

Caracterização Bioquímica das Doenças Mitocondriais: uma revisão integrativa em teses e dissertações no período de (2000 a 2020)

Biochemical Characterization of Mitochondrial Diseases: an integrative review of theses and dissertations from (2000 to 2020)

Caracterización bioquímica de las enfermedades mitocondriales: una revisión integradora de tesis y disertaciones de (2000 a 2020)

Recebido: 11/08/2021 | Revisado: 20/08/2021 | Aceito: 24/08/2021 | Publicado: 25/08/2021

Izabel Rodrigues da Silva

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3094-3379>
Centro Universitário UNIFACID, Brasil
E-mail: izabel6418@gmail.com

Maisa Castelo Branco Couto de Miranda

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2656-7809>
Centro Universitário UNIFACID, Brasil
E-mail: mairamiranda395@gmail.com

Yara Rocha Bastos Castelo Branco

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1081-6030>
Centro Universitário UNIFACID, Brasil
E-mail: yarrarocho@yahoo.com.br

Rafael Soares Silva

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9994-6653>
Universidade de São Paulo, Brasil
E-mail: silva.rafael@usp.br

Resumo

As doenças mitocondriais constituem um importante grupo de doenças hereditárias do metabolismo de expressão clínica e genética heterogênea. Assim sendo, este artigo tem como objetivo caracterizar a produção científica sobre as doenças mitocondriais. Para tanto, foi realizada uma revisão integrativa da literatura sobre o tema. As informações obtidas foram analisadas a luz de Cooper (1984). A categoria que emergiu na coleta de dados e estruturou a discussão foi: contribuições conceituais e críticas acerca das doenças mitocondriais. Os resultados evidenciam a concentração dos estudos sobre as doenças mitocondriais na região sudeste do Brasil. Além disso, as pesquisas de um modo geral ressaltaram que em virtude da mitocôndria participar de vários processos celulares, ela torna-se um componente essencial para a célula eucariótica e que mutações que comprometam seu funcionamento podem gerar danos severos à célula, causando as chamadas doenças mitocondriais, que são o maior grupo de doenças hereditárias conhecidas, além de estarem relacionadas com doenças neurodegenerativas.

Palavras-chave: Doenças mitocondriais; Mitocôndrias; Bioquímica.

Abstract

Mitochondrial diseases constitute an important group of hereditary metabolic disorders with heterogeneous clinical and genetic expression. Therefore, this article aims to characterize the scientific production on mitochondrial diseases. Therefore, an integrative literature review on the subject was carried out. The information obtained was analyzed in the light of Cooper (1984). The category that emerged in the data collection and structured the discussion was: conceptual and critical contributions about mitochondrial diseases. The results show the concentration of studies on mitochondrial diseases in southeastern Brazil. In addition, research has generally highlighted that because mitochondria participate in various cellular processes, it becomes an essential component of the eukaryotic cell and that mutations that compromise its functioning can cause severe damage to the cell, causing so-called diseases mitochondrial diseases, which are the largest known group of inherited diseases, in addition to being related to neurodegenerative diseases.

Keywords: Mitochondrial diseases; Mitochondria; Biochemistry.

Resumen

Las enfermedades mitocondriales constituyen un grupo importante de trastornos metabólicos hereditarios con expresión clínica y genética heterogénea. Por tanto, este artículo tiene como objetivo caracterizar la producción científica sobre enfermedades mitocondriales. Por tanto, se realizó una revisión integradora de la literatura sobre el tema. La información obtenida fue analizada a la luz de Cooper (1984). La categoría que surgió en la recolección de datos y estructuró la

discusión fue: contribuciones conceptuales y críticas sobre las enfermedades mitocondriales. Los resultados muestran la concentración de estudios sobre enfermedades mitocondriales en el sureste de Brasil. Además, la investigación ha destacado en general que debido a que las mitocondrias participan en diversos procesos celulares, se convierte en un componente esencial para la célula eucariota y que las mutaciones que comprometen su funcionamiento pueden causar daños severos a la célula, provocando las llamadas enfermedades mitocondriales, que son el grupo más grande conocido de enfermedades hereditarias, además de estar relacionado con enfermedades neurodegenerativas.

Palabras clave: Enfermedades mitocondriales; Mitocondrias; Bioquímica.

1. Introdução

As doenças mitocondriais são o resultado de mutações herdadas ou espontâneas do DNAMT ou DNAN, levando à função anormal do sistema de fosforilação oxidativa. Mutações no DNAN resultam em deficiências da fosforilação oxidativa incluindo mutações em genes estruturais do complexo i e ii, bem como mutações resultando em erros na comunicação intergenômica, montagem do sistema de fosforilação oxidativa, homeostase e importação (Smeitink et al., 2001a).

Em um outro estudo Souza (2005) enfatiza que as doenças mitocondriais apresentam características heterogêneas devido à própria natureza e função da mitocôndria, que possui o seu próprio DNA (mtDNA). A disfunção mitocondrial pode afetar um único órgão ou ser uma doença que afeta todos os sistemas do corpo, de manifestação na infância ou na vida adulta, podendo ter um padrão de herança materna ou mendeliana. O diagnóstico é complexo e requer uma investigação criteriosa, passo-a-passo, com atenção a história clínica, exames laboratoriais, neuroimagem e, muitas vezes, a biópsia muscular para análise histoquímica, bioquímica e genética. A análise molecular é fundamental na definição do diagnóstico e os protocolos propostos até o momento são, geralmente, direcionados para um grupo de pacientes com características clínicas homogêneas.

Segundo a última classificação das doenças mitocondriais, podemos ter aquelas causadas por defeitos em genes codificados pelo DNAN: (1) defeitos em subunidades da cadeia respiratória; (2) defeitos em proteínas auxiliares; (3) defeito na sinalização Inter genômica; (4) defeitos no “lipid milieu”; (4) defeitos em motilidade/fusão/fissão. Já os defeitos no DNAMT podem ser divididos em: mutações em genes que sintetizam proteínas (TRNA, RRNA, REARRANJOS) e mutações em genes que codificam proteínas (multissistêmico, tecido-específico) (Dimauro, 2004; Dimauro & Hirano, 2005). O número 26 de mutações de ponto do DNAMT documentadas incluem mais de 118, além de numerosos rearranjos relatados (Dimauro & Schon, 2001).

Mutações deletérias em genes mitocondriais ocorrem muito mais frequentemente do que em genes nucleares, isto porque o DNAMT não tem mecanismo de reparo (Walker, 1992). Aproximadamente 38% do genoma mitocondrial, é codificado por componentes do complexo i, e defeitos que surgem das enzimas deste complexo são os mais comuns (Walker, 1992). As deficiências deste complexo resultam em um espectro extraordinariamente grande de apresentações clínicas, e o diagnóstico é realizado através da combinação de investigações clínicas, bioquímicas e genéticas (Munnich & Rustin, 2001; Smeitink et al., 2001B).

1.1 A função da Mitocôndria

As mitocôndrias são organelas intracitoplasmáticas, cuja principal função é a de prover energia à célula através do processo de fosforilação oxidativa. Estima-se que mais de 90% do ATP necessário aos diversos propósitos biológicos seja produzido por essa organela. (Rodrigues, 2005).

