

## La gamma delle malattie mitocondriali - Robert K. Naviaux, MD, PhD

La biologia mitocondriale è una delle aree in più veloce crescita della genetica e della medicina, connessa con discipline scientifiche che vanno dalla embriologia al cancro, alle malattie infettive. Invero, ora si sa che disturbi nel metabolismo mitocondriale giocano un ruolo non solo in rare malattie infantili, ma sono anche coinvolte in molte malattie comuni dell'invecchiamento, incluse malattie del cuore, diabete, malattia di Parkinson e demenza. Questo articolo costituisce un sintetico aggiornamento sulla biologia molecolare per medici, consulenti genetici, ed altri professionisti sanitari che possono trovarsi essi stessi coinvolti nella cura di persone con malattia mitocondriale e loro familiari.

**Un mitocondrio differente per ogni tessuto-** I medici e la maggior parte dei biologi, pensavano che i mitocondri sono piccole salsicce monomorfe nelle nostre cellule che producono adenosin trifosfato (ATP). In realtà, il mitocondrio assume forme diverse e serve per un gran numero di differenti funzioni metaboliche. La forma di ciascun mitocondrio è caratterizzata dalla cellula specializzata nella quale risiede. (*ved. EXCEPTIONAL PARENT, June 1977, pp.40-42 per diapositive delle differenti forme di mitocondrio*).

Tutti dicevano, che ci sono circa 250 differenti tipi di cellule nel corpo umano. I geni espressi in ciascun tipo di cellula sono fatti su misura dalla trascrizione selettiva per far fronte ai bisogni specializzati. Allo stesso modo, ciascun mitocondrio è fatto su misura per far fronte ai bisogni della cellula nella quale risiede. In effetti, ci sono differenti mitocondri con funzioni metaboliche specializzate per molte dei 250 diversi tipi di cellule nel nostro corpo.

La maggior parte delle cellule nucleate del nostro corpo contengono da 500 a 2000 mitocondri. Nel cono fotorecettore dell'occhio, i mitocondri costituiscono fino all'80% del volume intracellulare. Nei muscoli extraoculari come il lateral rectus, essi raggiungono il 60% e nel muscolo cardiaco essi rappresentano il 40% del volume della cellula.

Alcuni tipi di cellule hanno solo pochi mitocondri. Le piastrine, per esempio, hanno solo da due a sei mitocondri. I globuli rossi del sangue non contengono mitocondri, ma la loro cellula precursore, il proeritroblasto, è criticamente dipendente dalla funzione mitocondriale fino a che si differenzia in un maturo globulo rosso.

I mitocondri sono i soli organelli cellulari che si sapeva avere un loro proprio DNA (DNA mitocondriale o mtDNA), distinto dal DNA nucleare (nDNA). Difetti nel nDNA possono essere ereditati da entrambi i genitori ma, a causa di una peculiarità del processo di fertilizzazione, i difetti dei geni del mtDNA sono ereditati solo dalla madre.

**Fabbriche energetiche e molto più-** La conoscenza comune in biologia e medicina è che la funzione mitocondriale sia solo come "centrali energetiche" per la cellula.

Questa eccessiva semplificazione è un errore che ha frenato il nostro progresso verso la comprensione della biologia sottostante la malattia mitocondriale.

Servono circa 3000 geni per fare un mitocondrio. Il DNA mitocondriale codifica appena 37 di questi geni; i geni rimanenti sono codificati nel nucleo della cellula e le proteine risultanti sono trasportate al mitocondrio. Solo circa il 3% dei geni necessari per fare un mitocondrio (100 dei 3000) sono destinati alla produzione di ATP. Più del 95% (2900 su 3000) sono coinvolti in altre funzioni legate ai compiti specializzati delle cellule differenziate nei quali risiedono. Questi compiti cambiano mentre noi ci sviluppiamo dall'embrione all'età adulta, ed i nostri tessuti crescono, maturano, e si adattano allo sviluppo postnatale.

