnostic prénatal peut être proposé en cas d'altération d'un gène nucléaire identifié. Il est beaucoup plus difficile en cas de mutation de l'ADN mitochondrial du fait de l'hétéroplasmie^{63, 64}.

Les syndromes mitochondriaux les plus décrits dans la littérature sont : le Syndrome de Kearns-Sayre (KSS)⁶⁹, la Neuropathie Optique Héréditaire de Leber^{70, 71}, le Syndrome de MERRF (Myoclonic Epilepsy with Ragged Red Fibers)⁷², Le syndrome de Leigh (Encéphalomyopathie nécrosante subaigue)^{73, 74}, Le Syndrome de MELAS (Myopathie mitochondriale-encéphalopathie-acidose lactique)⁷⁵ et Le Syndrome de NARP (neuropathie-ataxie-rétinite pigmentaire)⁶⁸. Le KSS par exemple est une maladie neuromusculaire, débutant avant l'âge de 20 ans, caractérisée par une surdité, une cardiomyopathie, une myopathie des muscles squelettiques une insuffisance rénale, des déficits hormonaux (hypoparathyroïdie, diabète) et des muscles déficitaires en activité du cytochrome C oxydase et présentant une prolifération mitochondriale (Ragged Red Fibers). Sur le plan moléculaire, le KSS est dû à des grandes délétions (allant de 4000 à 9500 pb) et à la mutation A3243G au niveau de l'ADNmt⁶⁹.

• ADN mitochondrial et maladies multifactorielles

Les désordres mitochondriaux peuvent être impliqués dans des pathologies humaines telles que les maladies neuro-dégénératives, les myopathies, les ischémies cardiaques et cérébrales, les maladies

métaboliques, les cancers, la surdité et le vieillissement^{63, 64} : Outre les mutations nucléaires, des mutations de l'ADNmt altérant le fonctionnement des enzymes mitochondriales comme la pyruvate carboxylase et/ou le transfert des électrons au niveau de la chaîne respiratoire entraînent une altération du métabolisme du glucose au niveau du foie, causant des maladies de surcharges lysosomales⁶⁴.

Les mutations A3243G au niveau du gène mitochondrial tRNA^{Leu}, (caractéristique du syndrome de MELAS), T14709C dans le gène codant pour tRNA^{glu}⁷⁶ et A8296G touchant le gène codant tRNA^{lys} ont été associées au diabète de type MIDD (Maternally Inherited Diabetes and Deafness)^{77, 78}. De plus, il a été montré qu'un dysfonctionnement mitochondrial, réduisant l'oxydation des acides gras, inhibe chez les patients atteints de diabète de type II, le transport du glucose au niveau des muscles⁷⁹.

Le syndrome métabolique à transmission maternelle, caractérisé par une hypertension, une hypermagnésémie et une hypercholestérolémie a été associé à la mutation T4291C affectant le gène mitochondrial tRNA^{Ile}⁸⁰.

En ce qui concerne le tissu cardiaque, des études ont souligné l'existence d'une délétion de 4977pb localisée entre les positions 8470 et 13477 chez des patients âgés de 43 à 74 ans, ayant subi une intervention chirurgicale au niveau de l'artère coronaire ou un remplacement de la valve aortique⁸¹.

Une quarantaine de mutations mitochondriales ont été classées comme étant impliquées dans des surdités syndromiques ou non syndromiques. Parmi ces mutations, celles affectant les gènes mitochondriaux codant pour ARNr 12 S tels que T1095C, C1494T, et A1555G, sont responsable d'une surdité due à une toxicité en présence des antibiotiques de type streptomycine et aminoglycoside⁸².

Le rôle de la mitochondrie dans la formation des tumeurs a été évoqué depuis plus d'une cinquantaine d'année. La littérature est riche en travaux décrivant des mutations mitochondriales associées à de nombreux cancers tels que le cancer de la vessie¹⁷, le cancer des poumons^{17, 83}, le cancer du pancréas⁸⁴, le cancer de la thyroïde⁸⁵ et les cancers gastriques⁸³. D'autres travaux ont souligné le rôle des déplétions et des délétions de l'ADNmt dans la progression des tumeurs. En fin, il a été mis en évidence des haplogroupes mitochondriaux prédisposant aux cancers. L'haplogroupe N caractérisé par le polymorphisme G10398A représente un fac-

teur a risque pour le cancer du sein et l'œsophage⁸⁷. L'haplogroupe U chez les nord américains caucasiens a été décrit comme un haut risque pour le cancer de la prostate⁸⁸.

