

Doenças Mitocondriais

Ibrahim E. Nasseh¹

Célia H. Tengan²

Beatriz H. Kiyomoto²

Alberto Alain Gabbai³

RESUMO

As doenças mitocondriais são um capítulo relativamente recente no estudo das doenças humanas e seu entendimento fisiopatológico necessita de uma abordagem genética de cada paciente. O correto funcionamento das mitocôndrias depende da interação de dois genomas, o nuclear e o mitocondrial. Nesta revisão oferecemos uma introdução sobre genética mitocondrial, a atual classificação das doenças mitocondriais, discorrendo brevemente sobre as apresentações clínicas.

Unitermos: Mitocôndria, citocromo-c oxidase, DNA mitocondrial, doenças mitocondriais.

Introdução

A primeira doença mitocondrial foi descrita por Ernester *et al.*¹, em 1959, sobre um paciente eutiroideano que apresentava longo histórico de sintomas relacionados a um estado de permanente hipermetabolismo com alterações morfológicas e bioquímicas da mitocôndria (doença de Luft). Somente na década de 1970 é que outras doenças mitocondriais começaram a ser descritas, principalmente seus aspectos bioquímicos. O termo “encefalomiopatia mitocondrial” foi introduzido em 1977 por Shapira *et al.*². Apesar de o conhecimento de que a mitocôndria possui seu próprio DNA (DNAm) ser antigo³ (1963), a caracterização completa da seqüência nucleotídica do DNAm humano só foi desvendada em 1981 por Anderson *et al.*⁴. Essa descoberta tornou possível fazer a ligação entre as alterações bioquímicas, estruturais e histopatológicas das doenças, até então descritas, com várias mutações do DNAm. As primeiras descrições de mutações no DNAm deram-se

em 1988, com os trabalhos de Holt *et al.*⁵ e Wallace *et al.*⁶. Até 1992, apenas 5 mutações haviam sido descritas. Em 9 anos de pesquisa, a partir de então mais de 100 mutações de ponto diferentes foram publicadas (128 mutações descritas até abril de 2001)⁷ e muito mais ainda se espera descobrir com o seqüenciamento do genoma nuclear humano, pois o correto funcionamento e a estrutura da mitocôndria dependem da perfeita integridade e interação dos dois genomas (mitocondrial e nuclear).

As mitocôndrias são organelas intracitoplasmáticas envoltas por duas membranas e estão presentes na quase totalidade das células eucariontes. A principal função atribuída à mitocôndria é a de prover energia à célula. Estima-se que mais de 90% do ATP necessário aos diversos propósitos biológicos seja produzido por essa organela. Além disso, estão também envolvidas com a biossíntese de pirimidinas e do grupo heme da hemoglobina (por meio de enzimas específicas), bem como com o metabolismo de colesterol e

¹ Pós-graduando da Disciplina de Neurologia da Escola Paulista de Medicina – Unifesp.

² Doutora em Medicina da Disciplina de Neurologia da Escola Paulista de Medicina – Unifesp.

³ Professor Titular e Chefe da Disciplina de Neurologia da Escola Paulista de Medicina – Unifesp.

neurotransmissores. Têm ainda funções na produção de radicais livres para propósitos específicos na célula (sinalização celular e processo inflamatório) e na detoxicação desses mesmos radicais em outras situações.

A produção de energia ocorre devido a um processo chamado de fosforilação oxidativa, que se baseia no transporte e na utilização de determinados substratos por vários complexos enzimáticos. Os dois principais substratos oxidados para o fornecimento de energia são o piruvato (produto da glicólise) e os ácidos graxos livres. Os sistemas enzimáticos que os oxidam são: complexo enzimático piruvato desidrogenase e beta-oxidativo respectivamente, sendo o último ainda dependente de várias etapas intermediárias em que a carnitina é necessária. A oxidação desses produtos fornece acetil-CoA para o ciclo de Krebs, provendo elétrons livres de alta energia que são carreados à cadeia respiratória. Os elétrons passam, então, por esta cadeia ordenada de moléculas e proteínas até seu aceptor final, o oxigênio. Nesse processo, os elétrons vão “perdendo” progressivamente energia, que por sua vez é “captada” e armazenada na forma de ATP. Quatro complexos enzimáticos são conjuntamente chamados de cadeia respiratória: Complexo I (NADH-coenzima Q oxirredutase), Complexo II (succinato-ubiquinona oxirredutase), Complexo III (ubiquinona-citocromo-c oxirredutase), Complexo IV (citocromo-c oxidase-COX), dois transportadores de elétrons móveis, a coenzima Q10 (ubiquinona) e o citocromo-c. Um quinto complexo enzimático completa, então, a fosforilação oxidativa: o Complexo V (ATP sintetase).

As doenças mitocondriais são doenças por deficiência mitocondrial primária. Já foram descritas várias alterações bioquímicas causadoras dessas doenças⁸. As doenças mitocondriais mais estudadas e mais comuns, em seu conjunto clínico, são as que afetam a cadeia respiratória, sendo estas o foco desta revisão.