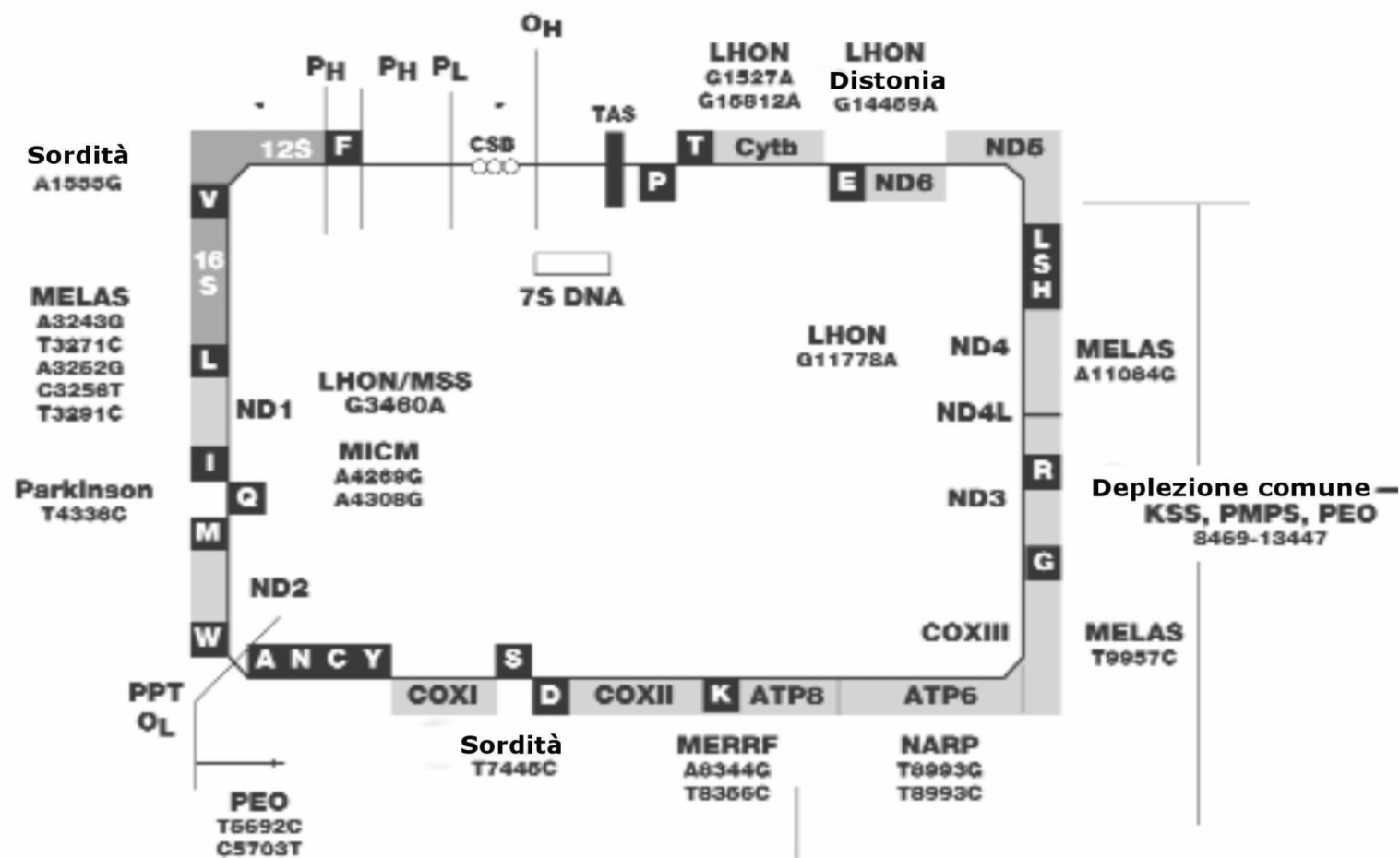
Queste altre funzioni non collegate all'ATP sono intimamente coinvolte con la maggior parte dei più importanti processi metabolici usati da una cellula per costruire, rompere, e riciclare i suoi blocchi di costruzione molecolare. Le cellule non possono perfino fare l'RNA ed il DNA di cui necessitano per svilupparsi e funzionare senza mitocondri. I blocchi costituenti l'RNA ed il DNA sono purine e pirimidine. I mitocondri contengono gli enzimi che controllano la velocità per la biosintesi delle pirimidine (diidroorotato deidrogenasi\*) e la sintesi dell'eme (sintetasi dell'acido äaminolevulinico) necessario per produrre l'emoglobina. Nel fegato, i mitocondri sono specializzati alla detossificazione dell'ammoniaca nel ciclo dell'urea. I mitocondri sono inoltre coinvolti nel metabolismo del colesterolo, per la sintesi degli estrogeni e del testosterone, nel metabolismo dei neurotrasmettitori, e nella produzione di radicali liberi e la loro detossificazione. Essi fanno tutto questo in aggiunta alla rottura (ossidazione) dei grassi, delle proteine e carboidrati che noi mangiamo e beviamo.