Le cancer de l'œsophage est l'un des cancers les plus mortels dans le monde, dont les taux les plus élevés ont été repérés dans l'aire géographique allant du centre de la Chine jusqu'au Nord de l'Iran. L'haplogroupe mitochondrial D, plus spécifiquement D4a et D5a prédisposent génétiquement au cancer de l'œsophage chez la population chinoise⁸⁹.

L'implication de la mitochondrie et plus particulièrement l'ADNmt dans le processus du vieillissement est un sujet de débat à cause des mécanismes encore incompréhensibles jusqu'à présent. Ce qui est certain est que le mécanisme du vieillissement est accompagné par une diminution de l'activité respiratoire des mitochondries ainsi que par une accumulation des délétions et des mutations ponctuelles au niveau de l'ADNmt. Une augmentation de 1 à 10% des taux de délétions au niveau des cellules du cerveau et du muscle a été observée chez des sujets âgés comparés aux sujets jeunes⁶³.

En conclusion, l'ADNmt est une molécule de plus en plus attractive pour les chercheurs. Ses propriétés font d'elle un outil de choix dans les études des polymorphismes et le typage génétique. Le rôle de l'ADNmt dans les maladies monogéniques a été démontré, son implication dans les maladies multifactorielles sera progressivement élucidée.

VERSION ABREGEE EN ANGLAIS

Mitochondria are the intracellular organelles mainly responsible for the production of cellular energy (ATP). They play an important role in the regulation of cellular metabolism, apoptosis and oxidative stress control. Mitochondria harbour their own DNA, discovered in 1963. Mitochondrial DNA (mtDNA), a 16569 pb circular molecule, encodes 34 genes for two rRNA, 22 tRNA and 13 proteins forming part of respiratory chain complexes: I, III, IV and V.

The proteins of respiratory chain, located in mitochondrion inner-membrane, are also encoded by nuclear genome.

mtDNA has many special features which have made it attractive to scientists from many fields. (i) mtDNA has a high copy number in cell, ranges from 10 to 10.000 copies dependant to tissue type. (ii) mtDNA is Mendelian inheritance and follows maternal lineage because only mitochondria from ovule contribute to

the genetic makeup of the zygote. (iii) the mutation rate of mtDNA is 10 fold higher than that of nuclear genome due to the absence of histone, absence of mtDNA mechanism repair and oxidative damage by Reactive Oxygen Species (ROS) produced during oxidative phosphorylation reaction. The highest variability of the mtDNA is located in the displacement loop (D-Loop) composed of two segments: hypervariable segment one (HVS1) and hypervariable segment 2 (HVS2).

Thanks to its particular features, MtDNA is an important tool for anthropological genetics, phylogenetics, forensic and disease investigations.

Use of Human mtDNA as a molecular marker in human genetics and human evolution was pioneered by Wesley Brown and Douglas Wallace in the late 1970. mtDNA polymorphism studies in human populations were based initially, on restriction enzyme (RFLP) analysis. Low resolution restriction uses 5 to 6 enzymes whereas high resolution restriction mapping uses at less 12 enzymes. Sequence analysis of the mtDNA control region provided higher resolution. Later on, combined methods using sequence analysis, restriction mapping, SNP and phylogenetic analysis, were developed.

mtDNA studies from a wide range of Human populations have revealed a number of stable polymorphic sites. These define related groups of mtDNA called haplogroups. The majority of haplogroups have been shown to be continent specific. L1, L2 and L3 group sub-Saharan African lineages. H, I, J, K, T, U, V, W and X encompass almost all mtDNA from European North African and Western Asian Caucasians. Finally Haplogroups A, B, C, E, F, G and M embrace the majority of the lineages described for Asia, Oceania and Native Americans.

mtDNA is a useful tool to trace geographic distribution of genetic variation, for the investigation of expansions, migrations and other patterns of gene flows. Consequently, it was possible to suggest the origin of modern humans and to draw the story of the settlement of the Earth.

Due to its high copy number in cell, mtDNA has found widespread applications in forensic science. mtDNA analysis is especially useful for the analysis of teeth, bones and hair as well as highly degraded tissues that could not undergo successful nuclear DNA analysis. mtDNA is a powerful tool to identify human remains such as victims of Vietnam war, victims of Tsunami and criminal casework. Moreover, MtDNA was infor-

mative to resolve historic enigma such as the enigma of the Romanov family (Russian Tsar).