O conhecimento das características do genoma mitocondrial e sua genética são importantes para a compreensão da apresentação clínica e das variações dessas doenças. O DNAm^t é uma molécula circular de 16569pb e codifica 13 subunidades protéicas da cadeia respiratória, 22 tRNAs e dois genes para RNA ribossômicos⁴. O DNAm^t é responsável por somente 15% da síntese de proteínas da cadeia respiratória, o restante é feito pelo DNA nuclear (DNAn). O único complexo respiratório que apresenta todas as subunidades codificadas pelo DNAn é o complexo II, succinato desidrogenase. Ao contrário do DNAn, o DNAm^t é transmitido exclusivamente pela linhagem

materna; assim, a herança materna é altamente sugestiva de um defeito no DNAm^t. Cada mitocôndria pode conter de 5 a 10 genomas mitocondriais, e cada célula, dezenas a centenas de moléculas, dependendo do tecido. Assim, quando existe uma mutação no DNAm^t, a célula pode apresentar 100% de DNAm^t mutado ou 100% de DNAm^t normal, condição denominada de homoplasmia; ou pode apresentar uma mistura dos dois tipos de DNAm^t, mutado e normal, condição denominada de heteroplasmia. A transmissão do DNAm^t mutado ocorre durante a divisão das mitocôndrias, e a proporção de mutante passado para cada célula filha é aleatória (segregação mitótica). O que determina se a célula ou o tecido serão afetados são a proporção de mutante e o limiar de cada célula ou tecido. Assim, geralmente são necessários altos níveis de DNAm^t mutado para que a célula apresente uma deficiência na sua função. Entretanto, os níveis necessários para que a célula se torne deficiente (limiar) dependem do tipo de tecido e do tipo de mutação. Os tecidos que apresentam grande requerimento energético, como o cérebro e os músculos esquelético e cardíaco, apresentam um limiar mais baixo quando comparados com aqueles com menor requerimento energético, como células hematopoiéticas.

São necessários cerca de 3.000 genes para fazer uma mitocôndria. Desses, somente 37 são codificados pelo DNAm^t; o restante (a maioria) é codificado pelo núcleo, sintetizado no citoplasma e posteriormente transportado para dentro da mitocôndria. O DNAn é responsável pela síntese de proteínas que terão funções diversas na mitocôndria, desde a participação na estrutura da mitocôndria até o controle da replicação e da transcrição do DNAm^t. Assim, o funcionamento perfeito da mitocôndria depende da interação adequada dos dois genomas. As doenças mitocondriais são o resultado de mutações herdadas ou espontâneas do DNAm^t ou DNAn, levando à função anormal de proteínas ou moléculas de RNA que normalmente se localizam na mitocôndria.

Classificação genética das doenças mitocondriais

As doenças mitocondriais podem ser classificadas geneticamente quando forem:

1. de aparecimento esporádico (por rearranjos do DNAm^t-duplicações ou deleções);
2. por herança materna (tipicamente por mutações de ponto no DNAm^t);
3. por herança mendeliana (tipicamente por defeitos do DNA nuclear).

Aparecimento esporádico (DNAmT)

As mutações esporádicas causadoras de encefalomiopatia mitocondrial descritas até o momento acometem apenas o DNAmT e não são vistas no DNA nuclear. Os exemplos típicos são a síndrome de Kearns-Sayre (SKS), a oftalmoplegia externa crônica progressiva (OECP) e a síndrome de Pearson.

Oftalmoplegia, ptose e miopatia com fibras rajadas de vermelho (*ragged-red fiber RRF*) representam a tríade clínica que é altamente sugestiva de mutações do DNA mitocondrial (DNAmT). Pacientes com essas manifestações podem ser classificados em três grupos, de acordo com a época do início dos sintomas e a gravidade de suas manifestações clínicas. A variante mais grave é a síndrome de Kearns-Sayre (SKS), que é caracterizada por início antes dos 20 anos de idade, oftalmoplegia e retinite pigmentosa, acrescentando-se um dos seguintes comprometimentos: ataxia, hiperproteïnorrquia ou bloqueio completo cardíaco. Outros sintomas incluem: *diabetes mellitus* (DM), surdez e sinais de neurodegeneração. Alguns indivíduos apresentaram na infância uma variante atípica designada como síndrome de Pearson caracterizada por anemia sideroblástica, leucopenia, trombocitopenia e insuficiência pancreática exócrina, sendo a gravidade desses sintomas muito variável, podendo inclusive levar à morte. Os pacientes com a síndrome de Pearson, quando sobrevivem, desenvolvem, posteriormente, a síndrome de Kearns-Sayre.

Uma variante intermediária é a OECP, que se manifesta principalmente com oftalmoplegia, ptose e discreta fraqueza muscular apendicular, geralmente iniciando no adulto jovem, e é lentamente progressiva. A causa mais comum da SKS, da OECP e da síndrome de Pearson é um rearranjo no DNAmT e consiste em deleção ou duplicação do DNAmT (as duplicações e as deleções podem ser encontradas concomitantemente no mesmo paciente). A deleção do DNAmT consiste na perda de uma parte da molécula, frequentemente afetando o gene de um tRNA e um gene contíguo que codifica uma subunidade de proteínas da cadeia respiratória. Aproximadamente, 80% dos pacientes com SKS e 70% dos pacientes com OECP albergam rearranjos do DNAmT. Esses rearranjos parecem estar associados a uma mutação espontânea que ocorre depois da fertilização do óocito, não tendo sido identificada nenhuma herança materna. Embora os rearranjos do DNAmT sejam as causas mais frequentes dessas síndromes, mutações de ponto já foram identificadas também como possíveis causadoras dessa síndrome.

Herança materna

É neste grupo que se incluem as síndromes clínicas clássicas das doenças mitocondriais caracterizadas por uma mutação de ponto localizada em diversos sítios do DNAmT. Até o momento já foram descritas 128 mutações, e as mais frequentes são a A3243G, a A8344G e a T8996G. É o grupo de doenças mitocondriais mais ostensivamente estudado. Incluem-se nesse as seguintes síndromes clínicas:

1. epilepsia mioclônica e miopatia com RRF (*myoclonic epilepsy and ragged-red fiber, MERRF*);
2. encefalomiopatias mitocondriais, acidose láctica e episódios similares a acidentes vasculares cerebrais (*mitochondrial encephalomyopathy, lactic acidosis and stroke-like episodes, MELAS*);
3. doença de Leigh e neuropatia, ataxia, retinite pigmentosa – NARP;
4. Neuropatia óptica hereditária de Leber (*Leber's hereditary optic neuropathy, LHON*).