A mitocôndria é formada por quatro compartimentos: a membrana externa, membrana interna, espaço intermembrana e matriz. Na matriz mitocondrial ocorrem as principais atividades metabólicas da mitocôndria como o ciclo do ácido cítrico, a oxidação dos ácidos graxos e a síntese de ATP. A membrana interna apresenta invaginações ou cristas contendo o complexo enzimático (Complexo V) responsável pela síntese de ATP (ATP sintetase) e os componentes da cadeia respiratória, composta

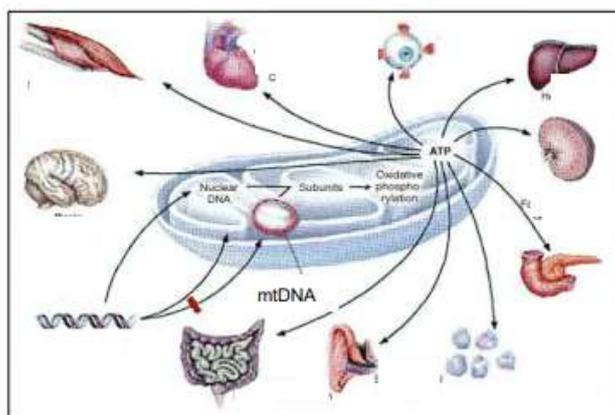
por quatro complexos enzimáticos transportadores de elétrons: Complexo I (NADH ubiquinona redutase), Complexo II (succinato ubiquinona redutase), Complexo III (ubiquinona citocromo c oxidoreductase) e o Complexo IV (citocromo c oxidase), juntamente com dois transportadores de elétrons móveis – coenzima Q10 (ubiquinona) e citocromo c. Estes cinco complexos, formam o sistema de fosforilação oxidativa (Wallace, 1994; Hatefi, 1985; Schagger & Pfeiffer, 2000).

Sabe-se que a mitocôndria é composta por mais de 1.000 proteínas diferentes. Portanto, pode-se estimar que as proteínas mitocondriais representem aproximadamente 3% de todas as proteínas celulares (levando-se em conta a recente estimativa de que o genoma humano contém aproximadamente 30.000 genes). A grande maioria das proteínas mitocondriais é codificada pelo núcleo, traduzida no citoplasma e transportada até o interior da mitocôndria. Pelo que se conhece atualmente da biogênese mitocondrial, podemos concluir que ocorre uma complexa comunicação entre a mitocôndria, o citosol e o núcleo celular. A mitocôndria exerce quatro funções biológicas fundamentais no nosso organismo, definidas como, a produção de adenosina trifosfato (ATP), a mediação da morte celular programada (apoptose), a produção de calor e, finalmente, sua importante contribuição na genética humana através do mtDNA (Finsterer, 2004).

A produção de ATP é a principal função da mitocôndria, que tem sido apropriadamente denominada de “casa de força” da célula. Toda a energia liberada da oxidação dos carboidratos, gorduras e proteínas é disponibilizada na forma de equivalentes reduzidos (prótons e elétrons) para dentro da cadeia respiratória, onde são transferidos através de um de gradiente eletroquímico, para a transformação de oxigênio em água e adenosina difosfato (ADP) em ATP (Ernster, 1984).

Pode-se assim deduzir que todo este complexo mecanismo de geração de energia celular deve funcionar em perfeita harmonia para que o organismo tenha energia suficiente ao suprimento dos mais diversos órgãos e tecidos do nosso corpo. Como consequência do mau funcionamento da rota metabólica da produção energética, temos, teoricamente, a manifestação dos mais diversos sinais e sintomas clínicos, envolvendo qualquer órgão ou tecido, afetando qualquer idade e envolvendo os mais diversos modos de herança, já que os complexos da CRM são codificados por dois genomas: o nuclear e o mitocondrial (Munnich e Rustin, 2001) (Figura 1).

Figura 1: Representação esquemática das funções da mitocôndria.



Fonte: Munnich e Rustin (2001)

1.2 Classificação das Doenças Mitocondriais

As doenças mitocondriais podem ser classificadas de acordo com critérios genéticos, bioquímicos ou clínicos. De acordo com os critérios genéticos, a mutação patogênica pode encontrar-se no genoma mitocondrial ou nuclear e suas consequências podem ser diretamente sobre a atividade das proteínas que compõe ou não a CRM (Finsterer, 2004) (Quadro 1). Será descrito somente as mutações que envolvem o genoma mitocondrial que codificam para proteínas da CRM, tRNA e rRNA.

Quadro 1: Classificação genética das mitocondriopatias.

1-Doenças causadas por mutações em genes do mtDNA que codificam para proteínas da CRM, tRNA ou rRNA
2-Doenças causadas por mutações no nDNA que codificam para proteínas da CRM
3-Doenças causadas por mutações no nDNA que codificam para proteínas fora da CRM (ataxia de Friedreich, Síndrome de Leigh COX deficiente, Paraparesia espástica hereditária, entre outros)
4-Doenças associadas com defeitos no funcionamento da CRM devido a mutações nos genes do nDNA que codificam para proteínas não mitocondriais.

Fonte: Finsterer (2004).

Em relação à classificação bioquímica, os defeitos podem estar no transporte inter ou intra-mitocondrial (deficiência da carnitina palmitoil-transferase), defeitos na utilização dos substratos (deficiência da piruvato desidrogenase), defeitos envolvendo o ciclo de Krebs (deficiência de fumarase), CRM (deficiência do complexo I, II, III, IV ou V). De acordo com os critérios clínicos, as mitocondriopatias podem ser classificadas como doença de um único órgão ou multissistêmica. Raramente as mitocondriopatias apresentam-se com envolvimento de um único órgão e, quando isso ocorre, com o passar do tempo, torna-se mutissistêmica (Finsterer, 2004).

Em muitas situações, é difícil estabelecer o limite de um grupo de sinais e sintomas associados e a caracterização de uma síndrome mitocondrial clássica. Isto ocorre devido à sobreposição de critérios, tanto sob o aspecto clínico, como laboratorial. Porém, algumas síndromes apresentam características distintas, permitindo seu reconhecimento e classificação. Atualmente, já passam de 40 síndromes descritas, geralmente denominadas pelo seu acrônimo (tabela 4) (Walker & Cols, 1996; Zeviani e Di Donato, 2004).

As disfunções mitocondriais causadas por mutações no DNA mitocondrial (mtDNA) representam um importante grupo de patologias humanas em que a severidade varia de médio a letal. Estudos epidemiológicos de mutações no mtDNA em adultos têm mostrado uma prevalência mínima de aproximadamente 1 para 5.000, o que coloca as doenças mitocondriais entre as desordens genéticas mais comuns (Cree; Samuels; Chinnery, 2009; Larsson, 2010; Poulton et al., 2010; Schon; Dimauro; Hirano, 2012).

Schon; Dimauro; Hirano (2012) apontam que as doenças mitocondriais são representadas por mutações pontuais e rearranjos de mtDNA (deleção, duplicação ou inversão) que comprometem diretamente a função mitocondrial. Desde a década de 80, mais de 270 mutações pontuais no mtDNA já foram descritas em humanos e, estão associadas a patologias de herança exclusivamente materna, natureza progressiva e com efeitos devastantes (Schon; Dimauro; Hirano, 2012).

Posto que não há ainda tratamento eficaz para estas patologias, grande enfoque tem sido dado à prevenção da sua transmissão para as gerações seguintes. No entanto, não é possível prever com acurácia o risco de uma mulher acometida por uma mutação no mtDNA transmitir a patologia para seus descendentes. Isto se deve, em parte, ao desconhecimento dos mecanismos moleculares que controlam a herança mitocondrial (Cree; Samuels & Chinnery, 2009; Poulton et al., 2010). Até o momento, mais de 270 mutações pontuais já foram descritas, afetando cada gene do mtDNA (Schon; Dimauro & Hirano, 2012).

Dentre as mutações pontuais, as mais comuns são: uma transição de A para G no nucleotídeo 3.243 do gene tRNA^{Leu(UR)} a qual causa encefalomiopatia mitocondrial, acidose láctica e episódios tipo acidente vascular cerebral (MELAS); uma transição de A para G no nucleotídeo 8.344 do gene tRNA^{Lys}, a qual causa epilepsia mioclônica com fibras Ragged-Red (MERRF); e uma transversão de T para G no nucleotídeo 8.993 do gene ATP6, a qual causa neuropatia periférica, ataxia, retinite pigmentosa, convulsões e demência (NARP) e Síndrome de Leigh herdada materno (MILS) (Schon; Dimauro; Hirano, 2012).

