

Avanços e novas tecnologias para o estudo das doenças mitocondriais

The advances and new technologies for the study of mitochondrial diseases

Bianca Bianco¹, Erik Montagna¹

RESUMO

As doenças genéticas mitocondriais são responsáveis pelos erros inatos do metabolismo mais comuns, causados por mutações tanto em genes nucleares como no DNA mitocondrial. Este artigo apresenta a origem procariótica dessa organela, e a relação entre os genomas nuclear e mitocondrial, bem como modelos evolutivos correntes para esses mecanismos. Também trata da estrutura dos genes mitocondriais, seu padrão de expressão, características clínicas de defeitos genéticos, riscos de transmissão e técnicas atualmente utilizadas para evitar esses eventos em reprodução humana assistida. Finalmente, discute as implicações éticas dessas possibilidades.

Descritores: Mitocôndrias; DNA mitocondrial; Doenças mitocondriais; Diagnóstico pré-implantação

ABSTRACT

Genetic mitochondrial disorders are responsible for the most common inborn errors of metabolism, caused by mutations in either nuclear genes or in mitochondrial DNA. This article presents the prokaryotic origin of the organelle and the relation between nuclear and mitochondrial genomes, as well as current evolutionary models for such mechanisms. It also addresses the structure of mitochondrial genes, their expression pattern, clinical features of gene defects, risk of transmission and current techniques to avoid these events in assisted human reproduction. Finally, it discusses the ethical implications of these possibilities.

Keywords: Mitochondria; DNA, mitochondrial; Mitochondrial diseases; Preimplantation diagnosis

INTRODUÇÃO

Mitocôndrias são organelas responsáveis pela fosforilação oxidativa, por meio da canalização de elétrons por

complexos da cadeia respiratória, que geram adenosina trifosfato (ATP), um nucleotídeo responsável pelo armazenamento de energia da respiração celular em suas ligações químicas. Uma característica marcante é que possuem seu próprio genoma distinto. O DNA mitocondrial (mtDNA) tem várias características singulares, diferentes daquelas do genoma nuclear, como um círculo compacto de cadeia dupla (16.569pb) com seu próprio código genético. Ele contém 37 genes, 13 dos quais codificam subunidades OXPHOS, 22 genes tRNA, e 2 genes rRNA. O mtDNA não contém íntrons, mas tem vários genes sobrepostos e códons de terminação incompleta. A manutenção de dois genomas separados é uma situação onerosa para a célula. A manutenção e a expressão dos poucos genes mitocondriais restantes requerem cerca de 250 proteínas codificadas pelo genoma nuclear. Há evidências de que as sequências mitocondriais sejam copiadas para o genoma nuclear. Embora poucas proteínas sejam codificadas pelo genoma mitocondrial, mais de mil proteínas mitocondriais são codificadas pelo genoma nuclear.⁽¹⁾

Não há dúvida de que o genoma mitocondrial seja de origem bacteriana, mais especificamente alfa-proteobacteriana, e com ampla aceitação de uma origem xenógena/exógena (endossimbiótica) da mitocôndria, em vez das hipóteses iniciais de origem autógena/endógena (não simbiótica). Infere-se que proteínas codificadas pelo genoma mitocondrial, assim como as proteínas mitocondriais codificadas pelo núcleo, sejam genes transferidos ao núcleo pela via de transferência endossimbiótica de genes (EGT) durante a evolução mitocondrial.⁽²⁾

¹ Faculdade de Medicina do ABC, Santo André, SP, Brasil.

Autor correspondente: Bianca Bianco – Faculdade de Medicina do ABC – Avenida Príncipe de Gales, 821 – Vila Príncipe de Gales – CEP: 09060-650 – Santo André, SP, Brasil – E-mail: bianca.bianco@hotmail.com