TABELLA 1

### I complessi proteici della catena di trasporto degli elettroni mitocondriali

| Complesso     | Attività enzimatica                        | Inibitori                | Subunità mitocondriali | Subunità nucleari | Isoforme tessuto-specifiche |
|---------------|--|--------------------------|------------------------|-------------------|-----------------------------|
| <b>I</b>      | NADH:Ossidoriduttasi CoQ                   | Rotenone                 | 7                      | 43+               | Si                          |
| <b>II</b>     | Succinato:Ossidoriduttasi CoQ              | Malonato                 | 0                      | 4                 | Si                          |
| <b>III</b>    | CoQ:Citocromo bc1 ossidoriduttasi          | Antimicina               | 1                      | 10+               | Si                          |
| <b>IV</b>     | Citocromo c ossidasi                       | Cianuro, Azide, CO       | 3                      | 10                | Si                          |
| <b>V</b>      | ATP sintetasi:Traslocatore di protoni      | Efrapeptina, oligomicina | 2                      | 14                | Si                          |
| <b>DHO-QO</b> | Diidroorotato:Ossidoriduttasi CoQ          |                          | 0                      | 1                 | No                          |
| <b>ETF-QO</b> | Flavoproteina di trasporto degli elettroni |                          | 0                      | 1                 | ?                           |
| <b>ANT</b>    | Traslocatore del nucleotide adenina        |                          | 0                      | 1                 | Si                          |

FIGURA 1  
Anatomia delle patologie del DNA mitocondriale umano - 16.569 BP



MELAS — encefalomiopatia mitocondriale con acidosi lattica ed episodi di simil-ictus; LHON — Neuropatia ottica ereditaria di Leber  
MSS — sindrome simil-sclerosi multipla; MCIM — cardiomiopatia ereditata maternalmente; PEO — oftalmoplegia esterna progressiva  
MERRF — epilessia mioclonica con fibre rosse sfilacciate; NARP — debolezza muscolare neurogena, atassia, retinite pigmentosa;  
KSS — sindrome di kearn-Sayre; PMPS — sindrome di Pearson midollo Pancreas; ND — subunita' del complesso 1; TAS —  
Termination Associated Sequence; PPT — tratto polipurinico O<sub>L</sub> — origine replicazione corda sottile O<sub>H</sub> — origine replicazione corda  
Sottile; P<sub>H</sub> — promotore corda spessa; P<sub>L</sub> — promotore corda sottile.

**DNA mitocondriale-** La sequenza standard con la quale tutto il mtDNA umano viene comparato è chiamata "Sequenza di Cambridge". Essa fu sequenziata da molti diversi mtDNA umani da un laboratorio del Medical Research Council (MRC) di Cambridge in Gran Bretagna nel 1981. Fred Sanger, l'eccellente biochimico, ricevette il suo secondo Premio Nobel in parte per questo lavoro. Il cromosoma mitocondriale della Sequenza di Cambridge è lungo 16.569 basi e predominantemente circolare, sebbene siano state anche trovate forme lineari della stessa lunghezza. Esso codifica 13 proteine, 22 tRNA e 2 RNA ribosomali.