Epilepsia mioclônica e miopatia com RRF (myoclonic epilepsy and ragged-red fiber, MERRF⁹)

A síndrome MERRF pode se iniciar em qualquer idade. As manifestações clínicas que são mais comumente associadas ao diagnóstico de MERRF são a epilepsia (com crises mioclônicas generalizadas ou focais), a ataxia cerebelar e a miopatia. Seu curso é progressivo e a biópsia muscular mostra RRF. Outras manifestações incluem: demência, atrofia óptica, degeneração dos tratos corticoespinhais, neuropatia periférica, surdez, disfunção tubular proximal, cardiomiopatia, acidose láctica e hiperalaninemia. As mioclonias ocorrem em repouso e aumentam de frequência e amplitude com os movimentos, podendo ser associadas a descargas epileptiformes de grande amplitude na região occipital, que pioram com a fotoestimulação. Potenciais evocados somatossensitivos corticais gigantes também podem ser vistos nessa patologia. Oitenta a 90% dos casos de MERRF são decorrentes da mutação de ponto A8344G no DNAmT, o qual codifica o tRNA^{Lys}. Uma pequena porcentagem dos casos de MERRF alberga a mutação T8356C do DNAmT.

Encefalomiopatia mitocondrial, acidose láctica e episódios similares a acidentes vasculares cerebrais (mitochondrial encephalomyopathy, lactic acidosis and stroke-like episodes, MELAS⁹)

As manifestações dessa doença podem aparecer em qualquer idade, mas ocorrem, principalmente, antes dos 45 anos, sendo um diagnóstico diferencial

de acidente vascular cerebral (AVC) em jovens. Esses pacientes apresentam-se com AVCs que geralmente não respeitam território vascular, acometendo tanto pequenas como grandes artérias, e estão associados por vezes a convulsões e/ou enxaqueca. O diagnóstico dessa doença, às vezes, pode ser difícil, uma vez que sintomas de envolvimento multissistêmico presentes nas doenças mitocondriais, como miopatia, ataxia, cardiomiopatia, *diabetes mellitus*, retinite pigmentosa, defeitos no túbulo renal proximal, acidose láctica e hiperalaninemia, podem estar ausentes. A ataxia cerebelar é frequentemente observada em pacientes com MELAS e pode preceder em muitos anos o aparecimento de episódios de AVC. Assim, um estudo genético é essencial para o diagnóstico.

Uma mutação no gene para o RNA transportador da leucina (tRNA^{Leu}^{UUR}), levando à troca de A por G na posição do nucleotídeo 3243 do DNAm (A3243G), é responsável por cerca de 80% dos casos de MELAS. A mutação na posição 8356 no RNA transportador da lisina (tRNA^{Lys}) foi associada tanto com MERRF quanto com MELAS. Uma característica importante da mutação A3243G, bem como de alguns rearranjos do DNAm, é que elas podem estar associadas à presença de *diabetes mellitus*. Essa mutação também foi vista como causa de SKS e de OECP.

Doença de Leigh e neuropatia, ataxia, retinite pigmentosa – NARP⁹

Podemos suspeitar de doença de Leigh ou encefalopatia necrotizante subaguda quando houver uma associação de anormalidades de nervos cranianos, disfunção respiratória e ataxia associada a imagens de ressonância magnética mostrando sinais hiperintensos em T2 que acometem simetricamente gânglios da base, cerebelo ou tronco cerebral. É uma doença de herança materna e pode estar associada também a atraso do desenvolvimento neuropsicomotor, hipotonia, crises convulsivas, ataxia, sinais piramidais, cardiopatia hipertrófica, níveis elevados de lactato de alanina no sangue e/ou urina e retinite pigmentosa. O início das manifestações geralmente ocorre na infância. Duas mutações do DNA mitocondrial são as mais importantes causas dessa doença, a T8993G ou a T8993 no gene da ATPase 6. A mutação T8993G é a mais frequente e faz substituir o aminoácido leucina por arginina na cadeia polipeptídica da ATPase 6, gerando uma disfunção na síntese de ATP. Essa mutação só causa sintomas quando o tecido afetado apresenta mais do que 60% a 70% de DNAm mutado. A atrofia cerebelar isolada ou a retinopatia pigmentosa muitas vezes podem ser as únicas manifestações clínicas. NARP pode ser

considerada uma variante da síndrome de Leigh e é uma doença multissistêmica do adulto jovem que apresenta, em várias combinações, neuropatia sensitiva, ataxia, crises convulsivas, demência e retinite pigmentosa. A biópsia muscular não apresenta RRF. O defeito molecular principal é uma mutação de ponto (T8993G). Uma observação importante é que a mutação T8993G, quando encontrada em altas porcentagens nos tecidos, apresenta-se fenotipicamente como a doença de Leigh, enquanto na NARP a porcentagem dessa mutação encontrada nos tecidos é mais baixa.

Neuropatia óptica hereditária de Leber (Leber's hereditary optic neuropathy, LHON⁹)