Nucleotide sequencing of HVS1 and HVS2 of the mtDNA control region is routine in forensic caseworks and large Human mtDNA databases were used for estimating the probability of identity by chance. Thus, it is important that mtDNA sequence databases continue to be expanded. Recently genotyping of SNP in the coding region of mtDNA has been adopted for increasing the power of discrimination between individuals sharing the same D-loop haplotype.

mtDNA is characterized by a high rate of polymorphism and mutation. Some of which are increasingly recognized as an important cause of human pathology. Mitochondrial diseases are related to one of the 60 nuclear genes and/or in one of the 37 mitochondrial genes. Mitochondrial mutations are reported in the human mitochondrial DNA database: MITOMAP. Mutations can be classified into large rearrangement (deletions, duplications, insertions) and mutations limited to a few base pairs.

Mitochondrial syndromes called oxidative phosphorylation (OXPHOS) disorders present a widespread clinical and genetic heterogeneity those increasing diagnosis difficulties. Most extensively OXPHOS disorders described, in literature, are: Kearns Sayre syndrome (KSS), MERRF syndrome (Myoclonic Epilepsy with Ragged Red Fibers), Leigh syndrome, MELAS syndrome (mitochondrial encephalopathy, lactic acidosis and stroke like episodes and NARP syndrome (Neuropathy, ataxia and retinis pigmentosa).

Besides OXPHOS diseases, rearrangement and nucleotide substitutions in the mitochondrial DNA play a critical role in the pathogenesis of maternally inherited diabetes and deafness (MIDD), Type 2 diabetes mellitus, neurodegenerative disorders, heart failure and cancer.

In conclusion, mtDNA is one of the most widely investigated genetic system, its proprieties provide a powerful tool for several applications. The role of mtDNA in monogenetic diseases is well established and its implication in the pathogenesis multifactor common disorders is progressively being elucidated.

REFERENCES

- 1- **S. Nas and M.M.K. Nas** (1963). Ultramitochondrial fibers with DNA characteristics. *J. Cell. Biol.*, **19**, 593- 629.
- 2- **S. Anderson, A.T. Bankier, B.G. Barrell, M.H. de Bruijn, A.R. Coulson, J. Drouin, I.C. Eperon, D. Nierlich, B.A. Roe, F. Sanger, P.H. Schreier, A.J. Smith, R. Staden and I.G. Young** (1981). Sequence and organization of the human mitochondrial genome. *Nature*, **290**, 457- 465.
- 3- **D.C. Wallace, M.D. Brown and M.T. Lott** (1999). Mitochondrial DNA variation in human evolution and disease. *Gene*, **238**, 211-230.
- 4- **D.C. Wallace** (2005). A mitochondrial paradigm of metabolic and degenerative diseases, aging, and cancer: a dawn for evolutionary medicine. *Annu. Rev. Genet.*, **39** 359-407.
- 5- **Y. Goto** (2001). Clinical and molecular studies of mitochondrial disease. *J. Inherit. Metab. Dis.*, **24**, 181-188.
- 6- **P. Reynier, P. May-Panloup, M.F. Chrétien, C.J. Morgan, M. Jean, F. Savagner, P. Barrière and Y. Malthiery** (2001). Mitochondrial DNA content affects the fertilizability of human oocytes. *Mol. Hum. Reprod.*, **7**, 425-429.
- 7- **J.W. Taanman** (1999). The mitochondrial genome: Structure, transcription, translation and replication. *Biochim. Biophys. Acta.*, **1410**, 103-123.
- 8- **C. Saccone** (2000). Evolution of the mitochondrial genetic system: an overview. *Gene*, **261**, 153-159.
- 9- **D. Ojala, J. Montoya and G. Attardi** (1981). tRNA punctuation model of RNA processing in human mitochondria. *Nature*, **290**, 470-474.
- 10- **M. Ingman, H. Kaessmann, S. Paabo and U. Gyllensten** (2000). Mitochondrial genome variation and the origin of modern humans. *Nature*, **408**, 708-713.
- 11- **D.L. Croteau, R.H. Stierum and V.A. Bohr** (1999). Mitochondrial DNA repair pathways. *Mutat. Res.*, **434**, 137-148.
- 12- **M.L. Genova, M.M. Pich, A. Bernacchia, C. Bianchi, A. Biondi, C. Bovina, A.I. Falasca, G. Formiggini, G.P. Castelli and G. Lenaz** (2004). The mitochondrial production of reactive oxygen species in relation to aging and pathology. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **1011**, 86-100.
- 13- **S. Sigurgardottir, A. Helgason, J.R. Gulcher, K. Stefansson and P. Donnelly** (2000). The mutation rate in the human mtDNA control region. *Am. J. Hum. Genet.*, **66** 1599-1609.
- 14- **L. Vigilant, M. Stoneking, H. Harpending, K. Hawkes and A.C. Wilson** (1991). African populations and the evolution of human mitochondrial DNA. *Science*, **253**, 1503-1507.

