



Eugenia Altamirano

*Servicio de Patología.
Hospital de Niños "Superiora Sor
María Ludovica". La Plata.*

✉ aleu@uolsinectis.com.ar

Mitocondriopatías: Las manifestaciones de una organela enferma ¿Quién hace el diagnóstico?

Resumen

Las enfermedades mitocondriales son relativamente comunes y resultan de defectos en la cadena respiratoria de esa organela. Sus manifestaciones pueden ser multisistémicas o localizadas en un solo tejido. Además, pueden ser adquiridas en forma esporádica o por herencia mendeliana o materna. Su diagnóstico es un desafío y requiere de un trabajo multidisciplinario ya que en los niños suelen presentarse con un gran espectro clínico y alteraciones bioquímicas no específicas o difíciles de demostrar. Algunas manifestaciones son funcionales y no tienen un correlato morfológico claro en la microscopía óptica, y el examen ultraestructural, si bien puede ser de ayuda cuando se lo considera junto a otros hallazgos, por sí solo es inespecífico. En esta revisión se analizan las características biológicas de las mitocondrias, la clasificación y características clínicas, de laboratorio, anátomo-patológicas y genéticas de sus enfermedades

Palabras clave: mitocondriopatías.

Abstract

Mitochondrial disease: the manifestations of a sick organoid.
Who is to be making the diagnosis?

Mitochondrial disease are relatively common and they result from defects in the respiratory chain present in the organella. Its manifestation may by multisystemic or remain localized to one tissue type. Besides, these diseases may be acquired sporadically or the result of mendelian or maternal transmission. Accurate diagnosis of mitochondrial diseases is a challenge requiring a multidisciplinary approach since in children they may present a wide range of clinical manifestations and the resulting biochemical derangements non-specific and difficult to demonstrate. Besides that some features are just functional without diagnostic specificity in the microscopic examination and ultrastructural findings are of some help if interpreted in conjunction with other data. In this paper the biological characteristics of mitochondria as well as the current classification and clinical, laboratory, pathological and genetic features of its

diseases are reviewed.

Key words: mitochondrial diseases.

Introducción

Las mitocondriopatías, también conocidas como miopatías mitocondriales o enfermedades mitocondriales, son un grupo diverso de alteraciones que resultan de la alteración genética, estructural o bioquímica de las mitocondrias, que aún hoy se hallan en una de las áreas de más difícil diagnóstico en la patología pediátrica ⁽¹⁾.

Las mitocondrias son organelas pequeñas localizadas en el citoplasma de todas las células eucariotas que tienen metabolismo aeróbico y su función principal es la producción de energía en forma de ATP. Las mitocondrias son las únicas organelas que contienen su propio genoma (ADNmt), diferente al genoma nuclear (ADNn), hecho que contribuye a la complejidad de sus alteraciones. El ADNn se hereda del padre y de la madre mientras que el ADNmt siempre es heredado de la madre.

Hasta hace poco se creía que todas las mitocondrias humanas eran de origen materno, ya que parecía que sólo el óvulo aportaba las mitocondrias a la célula original. Esta hipótesis ha sido superada ya que se ha demostrado que durante la fecundación humana, aparte de fusionarse los núcleos del óvulo y el espermatozoide, también se fusionan las mitocondrias del óvulo con las procedentes del espermatozoide, aunque la supervivencia de las mitocondrias paternas es bastante rara ⁽²⁾. Las mitocondrias del espermatozoide desaparecen después de la fertilización, durante la embriogénesis temprana, por destrucción selectiva, inactivación, o simple dilución ⁽³⁾.

Las mitocondrias poseen una molécula de ADN circular propia, conocida como "el otro genoma humano", con 16569 pares de bases conteniendo tan sólo 37 genes que codifican 13 proteínas esenciales para la cadena respiratoria, 22 ARN de transferencia (tARN) y 2 ARN ribosómicos (rARN) ⁽⁴⁾. El ADN mitocondrial humano posee información muy compactada; sin embargo, con este pequeño número de genes no se puede construir una organela de las características de la mitocondria. Se necesitan muchas más proteínas, y por lo tanto mu-

chos más genes. Existe más de un centenar de genes que, formando parte del genoma nuclear y ubicados en distintos cromosomas, codifican proteínas mitocondriales. Podría decirse que las proteínas de la cadena transportadora de electrones constituyen un mosaico genético cuyas subunidades son codificadas por dos sistemas genéticos diferentes.