A LHON apresenta-se com um quadro de perda da acuidade visual central, indolor e de instalação aguda ou subaguda, ocorrendo usualmente dos 12 aos 30 anos de idade. As alterações típicas dessa síndrome, na fase aguda, incluem telangiectasias ao redor da papila óptica e edema das fibras nervosas ao redor do disco óptico ao exame oftalmológico. Entretanto, desde o advento dos testes genéticos ficou claro que essas alterações retinianas não estão presentes em todos os casos. Embora mais de 12 mutações do DNAm estejam associadas a LHON, somente três são consideradas capazes de causar os sintomas, mesmo na ausência de mutações adicionais sinérgicas, e respondem por aproximadamente 80% dos casos de LHON. Embora a apresentação clínica desses pacientes seja similar, a probabilidade de alguns pacientes virem a melhorar parcialmente se mostra diferente em cada uma dessas mutações. A mutação mais comum da LHON é a A11778G, que modifica um gene de uma das subunidades protéicas do Complexo I da cadeia respiratória (ND4). Essa mutação causa troca do aminoácido arginina por histidina na posição 340 da cadeia polipeptídica codificada por esse gene. Uma vez que a cegueira ocorra, a recuperação da visão é incomum, pois ocorre em apenas em 5% a 8% dos casos. Uma característica importante nesses pacientes é que 50% a 80% dos homens tornam-se cegos, enquanto apenas 8% a 32% das mulheres cursam com tal perda. A segunda mutação mais comum é a G3460A, que promove uma troca do aminoácido alanina por treonina na posição 52 da cadeia polipeptídica codificada pelo gene ND1. Nesse caso, também os homens são mais afetados, mas 22% dos pacientes podem recuperar a visão. A terceira mutação mais frequente é a T14484C, que promove a mudança do aminoácido metionina na proteína codificada pelo gene ND6. Essa mutação é considerada a mais benigna e cerca de 40% dos pacientes recuperam parcialmente a visão.

Herança mendeliana (DNA nuclear)

As doenças mitocondriais de herança mendeliana consistem em um capítulo relativamente recente da genética mitocondrial. Podem ser categorizadas como:

- a) defeitos em genes codificadores de proteínas estruturais da mitocôndria (não discutidos nessa revisão);
- b) defeitos diretos em genes codificadores de enzimas da cadeia respiratória;
- c) defeitos em genes codificadores necessários para a montagem ou a importação de proteínas mitocondriais;
- d) defeitos na sinalização intergenômica.

Até o momento, os defeitos do DNA nuclear classificados nos itens b e c afetam sempre direta ou indiretamente enzimas do complexo protéico do sistema de fosforilação oxidativa da mitocôndria. Embora todos os componentes da cadeia respiratória tenham subunidades codificadas pelo DNA nuclear, apenas mutações patogênicas dos Complexos I, II e IV foram identificadas. Nenhuma evidência em mutações nos Complexos III e V foi encontrada.

Complexo I

É o maior complexo enzimático da cadeia respiratória e compreende pelo menos 42 subunidades diferentes, das quais apenas 7 são codificadas pelo DNAm. Talvez por isso uma deficiência isolada do Complexo I apareça como uma das causas mais frequentes de encefalopatia mitocondrial¹⁰.

Pacientes com deficiências no Complexo I usualmente apresentam a doença de Leigh como principal manifestação clínica com 40% a 50% dos casos, tendo uma miocardiopatia associada¹¹. Uma acidose láctica neonatal é também muito comum. Frequentemente, os sintomas aparecem já ao nascimento ou na primeira infância. Uma característica importante nas deficiências desse complexo, derivadas de mutações no DNA nuclear, é que raramente existe um envolvimento cardíaco. Apenas um caso foi descrito com evidência de uma cardiopatia hipertrófica¹², sem RRFs na biópsia muscular. Apesar de a deficiência do Complexo I ser relativamente frequente, mutações patogênicas foram encontradas em apenas 4 das 35 subunidades codificadas pelo DNA nuclear.

Outros genes envolvidos com deficiências funcionais do Complexo I são:

- 1) mutações de ponto no gene da flavoproteína NDUFV1¹³, que causa uma leucodistrofia fatal com epilepsia mioclônica;

- 2) mutação de ponto nos genes de proteínas hidrofóbicas NDUF57¹⁴ e NDUF58¹², causando doença de Leigh;
- 3) uma duplicação de 5 pares de base no gene de uma proteína ligada ao complexo enxofre-ferro NDUF54¹⁵, causando doença de Leigh.

Complexo II

Mutações de genes nucleares do Complexo II manifestam-se clinicamente de maneira muito diversa, incluindo os seguintes fenótipos:

- 1) SKS¹⁶;
- 2) fraqueza muscular¹⁷;
- 3) cardiomiopatia hipertrófica¹⁸;
- 4) doença de Leigh¹⁹;
- 5) atrofia óptica com ataxia cerebelar²⁰;
- 6) paraganglioma hereditário²¹.

Até o momento, apenas três mutações patogênicas do Complexo II foram observadas. A primeira foi descrita no gene que codifica a subunidade FP ou succinato desidrogenase A²², convertendo um aminoácido arginina na posição 544 da cadeia protéica por triptofano. Uma segunda e uma terceira mutações foram encontradas em um mesmo gene modificando a cadeia polipeptídica na posição 1, convertendo metionina por leucina e, na posição 524²³, convertendo alanina por valina. Mutações no gene da succinato desidrogenase D (cromossomo 11) também foram identificadas em pacientes com paraganglioma hereditário, que é caracterizado pelo desenvolvimento de tumores vasculares benignos no pescoço e na cabeça, mais comumente na carótida. Essas foram as primeiras mutações em genes da cadeia respiratória que estabelecem uma relação causal direta com uma transformação neoplásica²¹.

Complexo IV

Apesar de deficiências isoladas no Complexo IV já terem sido descritas, nenhuma mutação nos genes nucleares das subunidades que o formam foi encontrada até o momento (apenas mutações patogênicas dos genes codificados pelo DNAm)²⁴. Entretanto, três mutações em genes nucleares que codificam proteínas não relacionadas diretamente a uma das subunidades deste Complexo, mas requeridas para a sua montagem e seu funcionamento, têm sido recentemente associadas a encefalomiopatias com deficiências da COX. Estas proteínas são a SURF1²⁵, a SCO2²⁶ e a COX-10²⁷.

A SURF1 é uma proteína importada pela mitocôndria, necessária para a montagem do Complexo

IV propriamente dito, mas de função desconhecida. Mutações na SURF1 têm sido confirmadas por muitos grupos e são associadas a doença de Leigh.

