

GENOMA MITOCONDRIAL COMO FONTE DE DOENÇAS GENÉTICAS

GENOME MITOCHONDRIAL AS SOURCE OF GENETIC ILLNESSES

Diego Andreazzi Duarte

Tiago Ferreira Oliveira de Lima

André Luís Braghini Sá

União das Instituições Para o Serviço Ensino e Pesquisa – UNISEP

Endereço: Rua Joaquim Chavasco, 1111, Bairro São Judas Tadeu, CEP: 37570-000

Ouro Fino – MG.

Telefone: (35) 3441-0114

e-mail: diegoandreazzi@yahoo.com.br

RESUMO

Este estudo tem por objetivo descrever a mitocôndria como uma organela essencial na fisiologia celular, bem como avaliar o genoma mitocondrial como fonte de doenças hereditárias descrevendo um panorama geral das mitocondriopatias, foi realizado uma revisão bibliográfica por meio de pesquisa de artigos indexados nas bases científicas: Bireme, LILACS, SciELO, PubMed e MEDLINE. A amostra constituiu de 21 (vinte e um) artigos, dentre estes, foram selecionados 11 (onze) artigos para fundamentação teórica básica (grupo relevante 1) e 2 (dois) artigos para fundamentação teórica complementar (grupo relevante 2). Somente 8 (oito) artigos foram descartados do estudo (grupo não relevante) pelo critério “relevância temática”. Com base no achados, conclui-se que as mitocôndrias possuem diversas funções essenciais para o funcionamento das células humanas e balanço biomolecular, dentre elas, a produção de energia (ATP), um fator de grande importância para as atividades do organismo. São vários os tipos de mitocondriopatias, cada uma apresentando um conjunto de danos no organismo do portador. Elas são doenças de difícil diagnóstico por possuírem uma grande heterogeneidade genética e a ausência de um marcador padrão. Sendo assim, são necessários estudos de várias áreas científicas na tentativa de se obter o diagnóstico mais preciso possível.

Palavras-chave: mitocôndria, DNA mitocondrial, mutações, doenças mitocondriais.

ABSTRACT

This study it has for objective to describe the mitochondria as one organelle essential in the cellular physiology, as well as evaluating the mitochondrial genome as source of hereditary illnesses describing a general panorama of the mitochondrial illnesses, was carried through a bibliographical revision by means of article research index in the scientific bases: Bireme, LILACS, SciELO, PubMed and MEDLINE. The sample constituted of 21 (twenty and one) articles, amongst these, had been selected 11 (eleven) articles for basic theoretical recital (excellent group 1) and 2 (two) articles complementary theoretical recital (excellent group 2). 8 (eight) articles had only been

discarded of the study (not excellent group) for the criterion “thematic relevance”. On the basis of the findings, are concluded that the mitochondria possess diverse functions essential for the functioning of the cells human beings and rocking to biomolecular, amongst them, the energy production (ATP), a factor of great importance for the activities of the organism. The types of mitochondrial illnesses, each one are several presenting a set of damages in the organism of the carrier. They are illnesses of difficult diagnosis for possessing a great difference genetic and the absence of a marking standard. Being thus, they are necessary studies of some scientific areas in the attempt of if getting the possible diagnosis most necessary.

Keywords: mitochondria , DNA, mitochondrial, mutation, mitochondrial diseases.

1. INTRODUÇÃO

As doenças mitocondriais são patologias graves e sem cura que podem atingir qualquer pessoa, ocorrendo com uma incidência considerável entre as populações. Essas doenças mitocondriais ocorrem com base no DNA mitocondrial. As mitocôndrias são organelas citoplasmáticas presentes nas células humanas (presentes também em outras células eucarióticas) e são formadas por estruturas complexas, com duas membranas altamente especializadas, uma externa e outra interna. Possuem o espaço intermembranar e o espaço interno da matriz onde estão presentes o DNA mitocondrial, os ribossomos mitocondriais, os RNAs e várias enzimas¹.

Essas organelas têm funções essenciais nas células humanas como: a produção de energia (ATP) para as atividades do organismo, atuação na morte celular por apoptose, produção de calor e contribuição genética a partir do DNA mitocondrial. A grande síntese de energia e o metabolismo para o oxigênio das células eucarióticas, são possíveis através desta importante organela².