Varias características diferencian la genética del ADNmt de la del ADNn ⁽⁵⁾:

1. Herencia materna, el ADNmt se hereda exclusivamente de la madre.
2. Poliplasmia, esto es que en cada célula hay cientos o miles de moléculas del ADNmt.
3. Segregación mitótica, durante la división celular las mitocondrias se distribuyen al azar entre las células hijas; en una persona normal, se tiene el mismo ADNmt (situación llamada de homoplasmia). Si en una célula se encuentran ADNmt normal y mutado se habla de heteroplasmia.
4. Alta velocidad de mutación, siendo la tasa de mutación espontánea del ADNmt diez veces mayor que en ADN nuclear. Además, el ADNmt no contiene intrones por lo que mutaciones al azar usualmente afectan secuencias de ADN codificante.
5. Finalmente, el ADNmt no tiene histonas protectoras o sistema de reparación eficaz y está permanentemente expuesto a radicales libres de oxígeno generados por la fosforilación oxidativa.

En el proceso de segregación replicativa, las proporciones de moléculas normales y mutadas varían, ya que el ADNmt es dividido entre las células hijas. En líneas generales podríamos decir que son los principios de genética de población los que gobiernan el ADNmt y no los de herencia mendeliana. De esta manera el proceso de selección ocurriría a nivel celular y molecular como ocurre en un organismo dado. El conocimiento acerca del rol de las mutaciones del ADN en las enfermedades mitocondriales ha evolucionado rápidamente ya que fue en 1988 cuando se descubrieron las primeras mutaciones en el ADNmt. Dichas mutaciones fueron posteriormente identificadas en distintas enfermedades.

Función del ADN mitocondrial

La mitocondria, la cual probablemente evolucione desde un organismo independiente, se vuelve par-

te integral de la célula. No obstante, ella es capaz de replicar, transcribir y trasladar su ADN independientemente del ADNn. Sin embargo, las funciones de la célula y del ADNmt son interdependientes. La mitocondria genera energía para los diferentes procesos celulares en forma de ATP a través de la fosforilación oxidativa. Para ello requiere de la presencia de alrededor de cien proteínas localizadas en la membrana mitocondrial interna las cuales constituyen la llamada cadena transportadora de electrones o cadena respirato-

ria. Para ello, el ADNn codifica proteínas que participan en la fosforilación oxidativa además de un gran número de macromoléculas que forman parte de la estructura mitocondrial o que son necesarias para su función. Las proteínas codificadas por el ADNn deben ser trasladadas a la posición correcta dentro de la mitocondria.

La cadena transportadora de electrones se halla constituida por 5 complejos o unidades funcionales. Cada complejo a su vez, esta formado por varias proteínas (Tabla I).

Tabla I

Complejo	Actividad enzimática	Polipeptidos	Sintetizados por Genes ADNmt	Sintetizados por Genes ADNn
I	NADH:CoQ oxidoreductasa	25-28	7	18-21
II	Succinato:CoQ oxidoreductasa	5		5
III	CoQ:citocromo oxidoreductasa	11	1	10
IV	Citocromo c oxidasa	13	3	10
V	ATP sintasa	12	2	10

Así, defectos en el ADNmt o en los genes nucleares pueden causar enfermedades de la cadena respiratoria. Es decir, la deficiencia de uno de los complejos mencionados se puede asociar a diferentes síndromes; por otro lado es conocido que un síndrome puede ser causado por más de una deficiencia de alguno de estos complejos.

Clasificación de las enfermedades mitocondriales

Las mitocondriopatías se clasifican desde el punto de vista bioquímico o desde el punto de vista genético. Bioquímicamente, hay 5 categorías según el paso del metabolismo mitocondrial comprometido⁽⁶⁾:

1. defectos en el transporte de sustratos,
2. defectos en la utilización de sustratos,
3. defectos del ciclo de Krebs,
4. defectos de la cadena respiratoria,
5. defectos en el acoplamiento de fosforilación-

oxidación.