A SCO2 é necessária para a inserção de cobre nas subunidades 1 e 2 da COX. Mutações na SCO2 são associadas com cardiomiopatia hipertrófica e encefalomiopatia já notadas logo após o nascimento. Crianças afetadas apresentam dificuldades respiratórias, acidose metabólica e morrem no primeiro ano de vida. Estudos histoquímicos mostram que a deficiência de COX no músculo de pacientes com a mutação SCO2 é mais grave que com a mutação SURF1. Achados neuropatológicos em familiares com mutação no gene para SCO2 incluem, ainda, heterotopia, gliose, atrofia e proliferação de vasos capilares. Até o momento, foram descritos cinco tipos de mutações para o gene SCO2.

A COX-10 codifica uma proteína que é a precursora imediata do grupo prostético da subunidade COX-1. Pacientes homocigotos nessa mutação no exon 4 da COX-10 convertem asparagina em lisina na posição 204 da proteína. Os sintomas apresentados por esses pacientes incluem: hipotonia, ataxia, miopatia e convulsões. O estudo bioquímico mostra uma redução na atividade da COX no músculo, nos linfócitos e nos fibroblastos. A análise por Western Blot evidencia uma total ausência de COX-2 com moderada redução dos níveis de COX-3, 4c.

Complexo V

Até o momento, nenhuma mutação patogênica foi encontrada no DNA nuclear afetando o Complexo V, muito embora mutações codificadas pelos genes do DNAMt foram associadas em artigo de DiMauro e Andreu²⁸ com doenças humanas. Uma possível candidata em apresentar uma mutação no Complexo V dos genes do DNA nuclear é a doença de Luft, já descrita anteriormente.

Coenzima Q10 (CoQ10)

Apesar de não fazer parte de nenhum dos complexos da cadeia respiratória, é uma molécula móvel que participa no transporte de elétrons como seu receptor, provindos dos Complexos I e II e os transferindo para o Complexo III. Defeitos parciais (20% a 30%) da CoQ10 estão associados com a SKS e várias miopatias^{29,30,31,32,33}. A fraqueza muscular geralmente é pequena e episódios de mioglobínúria podem ser induzidos com exercício, febre ou convulsões. Observa-se uma diminuição da atividade dos Complexos I e II ou I e III (todos os quais requerem a CoQ10) na análise bioquímica. A biópsia muscular mostra RRFs e inclusões lipídicas. Nenhuma mutação para tal

defeito foi descrita. Entretanto, a identificação desses pacientes é de extrema importância, uma vez que a administração da CoQ10 provê a melhora acentuada dos sintomas e do prognóstico no paciente.

Defeitos na comunicação intergenômica

Basicamente dois defeitos na sinalização intergenômica (comunicação entre o núcleo e a mitocôndria) foram descritos: a) deleções múltiplas (presença de deleções de diversos tamanhos em um mesmo tecido); b) depleção do DNAMt (diminuição na quantidade de DNAMt sem qualquer alteração na sua seqüência).

Deleções múltiplas do DNAMt

A forma mais freqüente de deleções múltiplas é a oftalmoplegia externa progressiva de herança autossômica dominante (OEP-AD). Manifesta-se principalmente com oftalmoplegia externa e ptose, de início na idade adulta. Outras manifestações clínicas incluem: disfagia, disfonia, fraqueza na musculatura apendicular e facial, catarata, intolerância ao exercício, cardiomiopatia, hipogonadismo, neuropatia periférica, ataxia, tremor, rabdomiólise e acidose láctica. Apresentam RRF e fibras COX-negativas à biópsia muscular. Recentemente, descobriu-se que mutações no gene para ANT1 (*adenina nucleotide translocator*) podem levar a quadro de OEP-AD³⁴. ANT é uma translocadora do nucleotídeo adenina. As translocases são importantes para a passagem de metabólitos através da membrana mitocondrial interna. Três cromossomos têm sido identificados na OEP-AD: 10q24, 3q14.1-21.2 e 4q34-35.

Deleções múltiplas também podem ser encontradas sob herança autossômica recessiva, mas em síndromes com comprometimento mais multissistêmico como a oftalmoplegia-cardiomiopatia autossômica recessiva (ARCO), ataxia sensitiva, neuropatia, disartria e oftalmoplegia (SANDO) e encefalomiopatia neurogastrointestinal mitocondrial (MNGIE). Apesar da heterogeneidade dessas doenças, os músculos extraoculares são consistentemente afetados. Em 1997, mutações no gene para timidina fosforilase foram identificadas como alterações responsáveis por MNGIE³⁵. Até o momento, foram identificadas 16 mutações. Normalmente, a timidina fosforilase contribui para manter o nível sérico da timidina. Mutações nesse gene levam à perda dessa função em leucócitos periféricos e acredita-se que o desbalanço no *pool* de deoxinucleotídeos acarretaria a depleção e as deleções múltiplas. O diagnóstico de MNGIE é feito pelo achado de seis características: a) oftalmoplegia externa progressiva; b) dismotilidade gastrointestinal severa; c) caquexia; d) neuropatia periférica, e) leucoencefalopatia

difusa; f) evidência de disfunção mitocondrial (histológica, bioquímica ou genética). Inicia-se por volta dos 18 anos de idade e as manifestações gastrointestinais são as características predominantes e frequentemente debilitantes. A biópsia muscular revela alterações neurogênicas, RRF e fibras COX-negativas. Outra doença autossômica recessiva ligada ao cromossomo 4p16, que em uma pequena porcentagem dos casos exibe múltiplas deleções do DNAm, é a síndrome de Wolfram, caracterizada por *diabetes insipidus*, *diabetes mellitus*, atrofia óptica e surdez.