Com relação a rearranjos no mtDNA, os mais comuns são deleções parciais de grande escala que removem 2-10 kb de mtDNA (denominado Δ -mtDNAs) flanqueado por curtas sequências repetidas (5-13 pb) (Schon; Dimauro; Hirano, 2012). Essas

deleções podem ocorrer em praticamente qualquer porção da molécula de mtDNA, mas todas elas causam uma de três desordens patogenticamente similares: Síndrome de Kearns-Sayre; Oftalmoplegia Externa Crônica Progressiva (CPEO); ou Síndrome de Pearson (Schon; Dimauro & Hirano, 2012).

As doenças mitocondriais foram inicialmente descritas por Kearns e Sayre (1958) e logo após por Ernster (1959) e Luft (1962) (doença de Luft's) (Kearns e Sayre, 1958; Ernster e cols., 1959; Luft e cols., 1962). Em 1963, o mtDNA foi descoberto em 1974 foi constatado que os genes do mtDNA codificavam proteínas que eram componentes da CRM. Em 1980, ficou claro que a transmissão do mtDNA era pela linhagem materna. Anderson e cols. (1981), publicaram o sequenciamento completo do genoma mitocondrial (Anderson & Cols, 1981).

O presente estudo consiste em uma revisão integrativa sobre a caracterização bioquímica das doenças mitocondriais na Biblioteca Digital de Teses e Dissertações – BDTD com o intuito de caracterizar a produção científica referente a essa temática e sistematizar algumas das contribuições voltadas à caracterização bioquímica das doenças mitocondriais. Essa revisão é relevante pois esse compilado de pesquisas contribuem significativamente como norte para outras pesquisas e novos estudos.

2. Metodologia

Trata-se de uma revisão integrativa da literatura, a qual tem por finalidade reunir e sintetizar resultados de pesquisas acerca de um determinado tema, de maneira sistemática, contribuindo para o aprofundamento do conhecimento da área e permitindo conclusões acerca de uma questão específica (Mendes; Silveira & Galvão, 2008; Silva & Amaral; 2021; Freitas et al. 2021).

Para conduzir o caminho percorrido na Revisão Integrativa (RI), optou-se por trabalhar com as cinco fases do processo de elaboração proposto por Cooper (1984):

- **Formulação do problema** - A pergunta que conduziu o olhar na escolha e na leitura atenta das pesquisas foi: **O que as pesquisas apontam sobre as doenças mitocondriais?**
- **Coleta de dados** - As buscas foram realizadas na Biblioteca Digital Brasileira de Teses e Dissertações¹ no período de 20 anos. Neste estudo, foram incluídas teses e dissertações no intervalo de 2000 e 2020.
- **Avaliação dos dados** – Essa etapa tem grande relevância no estudo, pois é o momento de elucidar os principais achados dos pesquisadores que já investigaram a temática. A coleta das pesquisas foi organizada com vistas a contemplar os achados mais relevantes nos estudos analisados, mantendo uma padronização que possibilitou uma análise mais fidedigna. Elegeram-se alguns elementos que foram tabulados em uma planilha a partir da leitura atenta de cada pesquisa, sendo eles: identificação; características metodológicas dos estudos; aspectos conceituais; resultados e generalizações; outros dados interessantes.
- **Análise e interpretação dos dados** - Algumas questões centrais foram observadas, tanto no que se refere à parte teórica conceitual quanto às questões metodológicas nas pesquisas publicadas, a exemplo das diretrizes e dos princípios do DUA e sua aplicabilidade nos contextos educacionais.
- **Resultado da Análise dos juízes:** Verificar se os artigos respondiam à pergunta de pesquisa.

Para a análise dos dados e discussão dos resultados, propôs-se a estruturação a partir da seguinte categoria: a) contribuições conceituais e críticas acerca das **doenças mitocondriais**. Essa categoria emergiu na análise de conteúdo, a partir de uma organização temática que se propôs para contemplar os principais achados, não deixando de fora nenhum resultado de pesquisa ou elemento conceitual relevante que tenham sido abordados pelos pesquisadores,

¹ BDTD: <http://bdttd.ibict.br/>

3. Resultados e Discussão

Para realizarmos o mapeamento de pesquisas sobre a caracterização bioquímica das doenças mitocondriais, selecionamos para compor o corpus de pesquisa as seguintes fontes como descrito no Quadro 2.

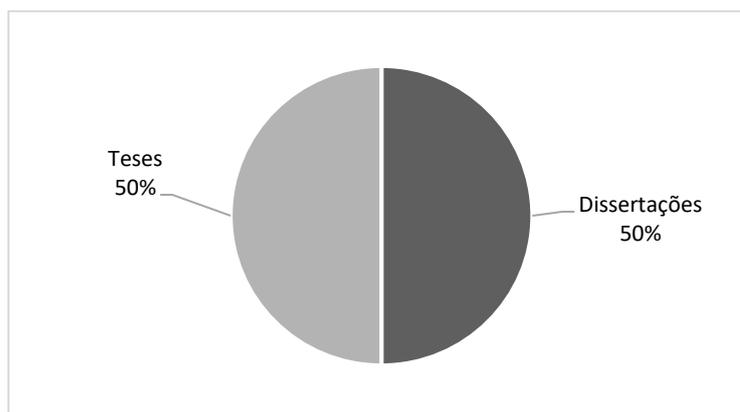
Quadro 2: Principais informações dos textos selecionados.

Ano	Autor	Instituição	Título
2002	Castro	Unicamp	Caracterização das principais mutações de ponto do DNA mitocondrial em um grupo de pacientes com doenças neurodegenerativas.
2005	Rodrigues	Unifesp	A expressão da proteína mitocondrial ci-39kda na identificação de doenças mitocondriais associadas a defeitos do complexo I.
2005	Souza	UFRGS	Um estudo clínico, bioquímico, histoquímico e genético-molecular de pacientes com doenças do DNA mitocondrial
2006	Gamba	Unifesp	Avaliação da síntese de óxido nítrico em defeitos da cadeia respiratória
2010	Shibao	USP	Análise comparativa entre a dosagem do lactato no líquido e sua detecção através da espectroscopia de prótons por ressonância magnética
2010	Chiaratti	Unicamp	Estudo do efeito da quantidade de cópias de DNA mitocondrial sobre o desenvolvimento embrionário = implicações na fertilidade e herança mitocondrial
2012	Silva	Unicamp	Apoptose induzida por palmitato em células HEPG2 depende da produção de TNF- α
2013	Fernandes	Unicamp	Análise comparativa clínica e molecular da neuropatia óptica hereditária de Leber (LHON)
2014	Machado	USP	Transferência de citoplasma submetido ao estresse oxidativo como modelo para o estudo da herança de doenças mitocondriais
2014	Miranda	Unicamp	Alterações mitocondriais e nucleares associadas à neuropatia óptica
2015	Macabelli	Ufscar	Derivação de células tronco pluripotentes induzidas a partir de pacientes com doenças mitocondriais como modelo de estudo da herança mitocondrial
2015	Ribeiro	UFMG	Caracterização clínica, neurorradiológica e genética de pacientes com síndrome de Leigh
2016	Rodrigues	Fiocruz	Efeito da depleção de ferro sobre Leishmania (Viannia) braziliensis uma análise ultraestrutural, proteômica e interação com matrizes de colágeno sintéticas
2016	Moda	USP	Estudos do gene nuclear MSC6 envolvido na tradução mitocondrial em <i>Saccharomyces cerevisiae</i>
2019	Santos Junior	UFPE	Estudo do padrão de expressão de genes associados a calcificações cerebrais em modelo de calcificação <i>in vitro</i> e possíveis alternativas de tratamento
2019	Santos	UFPR	Busca por casos mitocondriais raros em pacientes pediátricos

Fonte: Elaboração própria.