- 15- **S. Horai, K. Hayasaka, R. Kondo, K. Tsugane and N. Takahata** (1995). Recent African origin of modern humans revealed by complete sequences of hominoid mitochondrial DNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **92**, 532-536.
- 16- **M. Stoneking** (2000). Hypervariable sites in the mtDNA control region are mutational hotspot. *Am. J. Hum. Genet.*, **67**, 1029-1032.
- 17- **M.S. Fliss, H. Usadel, O.L. Caballero, L. Wu, M.R. Buta, S.M. Eleff, J. Jen and D. Sidransky** (2000). Facile detection of mitochondrial DNA mutations in tumors and bodily fluids. *Science*, **287**, 2017-2019.
- 18- **S. Meyer and A. Von Haeseler** (2003). Identifying site-specific substitution rates. *Mol. Biol. Evol.*, **20**, 182-189.
- 19- **L. Excoffier and Z. Yang** (1999). Substitution rate variation among sites in mitochondrial hypervariable region I of humans and chimpanzees. *Mol. Biol. Evol.*, **16**, 1357-1368.
- 20- **V.A. Macaulay, M.B. Richards, P. Forster, K.E. Bendall, E. Watson, B. Sykes and H.J. Bandelt** (1997). mtDNA mutation rates-no need to panic. *Am. J. Hum. Genet.*, **61**, 983-990.
- 21- **J.M. Cummins** (2000). Fertilization and elimination of the paternal mitochondrial genome. *Hum. Reprod.*, **15**, 92-101.
- 22- **A. Eyre-Walker and P. Awadalla** (2001). Does human mtDNA recombine? *J. Mol. Evol.*, **53**, 430-435.
- 23- **E. Hagelberg, N. Goldman, P. Lio, S. Whelan, W. Schiefenhovel, J.B. Clegg and D.K. Bowden** (2000). Evidence for mitochondrial DNA recombination in a human population of island Melanesia. *Proc. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.*, **267**, 1595-1596.
- 24- **S. Kumar, P. Hedrick, T. Dowling and M. Stoneking** (2000). Questioning evidence for recombination in human mitochondrial DNA. *Science*, **288**, 1931-1931.
- 25- **M. Filosto, M. Mancuso, C. Vives-Bauza, M.R. Vila, S. Shanske, M. Hirano, A.L. Andreu and S. DiMauro** (2003). Lack of paternal inheritance of muscle mitochondrial DNA in sporadic mitochondrial myopathies. *Ann. Neurol.*, **54**, 524-526.
- 26- **G. Piganeau and A. Eyre-Walker** (2004). reanalysis of the indirect evidence for recombination in human mitochondrial DNA. *Heredity*, **92**, 282-288.
- 27- **M.J. Johnson, D.C. Wallace, S.D. ferris, M.C. Rattazi and L.L. Cavalli-Sforza** (1983). Radiation of Human mitochondrial DNA types analysed by restriction endonuclease cleavage patterns. *J. Mol. Evol.*, **19**, 255-271.
- 28- **A. Torroni, T. Schurr, M. Cabell, M. Brown, J. Neel, M. Larsen, D. Smith, C. Vullo and D. Wallace** (1993). Asian affinities and continental radiation of the four founding native american mtDNAs. *Am. J. Hum. Genet.*, **53**, 563-590.
- 29- **H.J. Bandelt, P. Forster and A. Rohl** (1993). Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Mol. Biol. Evol.*, **16**, 37-48.
- 30- **S. Plaza, F. Calafell, A. Helal, N. Bouzerna, G. Lefranc, J. Bertranpetit and D. Comas** (2003). Joining the pillars of Hercules: mtDNA sequences show multidirectional gene flow in the western Mediterranean. *Ann. Hum. Genet.*, **67**, 312-328.
- 31- **N. Maca-Meyer, A.M. González, J. Pestano, C. Flores, J.M. Larruga and V.M. Cabrera** (2003). Mitochondrial DNA transit between West Asia and North Africa inferred from U6 phylogeography. *BMC. Genet.*, **4**, 15.
- 32- **A. Torroni, K. Huoponen, P. Francalacci, M. Petrozzi, L. Morelli, R. Scozzari, D. Obinu, M.L. Savontaus and D. Wallace** (1996). Classification of European mt dans from an analysis of three European populations. *Genetics*, **144**, 1835-1850.
- 33- **A. Olivieri, A. Achilli, M. Pala, V. Battaglia, S. Fornarino, N. Al-Zahery, R. Scozzari, F. Cruciani, D.M. Behar, J.M. Dugoujon, C. Coudray, A.S. Santachiara-Benerecetti, O. Semino, H.J. Bandelt and A. Torroni** (2006). The mtDNA legacy of the Levantine early Upper Palaeolithic in Africa. *Science*, **314**, 1767-1770.
- 34- **R.L. Cann, M. Stoneking and A.C. Wilson** (1987). Mitochondrial DNA and human evolution. *Nature*, **325**, 31-36.
- 35- **P. Darlu and P. Tassy** (1987). Disputed African origin of human populations. *Nature*, **329**, 111-112.
- 36- **L. Excoffier and A. Langaney** (1989). Origin and differentiation of human mitochondrial DNA. *Am. J. Hum. Genet.*, **44**, 73-4485.
- 37- **S.B. Hedges, S. Kumar, K. Tamura and M. Stoneking** (1992). Human origins and analysis of mitochondrial DNA sequences. *Science*, **255**, 737-739.