As mitocôndrias possuem o seu próprio DNA, que é distinto do DNA nuclear. Nos seres humanos este DNA mitocondrial é circular e de fita dupla com 16.569 pb. Não possui íntrons e contém 37 genes que codificam 13 proteínas da cadeia respiratória, 22 tRNAs, 2 rRNAs e 13 mRNAs. Apesar da presença do DNA mitocondrial a organela realiza funções dirigidas pelo DNA nuclear, como replicação, transcrição, tradução e reparo. E é também através de alguns genes nucleares que a mitocôndria se divide e se prolifera durante o seu desenvolvimento².

A herança do DNA mitocondrial é materna, pois as mitocôndrias dos espermatozóides se localizam na cauda, e durante a fecundação, a cauda do espermatozóide não penetra no óvulo, e as mitocôndrias contidas na sua cauda também não entram. Sendo assim, quando é formado o embrião ele só contém mitocôndrias do ovócito. Portanto a herança do DNA mitocondrial e das mutações ocorrentes nele são maternas³.

Através de mutações herdadas ou espontâneas no DNA mitocondrial é que surgem as mitocondriopatias. Devido a estas mutações as mitocôndrias passam a desempenhar funções anormais no sistema de fosforilação oxidativa (produção de energia), gerando assim as doenças mitocondriais⁴.

Estas doenças mitocondriais são de difícil diagnóstico devido à grande heterogeneidade genética e à ausência de um marcador padrão para a doença. São necessárias avaliações clínicas, estudos de imagem e função, estudo histopatológico, bioquímico e molecular para se fechar o diagnóstico mais específico da doença. Estas avaliações são complexas, sendo realizadas por equipes multidisciplinares organizadas, fazendo-se análises comparativas na tentativa de se obter o diagnóstico específico².

Um estudo realizado no norte da Inglaterra na tentativa de se obter a incidência de mutações no DNA mitocondrial, demonstrou que a prevalência mínima de mutações de ponto no mtDNA foi de 6,9/100.000 em adultos e de 13,1/100.000 em crianças e adultos. Foi constatado através de alguns estudos científicos que as mitocondriopatias apresentam uma ocorrência considerável entre as populações, sendo o erro inato mais freqüente no metabolismo, com uma freqüência de 1 caso em cada 5.000 a 10.000 nascidos vivos².

A motivação deste trabalho foi pela extrema importância que as mitocôndrias apresentam nas células, bem como pela gravidade das doenças mitocondriais que causam grandes danos nos portadores, como doenças progressivas e sem cura.

O objetivo consistiu em descrever através de uma revisão bibliográfica a mitocôndria como uma organela essencial na fisiologia celular, bem como avaliar o genoma mitocondrial como fonte de doenças hereditárias descrevendo um panorama geral das mitocondriopatias.

2. METODOLOGIA

Trata-se de um estudo descritivo e analítico de revisão bibliográfica, realizado por meio de pesquisa em livros e artigos indexados nas bases científicas: Bireme, LILACS, SciELO, PubMed e MEDLINE. O critério para a seleção foi baseado na relevância temática, onde foram utilizados os seguintes descritores: *mitocôndria*, *DNA mitocondrial*, *mutações genéticas*, *mitocondriopatias*.

Após a pesquisa bibliográfica, os artigos foram analisados e divididos em três grupos: grupo relevante 1, selecionado para a fundamentação teórica básica; grupo relevante 2, selecionados para a fundamentação teórica complementar e sem critério em específico; e grupo não relevante, excluído do estudo.

3. RESULTADOS

Para este estudo foi obtida a amostra de 25 (treze) artigos, dentre estes, foram selecionados 10 (dez) artigos para fundamentação teórica básica (grupo relevante 1) e 3 (três) artigo para fundamentação teórica complementar (grupo relevante 2). Somente 12 (dose) artigos foram descartados do estudo (grupo não relevante) pelo critério “relevância temática”.

Contudo, foi possível descrever a mitocôndria como uma organela fundamental no funcionamento celular, bem como avaliar o genoma mitocondrial como fonte de patologias hereditárias.

4. DOENÇAS DE ORIGEM MITOCONDRIAL

O DNA mitocondrial foi descoberto em 1963 e após uma série de estudos, foi constatado em 1974 que os genes do DNA mitocondrial codificavam proteínas

pertencentes à cadeia respiratória mitocondrial. Em 1980 estudos demonstravam claramente que transmissão do DNA mitocondrial acontecia pela linhagem materna².