Como descrito anteriormente, encontramos 16 pesquisas, sendo 8 teses e 8 dissertações (Gráfico 1), podemos inferir em relação a esses percentuais a continuação das pesquisas a nível de doutorado. Quase que unanimidade que os pesquisadores partiram de suas pesquisas de mestrado dando sequência com o mesmo tema a nível de doutorado. Ou notadamente seguiram as linhas propostas pelos orientadores.

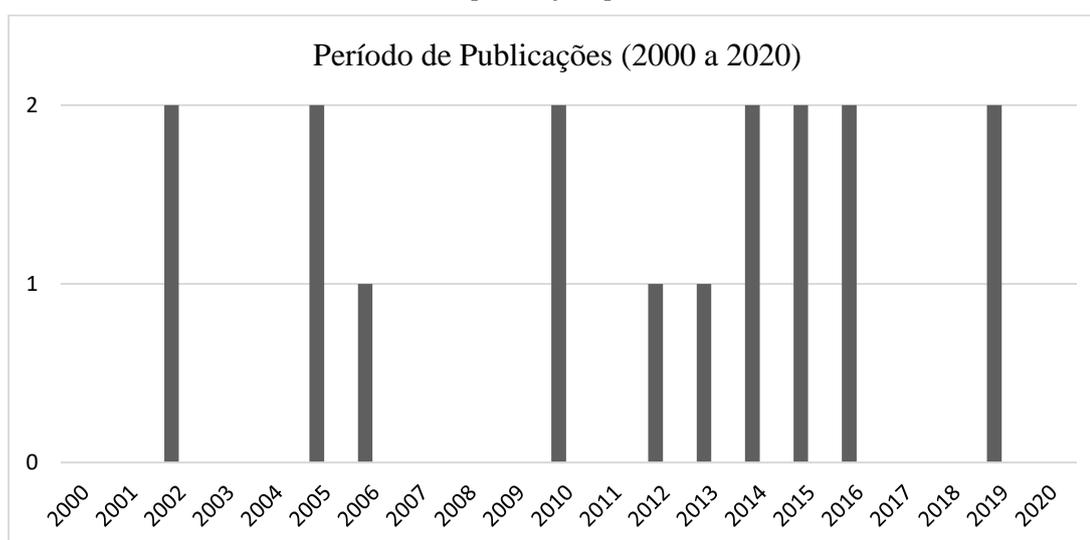
Gráfico 1: Número de teses e dissertações mapeadas.



Fonte: Dados da pesquisa

O Gráfico 2 mostra o número de publicações por ano no período de 2000 a 2020.

Gráfico 2: Número de publicações por ano de defesa.

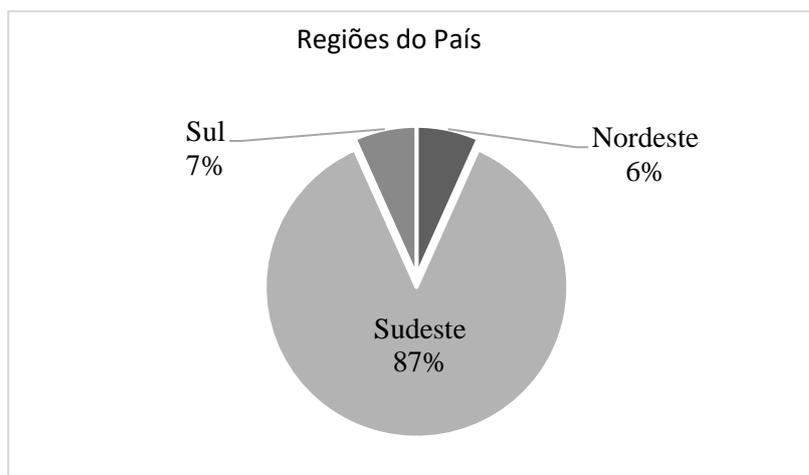


Fonte: Dados da Pesquisa.

Observamos nesse gráfico que, nos anos 2000, 2001, 2003, 2004, 2007, 2008, 2009, 2011, 2017, 2018 e 2020 nenhum trabalho foi encontrado na Biblioteca Digital de Teses e Dissertações. Nos anos 2002, 2005, 2010, 2014, 2015, 2016 e 2019 foram garimpadas duas pesquisas por ano com a temática estudada e apenas uma pesquisa nos anos de 2006, 2012 e 2013.

O Gráfico 3 mostra a região das Instituições de Ensino Superior (IES) onde os mestrandos e doutorando desenvolveram suas pesquisas.

Gráfico 3: Número de publicações por região do país.



Fonte: Dados da Pesquisa.

Esse gráfico mostra que a região sudeste – 13 (87%) concentrou o maior número de pesquisa, com destaque para as Universidades Unicamp, Unifesp e USP. Seguida da região Sul, 2 (7%) com pesquisas realizadas nas UFRGS e UFPR. Apenas uma pesquisa foi arrolada da Região Nordeste – 1 (6%) sendo realizada na UFPE.

As 16 produções foram orientadas por 13 docentes vinculados à programas de pós-graduação, como pode ser observado no Quadro 3.

Quadro 3: Orientadores de teses e dissertações que orientaram pesquisas sobre doenças mitocondriais em programas brasileiros de pós-graduação no período de 2000 a 2020.

Orientador (a)	Trabalhos orientados		
	Dissertação	Tese	Total
Aníbal Eugênio Vercesi	-	1	1
Claudia da Costa Leite	-	1	1
Célia Harumi Tengan	1	1	2
Edi Lucia Sartorato		2	2
Gabriel Forato Anhe	1	-	1
Iscia Lopes Cendes	1	-	1
Juliana Gurgel Giannetti.	1		1
José Batista de Jesus	-	1	1
João Ricardo Mendes de Oliveira	-	1	1
Marcos Roberto Chiaratti	2	-	2
Mário Henrique de Barros	1	-	1
Ricardo Lehtonen R. de Souza	-	1	1
Roberto Giugliani	1		1

Fonte: Elaboração própria.

Nesse quadro, podemos verificar a produção dos pesquisadores em relação á temática pesquisada, totalizando 16 produções entre teses e dissertações. Com destaque à pesquisadora Edi Lucia Sartorato que orientou duas pesquisas a nível de doutorado com a temática envolvendo doenças mitocondriais. O Quadro 4 apresenta os programas onde esses pesquisadores realizaram suas pesquisas.

Quadro 4: Programas de Pós-Graduação, onde foram produzidas as pesquisas Brasileiras no período de 2000 a 2020.

Programas de pós-graduação	Quantidade	%
Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres	1	6,25
Biologia Parasitária	1	6,25
Biotecnologia	1	6,25
Biologia Aplicada a Saúde,	1	6,25
Ciências Médicas	5	31,2
Ciências da Saúde	1	6,25
Fisiopatologia Médica	1	6,25
Genética Animal e Evolução	1	6,25
Genética Evolutiva e Biologia Molecular	1	6,25
Genética e Biologia Molecular	1	6,25
Genética	1	6,25
Neurologia	1	6,25
Total	16	100,0

Fonte: Dados da pesquisa.

Ao analisarmos o Quadro 4, observamos, em primeiro lugar, a grande diversidade de programas onde estas pesquisas têm sido produzidas no Brasil (12 ao todo). Isso provavelmente é fruto da natureza interdisciplinar das pesquisas que envolvem a temática em estudo. Este fato, por si só, já é revelador do largo espectro e da amplitude atingida pelas pesquisas que envolvem o estudo sobre as doenças mitocondriais.