Data de submissão: 7/10/2015 – Data de aceite: 21/12/2015

DOI: 10.1590/S1679-45082016MD3561



As doenças mitocondriais são os erros inatos de metabolismo mais comuns, posto que afetam >1 em 7.500 nascidos vivos, e são causadas por mutações nos genes nucleares ou no mtDNA; este último só é transmitido por via materna. Essas doenças podem causar abortos espontâneos e natimortos; morte em recém-nascidos, crianças e jovens adultos; ou sintomas severos com início na vida adulta. As manifestações clínicas podem ocorrer em um único tecido ou órgão afetado, mas um envolvimento multissistêmico ou de vários órgãos é mais comum e tem os maiores efeitos sobre órgãos com alta demanda de energia.⁽³⁾ Já que os pacientes podem manifestá-lo em qualquer idade, com envolvimento de quase qualquer sistema do corpo, e a gravidade de sintomas também pode variar amplamente, o reconhecimento e o diagnóstico de doenças mitocondriais são difíceis, e os clínicos, em geral, ficam com mais dúvidas do que respostas para as famílias. O aconselhamento genético é desafiador, considerando as incertezas sobre o prognóstico e o risco de recorrência.⁽⁴⁾

Todas as moléculas de mtDNA dentro de uma célula podem ser idênticas (homoplasmia), enquanto dois ou mais tipos de moléculas de mtDNA com sequências diferentes podem coexistir na mesma célula, tecido, ou ainda na mesma organela (heteroplasmia), variando entre zero e 100%. As manifestações clínicas são parcialmente relacionadas à carga mutacional e se manifestam quando a carga de mutação (proporção de mtDNA mutante) excede um limiar de expressão. Mutações causadoras de doenças em mtDNA podem resultar de grandes rearranjos, mutações pontuais, ou um número reduzido de cópias, levando, em alguns casos, à extensa depleção de mtDNA.⁽³⁾

O risco de recorrência depende da natureza do defeito genético primário de base: grandes mutações únicas de mtDNA têm um baixo risco de recorrência, de 1 em 25 em mulheres e de zero em homens,⁽⁵⁾ mas múltiplas deleções de mtDNA devido a defeitos de genes nucleares autossômicos recessivos ou dominantes têm risco de recorrência de 25 ou 50%, respectivamente, para outros irmãos. Múltiplas deleções de mtDNA que ocorrem na forma de mutações somáticas como parte do processo normal de envelhecimento não estão relacionadas ao fenótipo clínico e não ocorrem. Além disso, deve-se notar que as mutações pontuais de mtDNA podem ser muito frequentes,⁽⁶⁾ em especial quando há baixos níveis de heteroplasmia, o que implica que essas mutações não necessariamente causem os sintomas clínicos. As mutações pontuais homoplásmicas de mtDNA causadoras de doenças também são conhecidas e geralmente causam doenças menos graves, ou com penetrância reduzida.⁽³⁾ A dificuldade em prever com exatidão

as consequências clínicas e a herança de anormalidades de mtDNA é muito mais complexa, por causa de vários fatores complicadores, que incluem heteroplasmia e efeitos de limiar.⁽⁴⁾

Os pacientes com suspeita de doença mitocondrial seriam confirmados por meio de disfunção da cadeia respiratória e/ou anormalidades bioquímicas, e muitas destas ainda não têm uma etiologia molecular conhecida. Embora a tecnologia de testes genéticos avance rapidamente, levando os clínicos a oferecerem aconselhamento genético mais específico para as famílias, e a medicina genômica tenha uma capacidade maior de detectar alterações genéticas, ainda perduram incertezas sobre patogenicidade, prognóstico e limitações cognitivas, e a expectativa de vida para famílias de risco ainda continua sem definição. Um conselheiro genético está preparado para explicar as complexidades descritas acima sobre prognóstico e herança de doenças mitocondriais, além de opções de testes reprodutivos, com uma abordagem personalizada e centrada na família.^(4,7)