O sequenciamento completo do genoma mitocondrial foi publicado por Anderson S. et al. em 1981. Em 1984 foi descoberto que genes nucleares codificavam alguns componentes da cadeia respiratória mitocondrial. Os 13 produtos gênicos da cadeia respiratória codificados pelo DNA mitocondrial foram estudados detalhadamente em 1986 e em 1988 foi descrita a primeira mutação do DNA mitocondrial. Desde então e até os dias atuais foram descritas mais de 100 mutações de ponto no DNA mitocondrial sendo causas de doenças mitocondriais².

Classificações e características das doenças de origem mitocondrial

As doenças mitocondriais são geradas através de mutações herdadas ou espontâneas ocorrentes no DNA mitocondrial. Por meio destas mutações as mitocôndrias passam a desempenhar funções anormais do sistema de fosforilação oxidativa o que pode ocasionar as mitocondriopatias⁴.

Estas mitocondriopatias são causadas por mutações nos genes codificantes para proteínas e RNAs. As proteínas codificadas de modo anormal por estas mutações podem ser enzimáticas, sinalizadoras, carreadoras, receptoras e de choque térmico. E os RNAs codificados errados podem ser tRNA e rRNA².

As mitocôndrias estão presentes em maior número nos tecidos com alta demanda oxidativa, como músculo esquelético, músculo cardíaco e cérebro. Devido a isto, estes tecidos são os mais afetados pelas mitocondriopatias⁴.

As mitocondriopatias são classificadas através de critérios genéticos, bioquímicos ou clínicos. As mitocondriopatias são classificadas geneticamente como: doenças geradas através de mutações nos genes do mtDNA que codificam para proteínas da cadeia respiratória, para os tRNAs e rRNAs; doenças geradas

através de mutações nos genes do nDNA que codificam para proteínas da cadeia respiratória; doenças ocasionadas por mutações nos genes do nDNA que codificam para proteínas fora da cadeia respiratória; doenças desenvolvidas por defeitos no funcionamento da cadeia respiratória, devido a mutações nos genes do nDNA que codificam para proteínas que não pertencem a mitocôndria².

Na classificação bioquímica das mitocondriopatias, as alterações podem acontecer no transporte inter ou intra-mitochondrial, através de defeitos na utilização de substratos como defeitos envolvendo o ciclo de Krebs e a cadeia respiratória mitocondria³.

E pelos critérios de classificação clínicos, as mitocondriopatias podem ser classificadas como doenças presentes em um único órgão ou multissistêmica, sendo rara a ocorrência destas doenças em um único órgão, e quando isto ocorre ela posteriormente se transforma em multissistêmica¹.

As doenças mitocondriais apresentam algumas características distintas que permitem a suas classificações². A tabela 1 apresenta algumas doenças de origem mitocondrial e suas características.

<inserir tabela 1 >

Diagnósticos das doenças

O diagnóstico das doenças mitocondriais é um desafio para a ciência, isto devido a grande heterogeneidade genética e por não haver um marcador padrão para as análises dessas doenças².

Estas doenças são diagnosticadas primeiramente através da apresentação clínica, como intolerância ao exercício com debilidade em repouso, alterações no sistema nervoso central com miopatia associada, oftalmoplegia progressiva e alguns exames complementares como biópsia do músculo⁵.

Com o objetivo de se obter um diagnóstico mais específico possível da doença, são feitas avaliações clínicas, estudos de imagem e função, estudo histopatológico, bioquímico e molecular. Os estudos genéticos são de grande importância para o diagnóstico, porém são de difícil realização, devido à heterogeneidade da doença, pela taxa de heteroplasmia de cada indivíduo e também o seu limiar de expressão. As análises devem ser feitas passo-a-passo para não serem realizados exames invasivos nos pacientes e para não ocorrer análises de custo muito alto sem uma correta indicação².

Nas análises são usados tecidos musculares, que são ideais para estas investigações, por possuírem células com grande necessidade de energia e apresentarem baixo índice de renovação. Também são feitos outros exames para definir melhor o diagnóstico destas doenças, como tomografia de crânio (TC), ressonância nuclear magnética (RNM) cerebral associada ou não a espectroscopia por emissão de prótons, eletroneuromiografia, ecocardiograma, eletroencefalograma (EEG) e eletrocardiograma (ECG)².

O monitoramento das doenças

Depois que se obtém o diagnóstico de uma doença mitocondrial, o acompanhamento da doença pode ser feito em 4 etapas. Na primeira etapa são passadas algumas informações para os pacientes portadores, para que se possa prevenir complicações e lhes informar definitivamente as chances de transmissão hereditária da doença para seus descendentes⁵.