3.1 Análise e contribuições das pesquisas acerca das doenças mitocondriais.

A pesquisa realizada por Castro (2002), teve como objetivos: a) pesquisar a presença das principais mutações de ponto no mtDNA de pacientes com quadro clínico sugestivo de MELAS, MERRF, NARP, :MILS e LHON; b) estabelecer a correlação genótipo-fenótipo tendo em vista a significativa variabilidade clínica destas entidades; c) quantificar a porcentagem de mtDNA mutante e normal em indivíduos afetados. O DNA foi obtido de amostras de sangue periférico. As regiões de interesse do mtDNA foram amplificadas pela reação em cadeia da polimerase (PCR). A detecção das mutações de ponto foi realizada pela triagem com enzimas de restrição e posteriormente confirmadas pelo sequenciamento manual das regiões envolvidas. A quantificação foi feita pelo sistema Kodak EDAS 290. Foram triados 120 pacientes para as principais mutações responsáveis pelas síndromes MELAS, MERRF, NARP, :MILSe LHON. Em sete pacientes foram observadas mutações de ponto no mtDNA. Entre oito pacientes com suspeita de Leber, dois apresentaram a mutação G11778A e uma mutação G3460A. Um paciente com suspeita de MELAS e quatro familiares assintomáticos deste apresentaram a mutação A3243G; uma paciente apresentou a mutação A8344G responsável por MERRF; dois irmãos com suspeita de NARP apresentaram a mutação G11778A responsável por Leber; nenhuma mutação no nucleotídeo 8993 foi encontrada.

Rodrigues (2005) apontou que as doenças mitocondriais são o resultado de mutações herdadas ou espontâneas do DNA mitocondrial (DNAm) ou DNA nuclear (DNAn) levando à função anormal do sistema de fosforilação oxidativa. Um dos defeitos no DNAn mais frequentemente descritos neste grupo de doenças são as deficiências isoladas do Complexo I, que é o maior complexo enzimático da cadeia respiratória com 42 subunidades (7 codificadas pelo DNAm). Propõe-se que a subunidade de 39kDa (CI-39kDa) apresente estreita correlação com a atividade enzimática do complexo I. Sendo assim, poderíamos interrogar se a diminuição da expressão de CI-39kDa, detectada por Western blotting, poderia ser utilizada como um método diagnóstico

para as deficiências do Complexo I, além deste método ter como vantagem a utilização de pequena porção de tecido congelado obtido por biópsia. Este trabalho teve como objetivo avaliar a frequência da diminuição da proteína mitocondrial CI-39kDa no músculo esquelético de pacientes com suspeita de doença mitocondrial, e verificar se mutações conhecidas em genes codificadores de subunidades do Complexo I estariam associadas à diminuição da expressão desta proteína. As proteínas foram obtidas através do lisado de músculo esquelético de 56 pacientes e 21 controles.

Como já mencionado anteriormente, Souza (2005) ao enfatizar que as doenças mitocondriais apresentam características heterogêneas devido à própria natureza e função da mitocôndria, traz os seguintes objetivos nesse trabalho: a) propor um protocolo combinando dados clínicos e laboratoriais para indicar a melhor forma de investigação molecular de pacientes com suspeita clínica de doença do DNA mitocondrial, b) Comparar os achados clínicos e laboratoriais nos pacientes com e sem mutação no mtDNA, c) avaliar quais são os fatores clínicos preditivos de mutação no mtDNA que podem ser utilizados como sinalizadores para o médico decidir quando deve ser realizado um procedimento diagnóstico invasivo e de alto custo, d) estimar a proporção de mtDNA mutado, através da técnica PCR em tempo real em um grupo de pacientes com deleção, correlacionando com a idade de início dos sintomas e gravidade de manifestações clínicas, e) relatar achados de RNM com espectroscopia por emissão de prótons em pacientes com deleção no mtDNA. Pacientes, material e métodos: Foram selecionados, no ambulatório de doenças mitocondriais do HCPA, 43 pacientes com suspeita clínica de doença mitocondrial.

Gamba (2006) recentemente observou que a mitocôndria produz óxido nítrico (NO), que além de radical livre, participa de vários processos fisiológicos. O NO, por si só, é relativamente não-reativo, e na mitocôndria possui uma ação inibitória sobre a citocromo c oxidase (COX). Entretanto, o NO pode ser convertido em um grande número de derivados mais reativos, que podem levar a lesões oxidativas em vários componentes mitocondriais, como o DNA mitocondrial (DNAm), proteínas e membranas mitocondriais. A síntese do NO na mitocôndria sugere que o NO tenha um papel regulador importante na função mitocondrial. O objetivo deste estudo foi avaliar a síntese de NO em linhagens celulares com diferentes defeitos na cadeia respiratória e verificar se existe nitração de proteínas, o que indicaria a presença de lesão oxidativa por radicais de nitrogênio. A síntese de NO foi verificada através da quantificação de nitritos e do uso de um marcador fluorescente para NO, o DAF-FM diacetato. Foram avaliadas linhagens celulares derivadas de osteosarcoma híbridas para as mutações 3243 A>G, 8344 A>G e deleção do DNAm, além de fibroblastos de pacientes com suspeita de doença mitocondrial e com doença mitocondrial confirmada.

Shibao (2010) avaliou a existência ou não de correlação entre a dosagem bioquímica do lactato no LCR e no sangue e a sua quantificação através da ERM em pacientes em investigação de encefalopatia mitocondrial. Não é de nosso conhecimento a existência de estudos semelhantes in vivo na literatura médica. MÉTODOS: 22 pacientes (idades entre 9 meses e 20 anos) em investigação diagnóstica por suspeita clínica de encefalopatia relacionada a DM participaram deste estudo prospectivo realizado entre novembro de 2005 a novembro de 2006. Foram comparados os valores do lactato nas dosagens séricas e líquóricas. Todos os pacientes realizaram RM e ERM e, quando presente, analisou-se o pico do lactato (PL). Os dados da quantificação do lactato obtidos nestas três modalidades foram comparados. RESULTADOS: A análise de correlação demonstrou evidências de associação entre as variáveis PL à ERM e lactato líquido ($p=0,001$); não foi evidenciada correlação entre os valores do PL à ERM e as medidas sanguíneas dessa substância ($p=0,736$) e entre as dosagens bioquímicas líquóricas e sanguíneas ($p=0,937$). CONCLUSÕES: Este estudo demonstrou a existência de correlação entre a dosagem bioquímica do lactato no LCR e o PL obtido através de ERM. A ERM do LCR é uma técnica factível e recomendamos que a mesma seja empregada rotineiramente em pacientes com suspeita ou em seguimento de DM com comprometimento do sistema nervoso central.

Chiaratti (2010) destacou que o DNA mitocondrial (mtDNA) dos mamíferos é composto por cerca de 16.500 pares de bases, tem herança exclusivamente materna, e codifica 13 polipeptídios essenciais para a função mitocondrial. Centenas a milhares de cópias de mtDNA estão presentes nas células somáticas dependendo da necessidade energética do tecido. No entanto,

oócitos contêm mais de 150.000 cópias, no mínimo uma ordem de magnitude maior que a quantidade presente na maioria das células somáticas. Além disso, uma vez que o mtDNA não é replicado durante o desenvolvimento inicial, a quantidade de mtDNA por célula diminui a cada ciclo celular. Portanto, o número de cópias presentes no oócito deve ser suficiente para atender às necessidades energéticas das células embrionárias até que a replicação do mtDNA seja restabelecida. Os resultados apontaram que em embriões bovinos competentes são capazes de regular o conteúdo de mtDNA no estágio de blastocisto independentemente do número de cópias presente no oócito. Estes achados contrariam o que foi descrito em camundongos, ressaltando a necessidade de estudos com espécies mais semelhantes ao homem antes do uso clínico do mtDNA como ferramenta para o diagnóstico de fertilidade em mulheres. Além disso, este trabalho tem implicação na manipulação da herança mitocondrial e, portanto, na prevenção da transmissão de sérias patologias causadas por mutações no mtDNA.