- 38- H. Chaabani (2002). GM polymorphism and the evolutionary history of modern humans. *Ann. Genet.*, **45**, 197-206.
- 39- Y.S. Chen, A. Olckers, T.G. Schurr, A.M. Kogelnik, K. Huoponen and D.C. Wallace (2000). mtDNA variation in the South African Kung and Khwe-and their genetic relationships to other African populations. *Am. J. Hum. Genet.*, **66**, 1362-1383.
- 40- H. Blanc, K.H. Chen, M.A. D'Amore and D.C. Wallace (1983). Amino acid change associated with the major polymorphic Hinc II site of Oriental and Caucasian mitochondrial DNAs. *Am. J. Hum. Genet.*, **35**, 167-176.
- 41- B. Bonn -Tamir, M.J. Johnson, A. Natali, D.C. Wallace and L.L. Cavalli-Sforza (1986). Human mitochondrial DNA types in two Israeli populations--a comparative study at the DNA level. *Am. J. Hum. Genet.*, **38**, 341-351.
- 42- A. Brega, R. Gardella, O. Semino, G. Morpurgo, G.B. Astaldi Ricotti, D.C. Wallace and A.S. Santachiara Benerecetti (1986). Genetic studies on the Tharu population of Nepal: restriction endonuclease polymorphisms of mitochondrial DNA. *Am. J. Hum. Genet.*, **39**, 502-512.
- 43- H. Chaabani (2008). The modern man : a revision of his definition and a new estimation of his emergence date. *Int. J. Mod. Anthropol.*, **1**, 1-123.
- 44- L. Quintana-Murci, O. Semino, H.J. Bandelt, G. Passarino, K. McElreavey and A.S. Santachiara-Benerecetti (1999). Genetic evidence of an early exit of Homo sapiens sapiens from Africa through eastern Africa. *Nat. Genet.*, **23**, 437-441.
- 45- A. Stevanovitch, A. Gilles, E. Bouzaid, R. Kefi, F. Paris, R.P. Gayraud, J.L. Spadoni, F. El-Chenawi and E. Beraud-Colomb (2004). Mitochondrial DNA sequence diversity in a sedentary population from Egypt. *Ann. Hum. Genet.*, **68**, 23-39.
- 46- R. Kefi, A. Stevanovitch, E. Bouzaid and E. B raud-Colomb (2005). Diversit  mitochondriale de la population de Taforalt (12.000 ans, Maroc) : une approche g n tique   l tude du peuplement de l'Afrique du Nord. *Anthropologie*, **1**, 55-64.
- 47- D. Comas, E. Calafell Mateu, A. P rez-Lezaun, E. Bosch and J. Bertranpetit (1997). Mitochondrial DNA variation and the origin of the Europeans. *Hum. Genet.*, **99**, 443-449.
- 48- L. Simoni, F. Calafell, D. Pettener, J. Bertranpetit and G. Barbujani (2000). Geographic patterns of mtDNA diversity in Europe. *Am. J. Hum. Genet.*, **66**, 262-278.