In pratica, quando viene sequenziato il mtDNA di qualsiasi specifica persona, verranno osservate un certo numero di variazioni rispetto alla Sequenza di Cambridge. La grande maggioranza di queste variazioni sono semplici polimorfismi e non sono clinicamente significative.

In effetti, una regione del mtDNA, chiamata Regione Controllo (precedentemente conosciuta come D-loop) è così polimorfica che è diventata utile per scopi giudiziari fornendo "l'impronta DNA" dei sospetti in investigazioni criminali.

La Fig.1 è una mappa della anatomia patologica del mtDNA umano. Essa elenca alcune delle mutazioni patologiche conosciute e le malattie alle quali esse possono condurre.

Diversamente dal nDNA, dove le mutazioni ereditarie sono quasi sempre presenti nello stesso numero in ogni cellula del corpo (una copia per quelle dominanti e legate al cromosoma X, e due per le malattie recessive), la gran quantità delle mutazioni del mtDNA può variare drammaticamente da cellula a cellula, e perfino da tessuto a tessuto.

Il termine eteroplasmia si riferisce a questa coesistenza cioè del tipo selvatico (naturale non mutato) e di mtDNA mutato all'interno della stessa cellula (eteroplasmia intracellulare) e all'interno di cellule differenti (eteroplasmia intercellulare).

La presenza di una mutazione in alcune copie del mtDNA non conduce inesorabilmente alla malattia. Ad esempio, ad alcune persone può essere stata loro individuata una certa quantità della mutazione NARP nel loro sangue ma possono rimanere asintomatici fino ad età molto avanzata. Altri con la stessa identica mutazione possono morire nei primi due anni di vita. Tale eteroplasmia rende estremamente difficile la consulenza genetica e la diagnosi prenatale delle malattie del mtDNA. Attualmente, noi non abbiamo sufficienti conoscenze della patogenesi e dello sviluppo di queste malattie per fare previsioni attendibili