Desde el punto de vista genético, hay 3 categorías:

1. defectos en el ADNn,
2. defectos en el ADNmt
3. defectos en la comunicación intergenómica de los dos tipos de ADN.

Biología de las enfermedades mitocondriales

Como se mencionó, existen múltiples copias de ADNmt en cada célula y pueden coexistir ADNmt normal y mutado. Sin embargo, la fracción de ambos puede variar de célula a célula o de tejido a tejido, y puede modificarse en el transcurso del tiempo. La disfunción de los diferentes órganos varía entre los tejidos con alto y bajo requerimiento de energía. En general se afectan principalmente los órganos que dependen predominantemente de la energía mitocondrial (sistema nervioso central,

músculo, riñones, sistema endocrino). Sin embargo, como hay mitocondrias en todos los tejidos, todos pueden ser virtualmente afectados. Esta última característica es quizás la que más nos compromete, ya que hace que los médicos de las diferentes especialidades puedan tener alguna vez frente a ellos pacientes con mitocondriopatías.

La proporción de ADNmt mutado necesaria para la manifestación de enfermedad varía entre las distintas personas y los diferentes sistemas de órganos y tejidos. Este "umbral" de mutaciones del ADNmt depende finalmente del exquisito balance entre la oferta y la demanda oxidativa.

No debe olvidarse que la función mitocondrial también se puede ver afectada por otras circunstancias además de las genéticas tales como fármacos (iatrogénica) u otras patologías.

Manifestaciones clínicas

Las características clínicas de las mitocondriopatías no son estereotipadas y pueden resultar bastante ambiguas, especialmente en los niños. Así, los fenotipos resultan considerablemente heterogéneos; sin embargo, en muchos casos son característicos o al menos sugestivos.

Si bien las enfermedades mitocondriales pueden afectar numerosos órganos y sistemas, los que se comprometen con más frecuencia son músculos y cerebro, por lo que frecuentemente son denominadas "encefalomiopatías". Entre las manifestaciones clínicas más comunes se encuentran⁽⁷⁾: deterioro de funciones mentales, alteraciones motoras, cansancio fácil, intolerancia al ejercicio, depresión, epilepsia y accidentes cerebrovasculares e hipoacusia.

Además de estos hallazgos más característicos, las enfermedades mitocondriales pueden presentarse con signos y síntomas menos específicos⁽⁸⁾. Entre estos se incluyen: cardiopatías (cardiomiopatía, hipertensión y bloqueos), endocrinopatías (diabetes, insuficiencia pancreática exocrina, insuficiencia gonadal), patología ocular (retinitis, cataratas, ceguera, oftalmoplejía y ptosis), gastrointestinal (pseudoostrucción intestinal, hepatopatía, y pérdida de peso), nefropatía (disfunción no selectiva de la nefrona proximal recordando al síndrome de Fanconi), de la médula ósea (anemia sideroblástica hipo-

proliferativa y pancitopenia), entre otros.

A pesar de las consideraciones anteriores, la vasta mayoría de las mitocondriopatías pediátricas no se presenta como un síndrome clásico y, aunque la suma de signos y síntomas puede constituir un síndrome bien definido (MELAS, Síndrome de Kearns-Sayre, Síndrome de Pearson, etc), la presentación con sólo uno de tales hallazgos o signos y síntomas menos específicos hace necesario descartar una enfermedad mitocondrial. Por lo tanto la clínica provee la primera oportunidad para considerar el diagnóstico de mitocondriopatía.

Laboratorio

Los tests utilizados para el catastro de las mitocondriopatías incluyen la determinación de los niveles de lactato, piruvato, (y la relación lactato/piruvato o L/P) glucosa y cuerpos cetónicos⁽⁸⁾. Deben hacerse al menos cuatro determinaciones en el día después de 1 hora de cada comida. Simultáneamente debe monitorearse la glucosa y los ácidos grasos no esterificados. Se considera que la persistencia de una hiperlactacemia > 2,5 mmol/L (con elvada L/P y cuerpos cetónicos, principalmente en el período postabsortivo) es altamente sugestiva de deficiencia de la cadena respiratoria.