Na segunda etapa através da monitorização clínica pode-se evitar complicações, como, por exemplo, evitar a utilização precoce do marcapasso para impedir o bloqueio cardíaco completo que ocorre na KSS. Durante a terceira etapa procura-se a intervenção em algumas etapas das doenças, como, por exemplo, a correção da ptose palpebral, o uso de gastrostomia, cirurgia para catarata, dentre outras, nesta etapa faz-se também o suporte social e psicológico do paciente².

E na quarta etapa são utilizados alguns cofatores vitamínicos em doses padronizadas, com alguns benefícios e quase sem efeitos colaterais. As vitaminas mais indicadas para este monitoramento são vitamina C e K, tiamina (B1), riboflavina (B2) e ubiquinona (coenzima Q10), todas elas aplicadas com dosagens padronizadas^{2,5}.

Apesar de todos os exames complexos e os monitoramentos durante a progressão das doenças mitocondriais, não é possível se obter a cura ou a estabilidade das suas progressões². Pode-se apenas melhorar a qualidade da sobrevivência dos pacientes afetados, avaliando as alterações causadas pela evolução dessas doenças, através do acompanhamento de diversas áreas da ciência⁶.

O curso clínico dos portadores de mitocondriopatias é variável, assim como a sobrevivência deles, podendo ocorrer óbito. Podem ser citadas algumas causas de óbitos gerados por estas doenças, como: insuficiência cardio-pulmonar, estado de mal epiléptico e tromboembolismo pulmonar⁷.

Incidência das doenças

Através de estudos científicos e alguns relatos das doenças mitocondriais, foi obtido um consenso de que estas doenças não têm uma ocorrência rara entre as populações. Estudos demonstram que as mitocondriopatias são o erro inato mais freqüente do metabolismo, com uma incidência de 1 caso em cada 5.000 a 10.000 nascidos vivos².

Porém no Brasil não são demonstradas incidências destas doenças entre a população. Isto devido ao pequeno número de laboratórios que investigam estas doenças no Brasil. E geralmente quando investigam, existem limitações técnicas, sendo talvez a principal limitação, a formação de uma equipe de investigação multidisciplinar coordenada, que é extremamente necessária para se obter estudos bem sucedidos sobre estas doenças².

A importante aplicação da genética molecular na detecção de mutações que geram mitocondriopatias

A genética molecular tem papel fundamental no diagnóstico dos indivíduos afetados ou com suspeita de mitocondriopatia. Estas doenças possuem diagnósticos de difícil obtenção, pela heterogeneidade e pela falta de um marcador padrão. Sendo assim, é essencial que todo paciente com sinais característicos ou síndromes clássicas de doença mitocondrial passem pelos estudos moleculares para a obtenção de diagnósticos mais precisos⁵.

A história clínica que o indivíduo apresenta e a suspeita de um tipo de doença mitocondrial é que irá definir que tipo de mutação será pesquisada no indivíduo. Sendo a genética molecular aplicada na detecção de mutações específicas confirmando a suspeita de doença mitocondrial².

As análises genéticas são feitas no mtDNA, e são analisadas basicamente dois tipos de mutações, as mutações de ponto e as mutações de grande escala por deleção e duplicação⁸.

As mutações de ponto são detectadas através de análises de polimorfismos de comprimento de fragmentos de restrição (RFLP). Esta análise é feita em regiões do mtDNA que tenham sido amplificadas pela técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR). Estudos como as análises de polimorfismos conformacionais em fita única de DNA (SSCP) e sequenciamento do mtDNA, podem ser utilizados para pesquisas de novas mutações^{8,9}.

As mutações por deleção acontecem de maneira simples ou múltipla. Através da genética molecular pode-se detectar a presença ou ausência de rearranjos e a proporção de mtDNA mutado, usando a técnica de hibridização com sonda específica (*southern-blot*). Pela técnica de PCR, também pode se obter a quantidade de mtDNA deletado. As análises genéticas devem ser feitas através dos músculos esqueléticos, pois estes possuem certa retenção de mitocôndrias com mtDNA deletado^{8,10}.

As duplicações são de difícil ocorrência, tendo poucos casos descritos na literatura. Os principais fenótipos dessas duplicações são a síndrome de Pearson, a síndrome de Kearns-Sayre esporádica e a oftalmoplegia externa crônica progressiva, apresentados na tabela 1¹¹.

É necessário se definir as mutações não deletérias das patogênicas no mtDNA. Isto devido a alguns fatores como: a grande presença de mutações no mtDNA e à presença de mutações dentro de uma família, e polimorfismos populacionais específicos¹².