Depleção do DNAm

O quadro de depleção do DNAm pode ser herdado ou aparecer secundariamente, como pelo uso de AZT, ddC ou ddI. A forma herdada é transmitida sob herança autossômica recessiva e manifesta-se por fraqueza, hipotonia e atraso no desenvolvimento. A apresentação clínica é heterogênea, muitas crianças apresentam somente miopatia, outras, somente hepatopatia e algumas, envolvimento multissistêmico (coração, cérebro e rim). A evolução é grave e quase sempre

fatal³⁶. A depleção do DNAm pode ser causada por problemas na replicação do DNAm, provocando diminuição na quantidade do DNAm na célula e, conseqüentemente, levando à disfunção mitocondrial por déficit na síntese de proteínas mitocondriais. Até o momento, não foi descoberto o gene envolvido para a forma herdada de depleção. A síndrome de MNGIE pode aparecer também com o fenótipo de uma depleção do DNAm, além das deleções múltiplas. O tratamento com AZT ou análogos pode produzir uma miopatia com proliferação mitocondrial, mas é reversível com a retirada da droga. O AZT bloqueia a replicação do DNAm pela ação na DNA polimerase gama.

Outros aspectos

A apresentação clínica das doenças mitocondriais é muito diversa e pode se manifestar simplesmente como uma intolerância ao exercício e até como doenças multissistêmicas acometendo o sistema nervoso central e periférico e os sistemas endócrino, hematopoiético, gastrointestinal, óptico, etc. (Tabela

Tabela 1 Principais manifestações clínicas das doenças mitocondriais

Tecidos	Sinais/sintomas
Sistema nervoso central	Convulsões Ataxia Mioclonia Retardo psicomotor Regressão psicomotora Hemiparesia/hemianopsia Síndrome enxaquecosa Distonia Perda auditiva neurosensorial
Nervos periféricos	Neuropatia periférica
Muscular	Fraqueza/intolerância ao exercício Oftalmoplegia Ptose
Oftalmológico	Retinopatia pigmentar Atrofia óptica Catarata
Hematopoiético	Anemia sideroblástica
Endócrino	<i>Diabetes mellitus</i> Baixa estatura Hipoparatiroidismo
Cardíaco	Bloqueio de condução Cardiomiopatia
Gastrointestinal	Disfunção pancreática exócrina Pseudo-obstrução intestinal
Renal	Síndrome de Fanconi
Laboratorial	Acidose láctica Biópsia muscular com <i>ragged red fibres</i> (RRF)

1)²⁹. De uma maneira genérica, o diagnóstico deve ser suspeitado em qualquer paciente com uma doença multissistêmica que particularmente envolva tecidos com alta demanda de energia, como o cérebro, o coração e os músculos. Uma característica das doenças mitocondriais (embora não obrigatória) é evidenciar sinais de proliferação mitocondrial anormal (RRF), observamos a biópsia muscular. Essas fibras geralmente apresentam deficiência da citocromo-c oxidase (COX) – Complexo IV, demonstrada pela histoquímica. A análise imunohistoquímica dos tecidos afetados e a avaliação genético-molecular auxiliam e confirmam o diagnóstico, mas a pesquisa das mutações específicas deve ser direcionada pela apresentação clínica de cada paciente, devido ao grande número de mutações encontradas nessas doenças.

É interessante notar que deficiências na cadeia respiratória também foram vistas na doença de Parkinson³⁷, na doença de Huntington³⁸ e na doença de Alzheimer³⁹. A correlação entre esses achados e a importância de possíveis alterações primárias que possam ocorrer nos genes e nas proteínas da cadeia respiratória, para a fisiopatologia dessas doenças, ainda necessitam de novos esclarecimentos.

Outro ponto importante que tem sido pesquisado é a relação entre a apoptose e a mitocôndria. A apoptose é de fundamental importância na embriogênese em processos neurodegenerativos em diversas funções fisiológicas. Inúmeras proteínas regulatórias da apoptose exercem sua ação pela indução de megaporos na membrana externa e interna da mitocôndria. O uso de drogas, como a ciclosporina, tem a capacidade de fechar esses megaporos e prevenir a apoptose⁴⁰. Essas recentes descobertas têm colocado a mitocôndria como uma via crítica para o desencadeamento da morte celular programada. O envelhecimento também é outro foco de pesquisa, porque tem se relacionado à mitocôndria, pois alterações bioquímicas e rearranjos do DNAm também são encontrados em tecidos de idosos⁴¹.

Conclusões

O entendimento do funcionamento da mitocôndria e suas peculiaridades genéticas aumentou consideravelmente, auxiliando a compreensão de inúmeras doenças aparentemente tão distintas, unificando-as sob um prisma genético e fisiopatológico comum. Apesar de, até o momento, não existir tratamento específico efetivo para as doenças mitocondriais (com exceção da deficiência CoQ10),

seu entendimento genotípico tem sido de fundamental importância para podermos avaliar o prognóstico (como no caso da LHON). O sequenciamento do DNA humano, bem como o desenvolvimento de modelos experimentais para as doenças mitocondriais, permite prever que um grande avanço no entendimento da fisiopatologia dessas doenças ocorrerá nos próximos anos.

Além disso, a pesquisa das doenças mitocondriais parece extrapolar o estigma de ser uma pesquisa voltada ao entendimento de doenças raras, uma vez que a mitocôndria tem sido ligada ao processo de apoptose, neurodegeneração e envelhecimento. Isso tem atraído a atenção de pesquisadores de diferentes áreas na esperança de que a mitocôndria possa ser alvo de drogas que tenham a capacidade de alterar a sobrevivência das células, bem como de modificar o curso de doenças neurodegenerativas.

SUMMARY

Mitochondrial disorders

Mitochondrial disorders are a relatively recent chapter in the study of human diseases and understanding the physiopathological implications requires a genetic approach of each patient. The correct function of mitochondria depends on the interaction of 2 genomes, nuclear and mitochondrial. In this review we offer an introduction on mitochondrial genetics, current classification of mitochondrial diseases and brief description of clinical aspects.

Keywords

Mitochondria, cytochrome-c oxidase, mitochondrial DNA, mitochondrial disease.