El diagnóstico bioquímico de los desórdenes de la cadena respiratoria mitocondrial requiere de cierta cautela para evitar confusiones con los defectos enzimáticos secundarios.

Los estudios bioquímicos fisiológicos de las vías de fosforilación oxidativa en el músculo en fresco han permitido algunos avances en la determinación de la actividad de los complejos enzimáticos.

Existe una serie de factores que deben ser considerados antes de interpretar los resultados de los estudios bioquímicos. La selección del tejido apropiado es problemática ya que si bien la obtención de músculo implica menos riesgos que otros tejidos como corazón, hígado o riñón, el músculo esquelético puede no ser representativo de una alteración determinada. Esto último es más frecuente en pediatría, ya que en los niños la disfunción de órganos aislados es más frecuente que en los adultos. Por otro lado, no todos los pacientes con deficiencias enzimáticas padecen una mitocondriopa-

tía, lo cual disminuye su especificidad.

El consenso para el diagnóstico en el análisis enzimático es afectado por otros factores entre los cuales se puede considerar: los altos niveles de actividad enzimática residual en los tejidos comprometidos, presencia de enfermedades musculares o neurológicas simultáneas, drogas, etc. Como para cualquier otro estudio enzimático, las variables del sustrato, tipo de muestra (mitocondrias aisladas, tejidos), cofactores, temperatura y pH influyen en el resultado final. Por todo lo expuesto se está intentando una adecuada estandarización del método.

Patología

Microscopía óptica

Las alteraciones morfológicas más constantes se reconocen especialmente en el tejido muscular esquelético mediante el empleo de técnicas especiales. La característica más importante, presente en muchas pero no en todas las biopsias de músculo, es la presencia de fibras rojas rasgadas o "haraposas" (RRF, "ragged-red fibers") con el método de tricómico de Gomori modificado. Una parte del nombre dado a estas fibras (red) se debe a que presentan parches rojos como consecuencia de la existencia de agregados de material granular predominantemente en las fibras de tipo I. Se dice además que estas fibras son rasgadas, rotas o haraposas ("ragged") por la distorsión de las miofibrillas, lo que le confiere a la fibra muscular un contorno ligeramente irregular cuando es cortada en forma transversal. La tinción para Succinato deshidrogenasa modificada (SDH) es el método más sensible para detectar agregados mitocondriales periféricos a nivel subsarcolemal e intermiofibrilar. La presencia de vacuolas con lípidos, glucógeno u otros materiales amorfos también es un hallazgo frecuente. La inmunohistoquímica para Citocromo c oxidasa (COX) es negativa o con actividad marcadamente reducida en las RRF de prácticamente todas las mitocondriopatías.

Microscopía electrónica

Este método permite demostrar que los agregados intracelulares observados con microscopía óptica

corresponden a mitocondrias alteradas. Estas mitocondrias son anormales en morfología (con formas bizarras), número (son más abundantes), tamaño (muy pequeñas o muy grandes) y distribución. Además, muchas mitocondrias presentan cristales dispuestos en forma concéntrica o longitudinal. En algunos de estos cristales puede encontrarse una imagen, que para muchos es patognomónica, conformando inclusiones con forma de "estacionamiento de autos" ⁽⁹⁾.

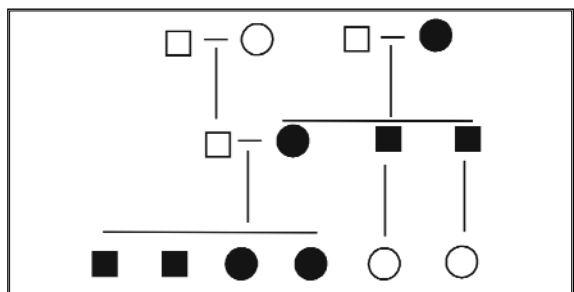
Genética

Los estudios genéticos de las citopatías mitocondriales son muy complejos. Esto se debe a que el ADNmt tiene una relación íntima con el ADNn ya que, como se explicó antes, la mayoría de las subunidades de los complejos de la cadena respiratoria son codificados por el ADNn. Por esto, en las enfermedades mitocondriales puede observarse cualquier forma de herencia: autosómica recesiva, dominante, ligada al cromosoma X, materna o esporádica.