- 49- M. Richards, V. Macaulay, E. Hickey, E. Vega, B. Sykes, V. Guida, C. Rengo, D. Sellitto, F. Cruciani, T. Kivisild, R. Villems, M. Thomas, S. Rychkov, O. Rychkov, Y. Rychkov, M. G lge, D. Dimitrov, E. Hill, D. Bradley, V. Romano, F. Cali, G. Vona, A. Demaine, S. Papiha, C. Triantaphyllidis, G. Stefanescu, J. Hatina, M. Belledi, A. Di Rienzo, A. Novelletto, A. Oppenheim, S. N rby, N. Al-Zaheri, S. Santachiara-Benerecetti, R. Scozzari, A. Torroni and H.J. Bandelt (2000). Tracing European founder lineages in the Near Eastern mtDNA pool. *Am. J. Hum. Gene.*, **67**, 1251-1276.
- 50- A. Torroni, H.J. Bandelt, L. D'Urbano, P. Lahermo, P. Moral, D. Sellitto, C. Rengo, P. Forster, M.L. Savontaus, B. Bonn -Tamir and R. Scozzari (1998). mtDNA analysis reveals a major late Paleolithic population expansion from southwestern to northeastern Europe. *Am. J. Hum. Genet.*, **62**, 1137-1152.
- 51- A. Torroni, H.J. Bandelt, V. Macaulay, M. Richards, F. Cruciani, C. Rengo, V. Martinez-Cabrera, R. Villems, T. Kivisild, E. Metspalu, J. Parik, H.V. Tolk, K. Tambets, P. Forster, B. Karger, P. Francalacci, P. Rudan, B. Janicijevic, O. Rickards, M.L. Savontaus, K. Huoponen, V. Laitinen, S. Koivum ki, B. Sykes, E. Hickey, A. Novelletto, P. Moral, D. Sellitto, A. Coppa, N. Al-Zaheri, A.S. Santachiara-Benerecetti, O. Semino and R. Scozzari (2001). A signal, from human mtDNA, of postglacial recolonization in Europe. *Am. J. Hum. Genet.*, **69**, 844-852.
- 52- A.M. Gonz lez, A. Brehm, J.A. P rez, N. Maca-Meyer, C. Flores and V.M. Cabrera (2003). Mitochondrial DNA affinities at the Atlantic fringe of Europe. *Am. J. Phys. Anthropol.*, **120**, 391- 404.
- 53- M.R. Wilson, J.A. DiZinno, D. Polanskey, J. Replogle and B. Budowle, (1995). Validation of mitochondrial DNA sequencing for forensic casework analysis. *Int. J. Legal. Med.*, **108**, 68-74.
- 54- M.M. Holland, D.L. Fisher, L.G. Mitchell, W.C. Rodriquez, J.J. Canik, C.R. Merrill and V.W. Weedn (1993). Mitochondrial DNA sequence analysis of human skeletal remains: identification of remains from the Vietnam War. *J. Forensic. Sci.*, **38**, 542-553.
- 55- S. Lutz, H.J. Weissner, J. Heizmann and S. Pollak (1996). mtDNA as a tool for identification of