A pesquisa de Silva (2012) avaliou se a apoptose de hepatócitos induzida pelo palmitato é dependente do aumento da produção de TNF- α . Para testar tal hipótese, utilizamos o Infliximabe, um anticorpo monoclonal específico anti-TNF- α , como ferramenta farmacológica para reverter as injúrias provocadas pelo palmitato. Foi observado que após 6 horas de tratamento com o palmitato houve um aumento de expressão de mRNA de TNF- α levando a um aumento de apoptose 24 horas após à exposição com o ácido graxo. Este fenômeno concordou temporalmente com um aumento na fosforilação das proteínas I κ K, I κ β e JNK, indicativo de ativação da via de sinalização do TNF- α . A apoptose induzida pelo palmitato foi revertida pela adição de um inibidor geral de síntese proteica (Ciclohexamida) ou de um anticorpo neutralizante para o TNF- α circulante. Além disso, a produção de EROs e a disfunção mitocondrial induzidas pelo palmitato também foram revertidos por estas estratégias farmacológicas. Com base em tais resultados, concluímos que a apoptose, o acúmulo de EROs e da disfunção mitocondrial induzidas pelo palmitato em células HepG2 são dependentes da produção de TNF- α .

Fernandes (2013) apontou que a neuropatia óptica hereditária de Leber (LHON) é uma doença mitocondrial, com herança materna, caracterizada pela perda (sub) aguda, indolor e bilateral da visão, escotoma central ou cecocentral e discromatopsia, devido à degeneração do nervo óptico por apoptose das células parvo ganglionares da retina. As três mutações primárias G11778A, T14484C e G3460A são responsáveis por 90 a 95% dos casos da LHON e acometem subunidades dos genes MT-ND4, MT-ND6 e MT-ND1, respectivamente, que codificam proteínas para o complexo I da cadeia respiratória. Somente 5% dos pacientes possuem uma das demais mutações secundárias. Na análise estatística das variáveis estudadas houve diferença significativa para recorrência familiar materna, campo visual e presença de mutação, dentre os 63 pacientes com neuropatia óptica, sendo que achados mostraram que o quadro clínico clássico da doença descrito por Leber há mais de um século tem boa confiabilidade. Ao comparar as mesmas variáveis entre os 14 mutantes do grupo I com os 4 mutantes do grupo II, não houve diferença estatisticamente significativa para nenhuma das variáveis, evidenciando que o diagnóstico de LHON é molecular, através do rastreamento das mutações (inicialmente as primárias). Não foi possível estabelecer relação entre o uso abusivo do tabaco e álcool e uma suscetibilidade genética de base, isto é, a mutação da LHON, entre os pacientes com neuropatia óptica de etiologia a esclarecer e com consumo abusivo destes agentes.

Patologias causadas por mutações no DNA mitocondrial (mtDNA) como descrito nos estudos de Machado (2014) constituem um importante grupo de doenças genéticas em humanos. Todavia, devido ao desconhecimento dos mecanismos que governam a herança mitocondrial, não existem métodos eficientes que permitam prever ou intervir na herança destas patologias. Estudos recentes indicam que mutações no mtDNA são seletivamente eliminadas na linhagem germinativa. O presente projeto investigou se o embrião é capaz de eliminar mitocôndrias disfuncionais durante o desenvolvimento pré-implantação. Para tanto, zigotos de camundongo foram tratados com clorometil-X-rosamina (MitoTracker Red CMXRos) e fotossensibilizados por 0, 2,5, 5, 10, 20 e 60 s. Houve diminuição da taxa de blastocisto, com bloqueio total do desenvolvimento quando a fotossensibilização foi realizada por período igual ou superior a 20 s. Os resultados apontaram que o embrião de camundongo é capaz de destruir mitocôndrias disfuncionais durante o desenvolvimento à blastocisto. Novos estudos deverão fornecer

evidências adicionais e esclarecer os mecanismos moleculares que fundamentam esses achados

Miranda (2014) realizou estudos sobre a Neuropatia Óptica Hereditária de Leber (LHON) e a Atrofia Óptica Autossômica Dominante (ADOA ou OPA1) e as classificou como doenças caracterizadas pela perda da visão bilateral, devido a uma degeneração do nervo óptico. Ambas as doenças apresentam também acuidade visual reduzida, discromatopsia, palidez do nervo óptico e escotoma central ou centrocecal. A LHON é causada por mutações no DNA mitocondrial (mtDNA), onde três dessas mutações representam 95% dos casos (mutações primárias principais G11778A, T14484C e G3460A) e as mutações subsequentes representam apenas 5% do total (mutações raras). A ADOA é causada por mutações (mais de 300) no gene nuclear OPA1. É possível que no Brasil a presença e frequência das alterações relacionadas à LHON e ADOA sejam diferentes das encontradas em outras partes do mundo. Por isso, o presente estudo teve como principais objetivos rastrear mutações e haplogrupos associadas à LHON e detectar mutações no gene OPA1 em pacientes brasileiros com hipótese diagnóstica de LHON e com Neuropatia Óptica de etiologia a esclarecer. Também foi objetivo otimizar o método de PCR Multiplex Alelo Específico e padronizar as plataformas de alto rendimento TaqMan® OpenArray® e Iplex Gold/Maldi TOF MS para o rastreamento da LHON. Foram avaliados 101 pacientes, sendo 67 com hipótese diagnóstica de LHON e 34 com neuropatia óptica de etiologia a esclarecer.

Sobre a síndrome de Leigh (SL) Ribeiro (2015) reforça que essa síndrome é uma doença mitocondrial mais comum na infância. Apresenta grande heterogeneidade de manifestação clínica e também do ponto de vista genético, sendo que atualmente existe relato de mutações em mais de 50 genes responsáveis por causar a doença. É causada por mutações tanto no DNA nuclear como no DNA mitocondrial e, assim, diferentes formas de herança podem estar envolvidas: mendeliana (autossômica recessiva ou ligada ao cromossomo X) e materna. Esse estudo objetivou caracterizar clínica, neurorradiológica e geneticamente os pacientes com síndrome de Leigh (SL)/síndrome de Leigh-like (SLL) acompanhados no Ambulatório de Doenças Neuromusculares do HC-UFMG. Os resultados do estudo bioquímico da cadeia respiratória mitocondrial realizado pela orientadora do projeto na Columbia University, em 2013, conforme protocolo daquela instituição, foram utilizados nesta pesquisa. Finalmente, pesquisaram-se cinco das mutações de ponto mais comuns no DNA mitocondrial (DNAmít) (3243A>G; 8344A>G; 8993T>G; 8993T>C; 1644T>G).

Macabelli (2015) investigou em iPSCs derivadas de pacientes com desordens mitocondriais a existência de um mecanismo celular que elimina as moléculas de mtDNA com mutações patogênicas. Para tanto, foram utilizados fibroblastos heteroplásmicos portadores da mutação pontual A3243G no mtDNA causadora de encefalomiopatia mitocondrial, acidose láctica e episódios tipo acidente vascular cerebral (MELAS); fibroblastos heteroplásmicos portadores de uma deleção de 4,9 kb no mtDNA causadora da Síndrome de Kearns-Sayre (KSS) e fibroblastos Controle, contendo apenas mtDNA selvagem. A derivação de linhagens portadoras de KSS resultou em iPSCs com baixos níveis de mtDNA mutante (< 0,1%), e na eliminação de moléculas mutantes ao longo do cultivo. A derivação de linhagens portadoras de MELAS resultou em iPSCs com alta taxa de mutação (> 98%), também com indícios de diminuição da quantidade de moléculas mutantes ao longo do cultivo. No entanto, ao contrário do esperado, não houve diminuição da quantidade de cópias de mtDNA nas iPSCs em relação aos fibroblastos em todas as linhagens (Controle, KSS e MELAS), sendo que as iPSCs de MELAS e KSS apresentaram um aumento significativo na quantidade de cópias de mtDNA, provavelmente devido a efeitos causados pela mutação no mtDNA. Por fim, resultados de expressão gênica das iPSCs do grupo MELAS revelaram indícios de mecanismos autofágicos direcionados a mitocôndria provavelmente devido aos efeitos causados pela alta taxa da mutação.