El ADNmt puede sufrir rearrreglos estructurales (deleción simple, deleciones múltiples o duplicaciones) o bien mutaciones puntuales.

Así por ejemplo, algunas mitocondriopatías siguen un patrón de herencia mendeliana, si el defecto se encuentra en subunidades codificadas por el ADNn. Cuando hay una mutación puntual en el ADNmt la transmisión será obligatoriamente materna, sin que por ello este involucrado el cromosoma X del ADNn.

Una regla simple de la herencia materna de los defectos del ADNmt es la siguiente (Esquema): todos los hijos de las mujeres con alteraciones del ADNmt estarán afectados, mientras que ninguno de los hijos de los varones afectados tendrá la enfermedad.



Herencia por la línea materna de algunas enfermedades mitocondriales

Comentario final

Las enfermedades mitocondriales son trastornos metabólicos relativamente comunes, ocasionados por defectos en la cadena respiratoria mitocondrial. Sus manifestaciones pueden ser multisistémicas o localizadas en un solo tejido. Además, pueden ser adquiridas en forma esporádica o por herencia mendeliana o materna.

El diagnóstico de las mitocondriopatías es un desafío y requiere de un trabajo multidisciplinario ya que en los niños suelen presentarse con un gran espectro clínico y alteraciones bioquímicas no específicas o difíciles de demostrar.

Por otro lado, algunas manifestaciones son funcionales y no tienen un correlato morfológico claro en la microscopía óptica. Además, el examen

ultraestructural si bien puede ser de ayuda cuando se lo considera junto a otros hallazgos, por sí solo es inespecífico.

Los avances logrados en la comprensión de las bases genéticas moleculares de las enfermedades mitocondriales tienen una gran importancia en la detección y evaluación de las mismas. Sin embargo, al considerar los test genéticos, debemos señalar que los genes candidatos son muy numerosos y algunos probablemente aún desconocidos⁽¹⁰⁾.

Por lo tanto, a pesar de la gran explosión de conocimientos logrados en las últimas décadas en este terreno, queda un largo camino por recorrer en el futuro y las mitocondriopatías continuarán siendo un desafío diagnóstico.

Bibliografía

1. Rutledge JC, Finn LS. Pediatric mitochondrial disease: Do we have the energy to make the diagnosis? *Ped Dev Pathol* 2004; 7: 641-5.
2. Schwartz M, Vissing J. Paternal inheritance of mitochondrial DNA. *NEJM* 2002; 347 :576-80.
3. Cummins JM, Wakayama T, Yanagimachi R. Fate of microinjected sperm components in the mouse oocyte and embryo. *Zygote* 1997;5:301-308.
4. Ruano-Calderón L. Para entender las mitocondriopatías. *Arch Neurocién*, 2002;7:192-6.
5. Donald RJ. Mitochondrial DNA and Disease. *NEJM* 1995; 333: 638-644.
6. De Vivo DC. The expanding clinical spectrum of mitochondrial diseases. *Brain Dev* 1993;15:1-22.
7. Jackson MJ, Schaefer JA, Johnson MA, Morris AA, Turnbull DM, Bindoff LA. Presentation and clinical investigation of mitochondrial respiratory chain disease. A study of 51 patients. *Brain* 1995;118:339-57.
8. Sue CM, Hirano M, DiMauro S, De Vivo DC. Neonatal presentations of mitochondrial metabolic disorders. *Semin Perinatol* 1999;23:113-24.
9. Mierau GW, Tyson WR, Freehauf CL. Role of electron microscopy in the diagnosis of mitochondrial cytopathies. *Ped Dev Pathol* 2004; 7, 637-40
10. Aure K, Jardel C, Lombes A. Mitochondrial diseases: molecular mechanisms, clinical presentations and diagnosis investigations. *Ann Pathol* 2005; 25:270-81.