A transmissão de transtornos de mtDNA pode ser prevenida por várias abordagens, como doação de oócitos e testes pré-natais. O diagnóstico genético ou a transferência de genoma nuclear pré-implantação podem ser aplicados a diferentes situações (doença *de novo* versus doença familiar; deleções versus mutações pontuais), cada um com vantagens e desvantagens específicas, e restrições técnicas e éticas.⁽⁸⁾ O diagnóstico genético pré-implantação pode ser oferecido para selecionar embriões não afetados gerados por fertilização *in vitro*. O diagnóstico genético pré-implantação para doenças de mtDNA é tecnicamente mais fácil; mas, as mutações heteroplásmicas de mtDNA requerem aconselhamento caso a caso, levando em consideração as incertezas ligadas a essa estratégia de redução de risco.⁽⁹⁾ A transferência do genoma nuclear ou a doação mitocondrial envolvem a transferência do genoma nuclear de um oócito com mtDNA mutado no citoplasma (doador) para um oócito enucleado aceptor de um doador hígido (aceptor), com mtDNA presumidamente normal e livre e mutação.^(3,10) Consequentemente, os descendentes não carregariam a mutação de mtDNA presente na mãe e não apresentariam a doença familiar de mtDNA. Assim, a descendência gerada apresentaria três padrões distintos de informação genética: genoma paterno, genoma nuclear materno, e genoma mitocondrial de um doador.

Em fevereiro de 2015, o Parlamento do Reino Unido votou a favor da aplicação clínica de procedimentos de fertilização *in vitro* envolvendo doação mitocondrial e se tornou o único lugar no mundo a legalizar tecnologias de linhagem germinativa.⁽¹¹⁾ Duas importantes questões foram levantadas, especialmente em relação ao papel

do mtDNA e as interações entre o mtDNA e o DNA nuclear. A primeira foi se o embrião correria risco se houvesse uma incompatibilidade entre o haplótipo de mtDNA do doador da mitocôndria e o da mãe intencionada. A segunda se algumas das mitocôndrias com falhas permaneceriam ligadas ao núcleo durante o processo de transferência. No entanto, mediante pedido do Ministério de Saúde, a *Human Fertilisation and Embryology Authority* fez três revisões científicas, e um grupo de especialistas fez relatório e avaliou evidências de segurança e eficácia de técnicas de reposição mitocondrial. Está claro que muitas questões de segurança, éticas, regulatórias e legais, que se aplicam à transferência do genoma nuclear, devem ser levadas em consideração.⁽⁸⁾

REFERÊNCIAS

1. Björkholm P, Harish A, Hagström E, Ernst AM, Andersson SG. Mitochondrial genomes are retained by selective constraints on protein targeting. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2015;112(33):10154-61.
2. Gray MW. Mosaic nature of the mitochondrial proteome: Implications for the origin and evolution of mitochondria. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2015; 112(33):10133-8.
3. Smeets HJ, Sallevelt SC, Dreesen JC, de Die-Smulders CE, de Coo IF. Preventing the transmission of mitochondrial DNA disorders using prenatal or preimplantation genetic diagnosis. *Ann N Y Acad Sci*. 2015;1350(1):29-36. Review.
4. Vento JM, Pappa B. Genetic counseling in mitochondrial disease. *Neurotherapeutics*. 2013;10(2):243-50. Review.
5. Chinnery PF, DiMauro S, Shanske S, Schon EA, Zeviani M, Mariotti C, et al. Risk of developing a mitochondrial DNA deletion disorder. *Lancet*. 2004; 364(9434):592-6.
6. Elliott HR, Samuels DC, Eden JA, Relton CL, Chinnery PF. Pathogenic mitochondrial DNA mutations are common in the general population. *Am J Hum Genet*. 2008;83(2):254-60.
7. Nesbitt V, Alston CL, Blakely EL, Fratter C, Feeney CL, Poulton J, et al. A national perspective on prenatal testing for mitochondrial disease. *Eur J Hum Genet*. 2014;22(11):1255-9.
8. Dimond R. Social and ethical issues in mitochondrial donation. *Br Med Bull*. 2015;115(1):173-82.
9. Bredenoord AL, Dondorp W, Pennings G, De Die-Smulders CE, De Wert G. PGD to reduce reproductive risk: the case of mitochondrial DNA disorders. *Hum Reprod*. 2008;23(11):2392-401.
10. Craven L, Elson JL, Irving L, Tuppen HA, Lister LM, Greggains GD, et al. Mitochondrial DNA disease: new options for prevention. *Hum Mol Genet*. 2011;20(R2):R168-74. Review.
11. Britain is first to legalise three-parent IVF babies. *Science*. Published on: February 25, 2015 [cited 2016 Feb 23]. Available from: <http://www.thetimes.co.uk/tto/science/article4364732.ece>