Rodrigues (2016) em sua tese objetivou analisar o efeito da depleção de ferro sobre o crescimento celular, a ultraestrutura, a expressão proteica e a interação de *L. (V.) braziliensis* com matrizes de colágeno sintéticas. Os resultados demonstraram que a depleção de ferro interrompe a proliferação celular e compromete a ultraestrutura da mitocôndria. Este comprometimento é caracterizado pela diminuição da atividade do complexo IV que acarreta na redução do consumo de oxigênio

e na despolarização do potencial de membrana mitocondrial. No entanto, enquanto alguns parasitos morrem devido à disfunção mitocondrial outros conseguem resistir ao estresse nutricional e sobreviver. Foi observado que os promastigotas aumentaram a expressão de RNAm dos transportadores de ferro (LIT1) e heme (LHR1) em meio depletado de ferro. Também foram detectados aumentos na expressão proteica de LIT1 e da enzima ferro-redutase (LFR1). Provavelmente, a elevação da expressão dos transportadores possibilita o aumento ou a manutenção da concentração intracelular do metal dos parasitos, contribuindo para sua sobrevivência.

Moda (2016) ressaltou que a participação em diversos processos celulares torna a mitocôndria um componente essencial para a célula eucariótica. Sendo assim, mutações que comprometam seu funcionamento podem gerar danos severos à célula, causando as chamadas doenças mitocondriais, que são o maior grupo de doenças hereditárias conhecidas, além de estarem relacionadas com doenças neurodegenerativas como Parkinson e Alzheimer. Dessa maneira, é de fundamental importância que sejam realizados estudos a respeito da biogênese mitocondrial para compreender seu funcionamento na saúde e na doença, de forma que seja possível elaborar novas formas de tratamento. Por ser um aeróbico facultativo, e o grande avanço na sua manipulação genética *Saccharomyces cerevisiae* é considerada o melhor modelo de estudo de biogênese mitocondrial. Foi descrito em nosso laboratório o gene nuclear GTF1 como necessário para o processo de tradução das proteínas mitocondriais em *S. cerevisiae* conjuntamente com Pet112p e Her2/Qrs1p e para o suprimento de glutaminil-tRNAGln na organela.

Em um estudo mais recente Santos Júnior (2019) apontou que calcificações cerebrais (CC) são um achado comum em neuroimagens de pacientes com desordens metabólicas, genéticas ou doenças mitocondriais. A calcificação cerebral familiar primária (CCFP) é uma doença neurodegenerativa calcificante rara, caracterizada pela presença de depósitos anormais de hidróxiapatita em regiões específicas do cérebro, como o tálamo e os gânglios da base. Até o presente, 5 genes foram associados a CCFP: SLC20A2, XPR1, PDGFβ, PDGFRβ e MYORG. Outra desordem que apresenta o fenótipo das CC é a Esclerose Tuberosa (ET), uma síndrome neurocutânea, onde aproximadamente 80% dos casos estão relacionados com a perda da função dos genes TSC1 ou TSC2. Na ET, as CC são relatadas como sendo difusas e sem padrão de simetria ou bilateralidade. Objetivamos então, através de um modelo de calcificação *in vitro*, avaliar o padrão de expressão de genes associados as CC e possíveis alternativas de tratamento. De maneira geral, tanto o calcitriol, quanto o alendronato exerceram um papel positivo na expressão dos genes dentro de um contexto de calcificação, além de diminuir a própria calcificação induzida no modelo celular. Nossos resultados indicam a possibilidade de novos estudos e novas abordagens acerca do tratamento de doenças que tem as CC como um de seus fenótipos.

Santos (2019) reforça que mitocôndrias são organelas celulares complexas envolvidas em diversos processos celulares e principalmente na produção energética, em forma de ATP, o que ocorre através do sistema de fosforilação oxidativa (OXPHOS) localizado nas cristas mitocondriais (CM). Alterações em proteínas mitocondriais podem levar a deficiência energética e doenças mitocondriais (DM), expressando sintomas como atraso no desenvolvimento físico e cognitivo, fraqueza muscular, epilepsias, perda de visão ou audição, problemas gastrointestinais e falha de órgãos específicos em qualquer fase da vida. A exata prevalência de DM é difícil de se estabelecer devido sua heterogeneidade genética e clínica, porém, sugere-se uma prevalência infantil de aproximadamente 1/16000 pacientes na Europa. A classificação clínica tende a ser mais complexa que a genética, tendo em vista que a relação entre genótipo e fenótipo não é bem estabelecida. Esta complexidade muitas vezes torna o diagnóstico clínico impreciso e com variabilidade nas abordagens médicas, limitando o aconselhamento genético e impactam na busca por um diagnóstico adequado.

4. Considerações Finais

Disfunções mitocondriais causadas por mutações no DNA mitocondrial (mtDNA) representam um importante grupo de patologias humanas. No entanto, não é possível prever com acurácia o risco de uma mulher acometida por uma mutação no

mtDNA transmitir a patologia para seus descendentes. Isso se deve, em parte, ao desconhecimento dos mecanismos moleculares que controlam a herança mitocondrial. Logo, as doenças mitocondriais constituem um importante grupo de doenças hereditárias do metabolismo de expressão clínica e genética heterogênea as pesquisas de um modo geral ressaltaram que em virtude da mitocôndria participar de vários processos celulares, ela torna-se um componente essencial para a célula eucariótica e que mutações que comprometam seu funcionamento podem gerar danos severos à célula, causando as chamadas doenças mitocondriais, que são o maior grupo de doenças hereditárias conhecidas, além de estarem relacionadas com doenças neurodegenerativas.

Nesse sentido, as mitocôndrias são organelas intracitoplasmáticas envoltas por duas membranas e estão presentes em quase todas as células eucariontes. A função principal atribuída à mitocôndria é a de fornecer energia à célula. Essa produção de energia ocorre devido ao processo de fosforilação oxidativa, que se baseia no transporte e na utilização de determinados substratos por vários complexos enzimáticos: o piruvato (produto da glicólise) e os ácidos graxos livres.

As doenças mitocondriais constituem um importante grupo de doenças hereditárias do metabolismo de expressão clínica e genética heterogênea. A maioria das doenças mitocondriais descritas é causada por disfunções ao nível do sistema da fosforilação oxidativa, ocasionando conseqüentemente uma deficiente produção de energia. Além disso, pode se manifestar simplesmente como uma intolerância ao exercício e até como doenças que atingem todos os sistemas do corpo, isto é, pode acometer o sistema nervoso central e periférico e os sistemas endócrino, hematopoiético, gastrointestinal e óptico.

Assim, estas doenças podem ser causadas por alterações no genoma mitocondrial, no genoma nuclear ou na interação entre ambos. Estas disfunções podem afetar qualquer órgão ou tecido do organismo, embora os músculos esquelético e cardíaco e o sistema nervoso central sejam os mais afetados, devido à sua elevada dependência do metabolismo energético. Em suma, não existe tratamento efetivo para os distúrbios mitocondriais, visto que estes são causados pela deficiência ou diminuição da atividade das mitocôndrias, em que não havendo produção suficiente de energia na célula, resulta na morte das células e, a longo prazo, falência dos órgãos, ou seja, qualquer tipo de alteração no funcionamento das mitocôndrias pode acarretar graves conseqüências para a saúde. O que se pode fazer é retardar a progressão da doença com o uso de vitaminas, hidratação e alimentação equilibrada, todas com orientação médica.