- human remains. Identification using mtDNA. *Int. J. Legal. Med.*, **109**, 205-209.
- 56- **K. Bender, P.M. Schneider and C. Rittner** (2000). Application of mtDNA sequence analysis in forensic casework for the identification of human remains. *Forensic. Sci. Int.*, **113**, 103-107.
 - 57- **Y.J. Deng, Y.Z. Li, X.G. Yu, L. Li, D.Y. Wu, J. Zhou, T.Y. Man, G. Yang, J.W. Yan, D.Q. Cai, J. Wang, H.M. Yang, S.B. Li and J. Yu** (2005). Preliminary DNA identification for the tsunami victims in Thailand. *Genomics Proteomics Bioinformatics*, **3**, 143-157.
 - 58- **P. Gill, P.L. Ivanov, C. Kimpton, R. Piercy, N. Benson, G. Tully, I. Evett, E. Hagelberg and K. Sullivan** (1994). Identification of the remains of the Romanov family by DNA analysis. *Nat. Genet.*, **6**, 130-135.
 - 59- **K.L. Monson, W.P. Miller, M.R. Wilson, J.A. Dizinno and B. Budowle** (2002). The mtDNA Population Database : An Integrated Software and Database Ressources for Forensic Comparison. *Forensic Science Communications*, **4**(2).
 - 60- **W. Parson and A. Dur** (2007). EMPOP--A forensic mtDNA database. *Forensic Science International: Genetics*, **1**, 88-92.
 - 61- **M. Nilsson, H. Andréasson-Jansson, M. Ingman and M. Allen** (2008). Evaluation of mitochondrial DNA coding region assays for increased discrimination in forensic analysis. *Forensic Science International: Genetics*, **2**, 1-8.
 - 62- **W. Parson, L. Fendt, D. Ballard, C. Børsting, B. Brinkmann, Á. Carracedo, M. Carvalho, M.D. Coble, F. Corte Real, S. Desmyter, B.M. Dupuy, C. Harrison, C. Hohoff, R. Just, T. Krämer, N. Morling, A. Salas, H. Schmitter, P.M. Schneider, M. Sonntag, P.M. Vallone and A. Brandstätter** (2008). Identification of West Eurasian mitochondrial haplogroups by mtDNA SNP screening: Results of the 2006-2007 EDNAP collaborative exercise. *Forensic Science International: Genetics*, **2**, 61-68.
 - 63- **D.C. Chan** (2006). Mitochondria: dynamic organelles in disease, aging, and development. *Cell*, **125**, 1241-1252.
 - 64- **B.H. Cohen and D.R. Gold** (2001). Mitochondrial cytopathy in adults: what we know so far. *Cleve. Clin. J. Med.*, **68**, 625-626.
 - 65- **W. Sperl, P. Jesina, J. Zeman, J.A. Mayer, L. Demeirleir, R. VanCoster, A. Pickova, H. Hansikova, Houst'kova, Z. Krejci, J. Koch, J. Smet, W. Muss, E. Holme and J. Houstek** (2006). Deficiency of mitochondrial ATP synthase of nuclear genetic origin. *Neuromuscul. Disord.*, **16**, 821-829.
 - 66- **S. DiMauro and E.A. Schon** (2003). Mitochondrial respiratory-chain diseases. *N. Engl. J. Med.*, **348**, 2656-2668.
 - 67- **L.J. Jacobs, G. de Wert, J.P. Geraedts, I.F. de Coe and H.J. Smeets** (2006). The transmission of OXPHOS disease and methods to prevent this. *Hum. Reprod.*, **12**, 119-136.
 - 68- **G.M. Enns, R.K. Bai, A.E. Beck and L.J. Wong** (2006). Molecular clinical correlation in family with variable tissue mitochondrial DNA T8993G mutation load. *Mol. Genet. Metab.*, **88**, 364-371.
 - 69- **F.J. Carod-Artal, E. Lopez Gallardo, A. Solano, Y. Dahmani, M.D. Herrero and J. Montoya** (2006). Mitochondrial DNA deletions in Kearns-Sayre syndrome. *Neurologia*, **21**, 357-364.
 - 70- **N. Howell, R.J. Ootra, P.A. Bolhuis, L. Spruijt, L.A. Clarke, D.A. Mackey, G. Preston and C. Herrnstadt** (2003). Sequence analysis of the mitochondrial genomes from Dutch pedigrees with Leber hereditary optic neuropathy. *Am. J. Hum. Genet.*, **72**, 1460-1469.
 - 71- **A. Gropman, T.J. Chen, C.L. Perng, D. Krasnewich, E. Chernoff, C. Tift and L.J. Wong** (2004). Variable clinical manifestation of homoplasmic G14459A mitochondrial DNA mutation. *Am. J. Med. Genet.*, **124A**, 377-382.
 - 72- **J.M. Shoffner, M.T. Lott, A.M. Lezza, P. Seibel, S.W. Ballinger and D.C. Wallace** (1990). Myoclonic epilepsy and ragged-red fiber disease (MERRF) is associated with a mitochondrial DNA t RNA (Lys) mutation. *Cell*, **61**, 931-937.
 - 73- **D.M. Kirby, S.G. Kahler, M.L. Freckmann, D. Reddihough and D.R. Thorburn** (2000). Leigh disease caused by the mitochondrial DNA G14459A mutation in unrelated families. *Ann. Neurol.*, **48**, 102-104.
 - 74- **C. Ugalde, R. Hinttala, S. Timal, R. Smeets, R.J. Rodenburg, J. Uusimaa, L.P. van Heuvel, L.G. Nijtmans, K. Majamaa and J.A. Smeitink** (2007). Mutated ND2 impairs mitochondrial complex I assembly and leads to Leigh Syndrome. *Mol. Genet. Metab.*, **90**, 10-14.
 - 75- **J. Finster** (2007). Genetic, pathogenetic, and phenotypic implications of the mtA3243G tRNA leu(UUR) mutation. *Acata. Neurol. Scand.*, **116**, 1-14.