TABELLA 2

**La gamma della malattia mitocondriale**

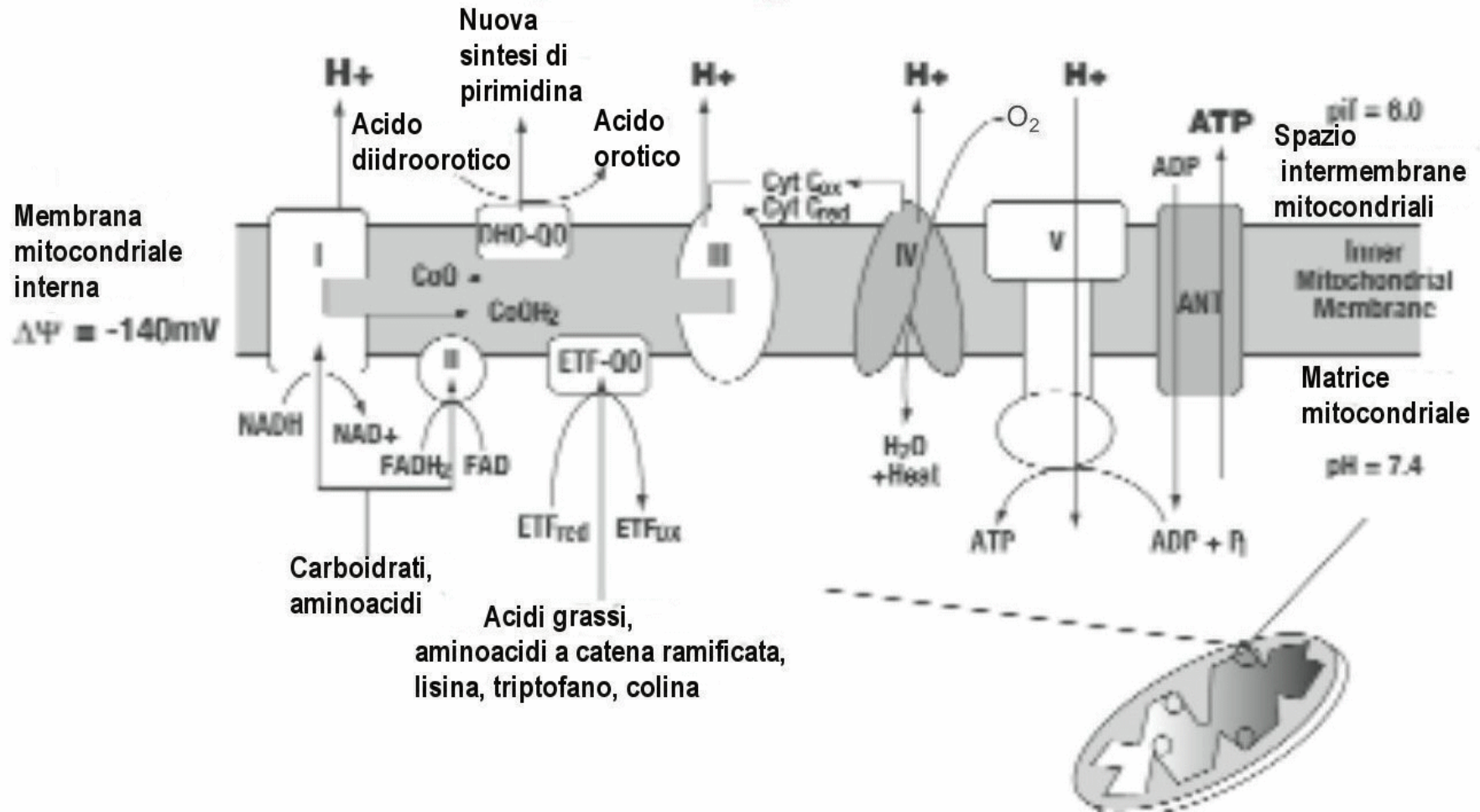
Questa tabella presenta solamente un campione delle molte malattie genetiche ed acquisite che possono essere primariamente o secondariamente coinvolte nei disturbi delle funzioni mitocondriali. Esse dimostrano l'importanza del dialogo intergenomico in collegamento con l'ampia varietà delle malattie associate alla disfunzione mitocondriale.

|   |   |  |
|---|---|--|
| <p><b>Alcune malattie conosciute per essere associate con mutazioni del mtDNA</b><br/>         MELAS<br/>         MERRF<br/>         NARP<br/>         Malattia mioneurogastrointestinale ed encefalopatia (MINGE)<br/>         Sindrome Pearson Marrow<br/>         Kearns-Sayre-CPEO<br/>         Neuropatia ottica ereditaria di Leber (LHON)<br/>         Sordità aminoglicoside-associata<br/>         Diabeti con sordità</p> | <p><b>Alcune malattie Mendeliane (nDNA) delle funzioni mitocondriali che coinvolgono la regolazioni dell'omeostasi del combustibile</b><br/>         Malattia di Luft<br/>         Sindrome di Leigh (Complesso I), COX, PDH<br/>         Malattia di Alper<br/>         MCAD, SCAD, SCHAD, VLCAD, LCHAD<br/>         Aciduria glutarica II<br/>         Cardiomiopatia infantile letale<br/>         Atassia di Friedereich<br/>         Diabete giovanile ad insorgenza in età adulta<br/>         Ipertermia maligna<br/>         Malattia dell'utilizzazione del chetone<br/>         Sindrome da deplezione del mtDNA<br/>         Carenza reversibile do COX infantile<br/>         Vari difetti del ciclo di Kreb<br/>         Carenza di piruvato deidrogenasi<br/>         Carenza di piruvato carbossilasi<br/>         Carenza di fumarasi<br/>         Carenza di carnitina palmitol trasferasi</p> | <p><b>Alcune malattie primarie degli enzimi mitocondriali</b><br/>         Acidemia metilmalonica<br/>         Porfiria eritropoietica<br/>         Acidemia propionica<br/>         Porfiria acuta intermittente<br/>         Porfiria variegata<br/>         Malattia delle urine sciroppose<br/>         Iperglicinemia non chetotica<br/>         Anemia ereditaria sideroblastica<br/>         Carenza di OTC<br/>         Carenza di CPS</p> |
|---|---|--|