Referências

- Amaral Fernandes, M. S. (2013). Análise comparativa clínica e molecular da neuropatia óptica hereditária de Leber (LHON).
- Anderson, S., Bankier, A. T., Barrell, B. G., de Bruijn, M. H., Coulson, A. R., Drouin, J., & Young, I. G. (1981). Sequence and organization of the human mitochondrial genome. *Nature*, 290(5806), 457-465.
- Burgeois, M., Goutieres, F., Chretien, D., Rustin, P., Munnich, A., & Aicardi, J. (1992). Deficiency in complex II of the respiratory chain, presenting as a leukodystrophy in two sisters with Leigh syndrome. *Brain & development*, 14(6), 404-408.
- Castro, D. M. de. (2013) Caracterização das principais mutações de ponto do DNA mitocondrial em um grupo de pacientes com doenças neurodegenerativas.
- Chiaratti, M. R. (2010). Estudo do efeito da quantidade de cópias de DNA mitocondrial sobre o desenvolvimento embrionário= implicações na fertilidade e herança mitocondrial.
- Cree, L. M., Samuels, D. C., & Chinnery, P. F. (2009). The inheritance of pathogenic mitochondrial DNA mutations. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1792(12), 1097-1102.
- Cooper, H. (1986). The integrative research review: A systematic approach sage publications: Beverly Hills, 1984, 143 pp. *Educational Researcher*, 15(8), 17-18.
- DiMauro, S., & Schon, E. A. (2001). Mutações do DNA mitocondrial em doenças humanas. *American Journal of Medical Genetics*, 106 (1), 18-26.
- DiMauro, S. (2004). Mitochondrial medicine. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, 1659(2-3), 107-114.
- DiMauro, S., & Hirano, M. (2005). Mitochondrial encephalomyopathies: an update. *Neuromuscular disorders*, 15(4), 276-286.
- Finsterer, J. (2004). Mitocondriopatias. *European Journal of Neurology*, 11 (3), 163-186.

- Ernster, L., Ikkos, D., & Luft, R. (1959). Atividades enzimáticas da mitocôndria do músculo esquelético humano: uma ferramenta na pesquisa metabólica clínica. *Nature*, 184 (4702), 1851-1854.
- Freitas, T. N., de Araújo, N. F. M., da Silva Sousa, D. L., Medeiros, A. M., de Araújo Júnior, M. A., da Silva, I. R., & Silva, R. S. (2021). Avaliação Escolar na Educação Especial: Um mapeamento na Revista Brasileira de Educação Especial no período de (2006-2020). *Research, Society and Development*, 10(6), e59310616334-e59310616334.
- Gamba, J. (2006). Avaliação da síntese de óxido nítrico em defeitos da cadeia respiratória.
- Holt, I. J., Harding, A. E., & Morgan-Hughes, J. A. (1988). Deletions of muscle mitochondrial DNA in patients with mitochondrial myopathies. *Nature*, 331(6158), 717-719.
- Hatefi, Y. (1985). The mitochondrial electron transport and oxidative phosphorylation system. *Annual Review of biochemistry*, 54(1), 1015-1069.
- GP, S. (1958). Retinitis pigmentosa, external ophthalmoplegia, and complete heart block: unusual syndrome with histologic study in one of two cases. *AMA Archives of Ophthalmology*, 60(2), 280-289.
- Luft, R., Ikkos, D., Palmieri, G., Ernster, L., & Afzelius, B. (1962). A case of severe hypermetabolism of nonthyroid origin with a defect in the maintenance of mitochondrial respiratory control: a correlated clinical, biochemical, and morphological study. *The Journal of clinical investigation*, 41(9), 1776-1804.
- Machado, T. S. Transferência de citoplasma submetido ao estresse oxidativo como modelo para o estudo da herança de doenças mitocondriais (Doctoral dissertation, Universidade de São Paulo).
- Macabelli, C. H. (2015). Derivação de células tronco pluripotentes induzidas a partir de pacientes com doenças mitocondriais como modelo de estudo da herança mitocondrial.
- Moda, B. S. (2016). Estudos do gene nuclear MSC6 envolvido na tradução mitocondrial em *Saccharomyces cerevisiae* (Doctoral dissertation, Universidade de São Paulo).
- Miranda, Paulo Maurício do Amôr Divino. (2014) Alterações mitocondriais e nucleares associadas à neuropatia óptica.
- Munnich, A., & Rustin, P. (2001). Clinical spectrum and diagnosis of mitochondrial disorders. *American journal of medical genetics*, 106(1), 4-17.
- Poulton, J., Chiaratti, M. R., Meirelles, F. V., Kennedy, S., Wells, D., & Holt, I. J. (2010). Transmission of mitochondrial DNA diseases and ways to prevent them. *PLoS Genetics*, 6(8), e1001066.
- Rodrigues, A. De S. (2005) A expressão da proteína mitocondrial ci-39kda na identificação de doenças mitocondriais associadas a defeitos do complexo I.
- Rodrigues, C. M. (2016) Efeito da depleção de ferro sobre *Leishmania (Viannia) braziliensis* uma análise ultraestrutural, proteômica e interação com matrizes de colágeno sintéticas.
- Ribeiro, B. S. V. (2015). Caracterização clínica, neurorradiológica e genética de pacientes com síndrome de Leigh.
- Rodrigues, C. M. (2016). Efeito da depleção de ferro sobre *Leishmania (Viannia) braziliensis* uma análise ultraestrutural, proteômica e interação com matrizes de colágeno sintéticas (Doctoral dissertation).
- Santos Júnior, E. F. D. (2019). Estudo do padrão de expressão de genes associados a calcificações cerebrais em modelo de calcificação in vitro e possíveis alternativas de tratamento.
- Silva, R. S., & Amaral, C. L. C. (2021). A educação especial e inclusiva no ensino de química: um mapeamento de teses e dissertações no período de 2009 a 2019. *Revista Teias*, 22(66), 296-308.
- Silva, R. S., & costa Amaral, C. L. (2021). As contribuições da Defectologia e da Teoria Histórico-Cultural no Ensino de Química para o deficiente visual: um estado da arte em teses e dissertações (2000-2019). *Communitas*, 5(9), 346-364.
- Santos, V. R. D. (2019) Busca por casos mitocondriais raros em pacientes pediátricos.
- Souza, C. F. M. D. (2005). Um estudo clínico, bioquímico, histoquímico e genético-molecular de pacientes com doenças do DNA mitocondrial.
- Silva, C. S. da. (2012) Apoptose induzida por palmitato em células HEPG2 depende da produção de TNF- α .
- Shibao, S. (2010). Análise comparativa entre a dosagem do lactato no líquido e sua detecção através da espectroscopia de prótons por ressonância magnética.
- Schägger, H., & Pfeiffer, K. (2000). Supercomplexes in the respiratory chains of yeast and mammalian mitochondria. *The EMBO journal*, 19(8), 1777-1783.
- Smeitink, J., van den Heuvel, L., & DiMauro, S. (2001). The genetics and pathology of oxidative phosphorylation. *Nature Reviews Genetics*, 2(5), 342-352.
- Smeitink, J., Sengers, R., Trijbels, F., & van den Heuvel, L. (2001b). Human NADH: ubiquinone oxidoreductase. *Journal of bioenergetics and biomembranes*, 33(3), 259-266.
- Schon, E. A., DiMauro, S., & Hirano, M. (2012). Human mitochondrial DNA: roles of inherited and somatic mutations. *Nature Reviews Genetics*, 13(12), 878-890.
- Wallace, D. C. (1994). Mitochondrial DNA mutations in diseases of energy metabolism. *Journal of bioenergetics and biomembranes*, 26(3), 241-250.
- Wallace, D. C., Singh, G., Lott, M. T., Hodge, J. A., Schurr, T. G., Lezza, A. M., & Nikoskelainen, E. K. (1988). Mitochondrial DNA mutation associated with Leber's hereditary optic neuropathy. *Science*, 242(4884), 1427-1430.
- Walker, J. E. (1992). The NADH: ubiquinone oxidoreductase (complex I) of respiratory chains. *Quarterly reviews of biophysics*, 25(3), 253-324.