Na investigação genética é possível se obter a confirmação de doença mitocondrial em primeira análise, assim como também é possível não se obter uma confirmação, mas não excluir a possibilidade de mutações que geram estas doenças em outros genes não analisados. A investigação genética não é sempre de total eficiência, sendo sempre necessários outros estudos como um conjunto de análises para encontrar um diagnóstico mais específico¹³.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

As mitocondriopatias são causadas pelo funcionamento anormal da mitocôndria, que acontece por meio de mutações hereditárias ou espontâneas no DNA mitocondrial. Estas doenças têm uma frequência considerável entre as populações, são doenças sem cura, que causam muitos danos nos seus portadores.

Dentre as várias áreas da ciência que vem estudando as mitocondriopatias, destaca-se à genética molecular, que tem demonstrado eficiência na detecção de mutações, buscando obter o diagnóstico mais específico destas doenças e também servindo como base para outros estudos.

A genética vem proporcionando a melhor compreensão de algumas doenças e o descobrimento de outras. Porém, ainda não é possível se estabelecer a origem e a cura

de certas doenças. Os cientistas trabalham incansavelmente, na tentativa de encontrar meios de estabilizar e curar doenças ainda incuráveis.

A genética molecular vem crescendo muito, encaminhando para uma exploração total do organismo em nível molecular. Tendo como perspectivas o desenvolvimento de novas técnicas para analisar os processos moleculares da origem e desenvolvimento de doenças, e de como os mecanismos moleculares das células reagem a elas. Assim, poderá facilitar os tratamentos médicos e farmacológicos na cura de doenças, inclusive, as doenças que por enquanto são incuráveis.

Tal situação é puramente inerente ao profissional Biólogo, que em função de sua formação, apresenta-se como profissional preparado e envolvido no uso das ferramentas moleculares e análise de seus resultados.

REFERÊNCIAS

1. ALBERTS B, JOHNSON A, LEWIS J, RAFF M, ROBERTS K, WALTER P. *Biologia Molecular da Célula*. Porto Alegre: Artmed; 2004.
2. SOUZA CFM. Um estudo clínico, bioquímico histoquímico e genético-molecular de pacientes com doenças do DNA mitocondrial [Dissertação de Mestrado]. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2005.
3. CARVALHO MFP e RIBEIRO FAQ. As deficiências auditivas relacionadas às alterações do DNA mitocondrial. *Revista Brasileira Otorrinolaringologia* 2002; 68:2-33.
4. RODRIGUES ASI. A expressão da proteína mitocondrial CL-39KDa na identificação de doenças mitocondriais associadas a defeitos do complexo I [Dissertação de Mestrado]. São Paulo: Universidade Federal de São Paulo, Escola Paulista de Medicina; 2005.
5. ROMA AC, PEREIRA PR e DANTAS AM. Síndrome de Leigh: relato de caso. *Arquivo Brasileiro de Oftalmologia* 2008; 33:47-63.
6. VASCONCELLOS LFR, LEITE ACC, CAVALCANTE JLS, MOREIRA DM, FEIJÓ J e SOUZA CFM. Síndrome psicótica evoluindo com demência como manifestação clínica de deleção do DNA mitocondrial. *Arquivos de Neuro-psiquiatria* 2007; 65:337-61.
7. SCARANO WR. Mitocôndrias e Metabolismo celular [Dissertação de Mestrado]. Alfenas: Universidade Federal de Alfenas; 2008.
8. ANAZETTI MC e MELO PS. Morte celular por apoptose: uma visão bioquímica e molecular. *Campinas, Metrocamp Pesquisa* 2007; 1:37-58.
9. JUNQUEIRA LC e CARNEIRO J. *Histologia Básica*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A; 2004.

10. BIANCO AC. Hormônios tireóideos, UCPs e termogênese. Arquivos Brasileiros de Endocrinologia Metabologia 2000; 44:23-39.

11. NASSEH IE, TENGAN CH, KIYOMOTO BH e GABBAI AA. Doenças mitocondriais. Revista Neurociências 2001; 9:66-83.

12. OLIVEIRA MC e MENCK CFM. Biologia Molecular e Evolução. São Paulo: Holos Editora; 2001.

13. RIBEIRO SHA, PEREIRA JCC, VERNEQUE RS, SILVA MA, BERGMANN JAG, LEDIC IL e MORAIS OR. Efeitos da origem e da linhagem do DNA mitocondrial sobre características produtivas e reprodutivas de bovinos leiteiros da raça GIR. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária Zootecnia 2009; 61:145-67.