Referências

1. Ernster L, Ikos D, Luft R. Enzymic activities of human skeletal muscle mitochondria: A tool in clinical metabolic research. *Nature*, 184:5, 1959.
2. Shapira Y, Harel S, Russell A. Mitochondrial encephalomyopathies: a group of neuromuscular disorders with defects in oxidative metabolism. *Isr J Med Sci*, 13:161-4, 1977.
3. Nass MMK, Nass S. Intramitochondrial fibers with DNA characteristics: I. Fixation and electron staining reactions. *J Cell Biol*, 19:593, 1963.
4. Anderson S, Bankier AT, Barrell BG, de Bruijn MH, Coulson AR, Drouin J, Eperon IC, Nierlich EP, Roe BA, Sanger F, Shreier PH, Smith AJ, Staden R, Young IG. Sequence and organization of the human, mitochondrial, genome. *Nature*, 290:457-65, 1981.

5. Holt IJ, Cooper JM, Morgan-Hughes JA, Harding AE. Deletions of muscle mitochondrial DNA. *Lancet*, 1:1462, 1988.
6. Wallace DC, Lott MT, Hodge JA, Schurr TG, Lezza AMS, Elsas II LJ, Nikoskelainen EK. Mitochondrial DNA mutation associated with Leber's hereditary optic neuropathy. *Science*, 242:1427-30, 1988.
7. Mitochondrial encephalomyopathies: gene mutation. *Neuromusc Disord*, 11:332-7, 2001.
8. Morgan-Hughes J A Mitochondrial disease. In: Engel AG, Franzini-Armstrong C. *Myology – Basic and Clinical* 2. ed. USA, Mc Graw Hill International 1994, (2) 1610-60.
9. Shoffner JM. Oxidative phosphorylation disease diagnosis. *Ann NY Acad Sci*, 893:42-60, 1999.
10. Robinson BH. Human complex I deficiency: clinical spectrum and involvement of oxygen free radicals in the pathogenicity of the defect. *Biochim Biophys Acta*, 1364:271-86, 1998.
11. Rahman S, Blok R, Dahl H-HM, Danks DM, Kirkby DM, Chow CW, Christodoulou J, Thorburn DR. Leigh syndrome: clinical features and biochemical and DNA abnormalities. *Ann Neurol*, 39:343-51, 1996.
12. Loeffen J, Smeitink J, Triepels R, Smeets R, Schuelke M, Sengers R, Trijbels F, Hamel B, Mullaart R, van den Heuvel L. The first nuclear-encoded complex I mutation in a patient with Leigh syndrome. *Am J Hum genet*, 63:1598-608, 1998.
13. Schuelke M, Smeitink J, Mariman E, Loeffen J, Plecko B, Trijbels F, Stockler-Ipsiroglu S, van den Heuvel L. Mutant NDUFV1 subunit of mitochondrial complex I causes leukodystrophy and myoclonic epilepsy. *Nat Genet*, 21:260-1, 1999.
14. Trielpels RH, van den Heuvel LP, Loeffen JLCM, Buskens CAF, Smeets RJP, Gozalbo MFR, Budde SMS, Mariman EC, Wijburg FA, Barth PG, Trijbels JMF, Smeitink JAM. Leigh syndrome associated with a mutation in the NDUFS7 (PSST) nuclear encoded subunit of complex I. *Ann Neurol*, 45:787-90, 1999.
15. Van den Heuvel L, Ruitenbeek W, Smeets R, Gelman-Rohan Z, Elpeleg O, Loeffen J, Trijbels F, Mariman E, de Bruijn D, Smeitink J. Demonstration of a new pathogenic mutation in human complex I deficiency: a 5-bp duplication in the nuclear gene encoding the 18-kD (AQDQ) subunit. *Am J Hum Genet*, 62:262-8, 1998.
16. Rivner MH, Shamsnia M, Swift TR, Trefz J, Roesel RA, Carter AL, Yanamura W, Hommes FA. Kearns-Sayre syndrome and complex II deficiency. *Neurology*, 39:693-6, 1989.
17. Haller RG, Henriksson KG, Jorfeld L, Hultman E, Wilbom R, Sahlin K, Areskog NH, Gunder M, Ayyad K, Blomqvist CG, Hall RE, Thuillier P, Kennaway NG, Lewis S. Deficiency of skeletal muscle succinate dehydrogenase and aconitase. Pathophysiology of exercise in a novel human muscle oxidative defect. *J Clin Invest*, 88:1197-206, 1991.
18. Rustin P, Leblouis J, Chretien D, Bourgeron T, Piechaud JF, Rotig A, Sidi D, Munnich A. The investigation of respiratory chain disorders using endocardial biopsies. *J Inherit Metab Dis*, 16:541-4, 1993.
19. Bourgeron T, Rustin P, Chretien D, Birch-Machin M, Bourgeois M, Viegas-Pequignot E, Munnich A, Rotig A. Mutation of a nuclear succinate dehydrogenase gene results in mitochondrial respiratory chain deficiency. *Nat Genet*, 11:144-9, 1995.
20. Taylor RW, Birch-Machin MA, Schaefer J, Taylor L, Shakir R, Ackerell BAC, Cochran B, Bindoff LA, Jackson MJ, Griffiths P, Turnbull DM. Deficiency of complex II of the mitochondrial respiratory chain in late-onset optic atrophy and ataxia. *Ann Neurol*, 39:224-32, 1996.
21. Baysal BE, Ferrell RE, Willett-Brozick JE, Lawrence EC, Myssiorek D, Bosch A, van der Mey A, Taschner PE, Rubinstein WS, Myers EN, Richard CW, Cornelisse CJ, Devilee P, Devlin B. Mutations in SDHD, a mitochondrial complex II gene, in hereditary paraganglioma. *Science*, 287:848-51, 2000.
22. Burgeois M, Goutieres F, Chretien D, Rustin P, Munnich A, Aicardi J. Deficiency in complex II of the respiratory chain presenting as leukodystrophy in two sisters with Leigh syndrome. *Brain Dev*, 14:404-8, 1992.
23. Adams PL, Lightowler RN, Turnbull DM. Molecular analysis of cytochrome-c oxidase deficiency in Leigh's syndrome. *Ann Neurol*, 41:268-70, 1997.
24. Valnot I, Kassis J, Chretien D, DE Lonlay P, Parfait B, Munnich A, Kachaner J, Rustin P, Rotig A. A mitochondrial cytochrome-b mutation but no mutations of nuclear encoded subunits in ubiquinol cytochrome-c reductase (complex III) deficiency. *Hum Genet*, 104:460-6, 1999.
25. Tiranti V, Hoernagel K, Carozzo R, Galimberti C, Munaro M, Granatiero M, Zelante L, Gasparini P, Marzella R, Rocchi M, Bayona-Bafaluy MP, Enriquez JA, Uziel G, Bertini E, Dionisi-Vici C, Franco B, Meitinger T, Zeviani M. Mutations of SURF-1 in Leigh disease associated with cytochrome-c oxidase deficiency. *Am J Hum Genet*, 63:1609-21, 1998.
26. Papadopoulou LC, Sue SM, Davidson MM, Tanji K, Nishino I, Sadlock Je, Krishna S, Walker W, Selby J, Glerum Dm, Van Coster R, Lyon G, Scalais E, Lebel R, Kaplan P, Shanske S, De Vivo DC, Bonilla E, Hirano M, Dimauro S, Schon EA. Fatal infantile cardioencephalomyopathy with COX deficiency and mutations in SCO2, a COX assembly gene. *Nat Genet*, 23:333-7, 1999.
27. Valnot I, von Kleist-Retzon JC, Barrientos A, Corbatyuk M, Taanman JW, Mehaye B, Dustin P, Tzagoloff A, Munnich A, Rotig A. A mutation in the human heme A: Farnesyltransferase gene (COX-10) causes cytochrome-c oxidase deficiency. *Hum Mol Genet* 9:1245-9, 2000.
28. DiMauro S & Andreu AL. Mutations in mtDNA: are we scraping the bottom of the barrel? *Brain Pathol*, 10:431-41, 2000.
29. Fischer JC, Ruitenbeek W, Gabreels FJ, Janseen AJ, Renier WO, Sengers RCA, Stadhouders AM, ter Laak HJ, Trijbels JM, Veerkamp JH. A mitochondrial encephalomyopathy: the first case with an established defect at the level of coenzyme Q. *Eur J Pediatr*, 144:441-4, 1986.
30. Matsuoka T, Maeda H, Goto Y-I, Nonaka I. Muscle coenzyme Q10 in mitochondrial encephalomyopathies. *Neuromusc Disord*, 1:443-7, 1991.
31. Ogasahara S, Yorifuji S, Nishikawa Y, Takahashi MKW, Hazama T, Ankamura Y, Hashimoto S, Kono N, Tai S. Improvement of abnormal pyruvate metabolism and cardiac conduction defect with coenzyme Q10 in Kearns-Sayre syndrome. *Neurology*, 35:372-7, 1985.
32. Ziers S, Jahns G, Jerusalem F. Coenzyme Q in serum and muscle of 5 patients with Kearns-Sayre syndrome and 12 patients with ophthalmoplegia plus. *J Neurol*, 236:97-101, 1989.
33. Boitier E, Degoul F, Desguerre I, Charpentier C, Francois D, Ponsot G, Diry M, Rustin P, Marsac C. A case of mitochondrial encephalopathy associated with a muscle coenzyme Q10 deficiency. *J Neurol Sci*, 156:41-6, 1998.
34. Kaukonen J, Juselius J, Tirani V, Kyttila A, Zeviani M, Comi G, Keranen S, Comi GP, Keranen S, Peltonen L,