- 76- B.H. Viallettes, V. Paquis-Flucklinger, J.F. Pelissier, D. Bendahan, H. Narbonne, P. Silvestre-Aillaud, M. Montfort, M. Righini-Chossegros, J. Pouget, P.J. Cozzone and C. Desnuelle (1997). Phenotypic expression of diabetes secondary to a T14709C mutation of mitochondrial DNA. Comparison with MIDD syndrome (A3243G mutation): a case report. *Diabetes Care*, **20**, 1731-1737.
- 77- K. Kameoka, H. Isotani, K. Tanaka, K. Azukari, Y. Fujimura, Y. Shiota, E. Sasaki, M. Majima, K. Furukawa, S. Haginomori, H. Kitaoka and N. Ohsawa (1998). Novel mitochondrial DNA mutation in tRNA(Lys) (8296A-->G) associated with diabetes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **245**, 523-527.
- 78- J.A. Maassen, L.M. 'T Hart, E. Van Essen, R.J. Heine, G. Nijpels, R.S. Jahangir Tafrechi, A.K. Raap, G.M. Janssen and H.H. Lemkes (2004). Mitochondrial diabetes: molecular mechanisms and clinical presentation. *Diabetes*, **1**, 103-109.
- 79- B.B. Lowell and G.I Shulman (2005). Mitochondrial dysfunction and type 2 diabetes. *Science*, **307**, 384-387.
- 80- F.H. Wilson, A. Hariri, A. Farhi, H. Zhao, K.F. Petersen, H.R. Toka, C. Nelson-Williams, K.M. Raja, M. Kashgarian, G.I. Shulman, S.J. Scheinman and R.P. Lifton (2004). A cluster of metabolic defects caused by mutation in a mitochondrial tRNA. *Science*, **306**, 1190-1194.
- 81- C. Zhang, A. Lee, V.W. Liu, S. Pepe, F. Rosenfeldt and P. Nagley (1999). Mitochondrial DNA deletions in human cardiac tissue show a gross mosaic distribution. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **254**, 152-157.
- 82- H. Kokotas, M.B. Petersen and P.J. Willems (2007). Mitochondrial deafness. *Clin. Genet.*, **71**, 379-391.
- 83- X. Jin, J. Zhang, Y. Gao, K. Ding, N. Wang, D. Zhou, J. Jen and S. Cheng (2007). Relationship between mitochondrial DNA mutations and clinical characteristics in human lung cancer. *Mitochondrion*, **7**, 347-353.
- 84- J.B. Jones, J.J. Song, P.M. Hempen, G. Parmigiani, R.H. Hruban and S.E. Kern (2001). Detection of mitochondrial DNA mutations in pancreatic cancer offers a massive advantage over detection of nuclear DNA mutations. *Cancer Res.*, **61**, 1299-1304.
- 85- K.K. Abu-Amero, A.S. Alzahrani, M. Zou and Y. Shi (2006). Association of mitochondrial DNA transversion mutations with familial medullary thyroid carcinoma/multiple endocrine neoplasia type 2 syndrome. *Oncogene*, **25**, 677-684.
- 86- W. Habano, T. Sugai, S.I. Nakamura, N. Uesugi, T. Yoshida and S. Sasou (2000). Microsatellite instability and mutation of mitochondrial and nuclear DNA in gastric carcinoma. *Gastroenterology*, **118**, 835-841.
- 87- K. Darvishi, S. Sharma, A.K. Bhat, E. Rai and R.N. Bamezai (2007). Mitochondrial DNA G10398A polymorphism imparts maternal Haplogroup N a risk for breast and esophageal cancer. *Cancer Lett.*, **249**, 249-255.
- 88- L.M. Booker, G.M. Habermacher, B.C. Jessie, Q.C. Sun, Baumann AK, Amin M, Lim SD, Fernandez-Golarz C, Lyles RH, Brown MD, Marshall FF and J.A. Petros (2006). North American white mitochondrial haplogroups in prostate and renal cancer. *J. Urol.*, **175**, 468-472.
- 89- X.Y. Li, M. Su, H.H. Huang, H. Li, D.P. Tian and Y.X. Gao (2007). mtDNA evidence: genetic background associated with related populations at high risk for oesophageal cancer between Chaoshan and Taihang Mountain areas in China. *Genomics*, **90**, 474-481.