- Suoraloinen A. Role of adenine nucleotide translocator 1 in mtDNA maintenance. *Science*, 289:782-5, 2000.
35. Nishino I, Spinazola A, and Hirano M Thymidine phosphorylase gene mutations in MNGIE, a human mitochondrial disorder. *Science*, 283:589-692, 1999.
36. Moraes C, Shanske S, Tritschler H, Aprille J, Andretta F, Bonilla E, Schon EA. mtDNA depletion with variable tissue expression: a novel genetic abnormality in mitochondrial diseases. *Am J Hum Genet*, 48:492-501, 1991.
37. Schapira AHV. Oxidative stress and mitochondrial dysfunction in neurodegeneration. *Curr Opin Neurol*, 9:260-4, 1996.
38. Gu M, Cooper JM, Gash M, Mann VM, Javoy-Agid F, Schapira AHV. Mitochondrial defect in Huntington's disease caudate nucleus. *Ann Neurol*, 39:385-9, 1996.
39. Bonilla E, Tanji K, Hirano M, Vu TH, DiMauro S, Schon EA. Mitochondrial involvement in Alzheimer's disease. *Biochim Biophys Acta*, 1410:171-82, 1999.
40. Susin SA, Zamzami N, Kroemer G. Mitochondria as regulators of apoptosis: doubt no more. *Biochim Biophys Acta*, 1366:151-65, 1998.
41. Tanaka M, Kovalenko SA, Gong J-S, Borgeld, H-JW, Katsumata K, Hayakawa M, Yoneda M, Ozawa T. Accumulation of deletions and point mutations in mitochondrial genome in degenerative diseases. *Ann NY Acad Sci*, 786: 102-11, 1996.

Endereço para correspondência:

Dra. Célia Harumi Tengan
Edifício Acadêmico Horácio Kneese de Mello
Unifesp – EPM
R. Pedro de Toledo, 781 – 7ª andar
CEP 04039-032 – São Paulo, SP