## Malattie associate talvolta alla disfunzione mitocondriale

|   |  |   |   |
|---|--|---|---|
| <p><b>Alcune malattie mendeliane (nDNA) con secondario disturbo della funzione mitocondriale</b></p> <p>Emocromatosi<br/> Malattia di Wilson<br/> Malattia di Batten<br/> Wolff-Parkinson-White ††<br/> Malattia di Huntington<br/> malattia di Menkers<br/> Sindrome di Lesch-Nyhan</p> <p>† mutazioni del nDNA colpiscono proteine che alterano le funzioni mitocondriali senza essere collocate nei mitocondri</p> <p>†† La WPW generalmente non ha causa mitocondriale ma talvolta si vedono congiuntamente alle cause della carenza di complesso I</p> | <p><b>Poligeniche e genetrofiche</b></p> <p>Invecchiamento<br/> Diabete mellito di tipo II<br/> Malattia cardiaca aterosclerotica<br/> Malattia di Parkinson<br/> Demenza di Alzheimer<br/> Arresto cardiaco congestivo<br/> Emicrania ereditata maternamente<br/> Ipercolesterolemia rispondente alla niacina<br/> Cardiomiopatia post-partum<br/> Miopatia alcolica<br/> Encefalopatia di Wernicke<br/> Sindrome di Reye<br/> Linfoma di Burkitt (BCL2)<br/> Metastasi cancerose (NM23)<br/> Sindrome del colon irritabile<br/> Paralisi gastrica-GI dismotilità</p> | <p><b>Autoimmunitarie</b></p> <p>Sclerosi multipla<br/> Lupus sistemico eritematoso<br/> Artrite reumatoide<br/> Tirotossicosi<br/> Cirrosi biliare primaria<br/> Lupus procainamide<br/> Sindrome di Gullain-Barré</p> | <p><b>Ambientali</b></p> <p>Tossicità AZT<br/> Tossicità FIAU<br/> Avvelenamento da piombo, cianuro e mercurio<br/> Ipoglicemia da frutto tossico di Ackee<br/> Cardiotossicità desossirubina<br/> Aminoglicosio ototossicità e nefrotossica<br/> Avvelenamento Amytale<br/> Avvelenamento da monossido di carbonio<br/> Nefrotossicità da amfotericina<br/> Parkinsonismo MPTP<br/> Carenza di vitamine come pellagra, beri beri, cichetsia, e neuropatia assonale ICU ed anemia perniciosia</p> |
|---|--|---|---|

## FIGURA 2 Catena di trasporto degli elettroni



**Bioenergetica e catena di trasporto degli elettroni-** I mitocondri producono energia in forma di ATP attraverso le azioni concertate di circa 100 proteine localizzate dentro e sulla membrana mitocondriale (Figura 2). Queste proteine sono chiamate collettivamente catena di trasporto degli elettroni (ETC) o catena respiratoria (RC). Esse funzionano come una brigata di portatori molecolari, che passano gli elettroni ad secondo gradiente energetico, mentre pompano ioni idrogeno (protoni) fuori dalla matrice mitocondriale nello spazio tra le membrane interna ed esterna. Questo spazio diventa positivamente carico e acido relativamente alla matrice mitocondriale. Il gradiente risultante dagli ioni idrogeno immagazzina energia chimica nella forma di un potenziale chemiosmotico. Il meccanismo attraverso il quale il potenziale chemiosmotico dei protoni viene sfruttato per generare l'energia usata per produrre ATP fu per la prima volta delucidato dal biochimico britannico Peter Mitchell, il quale ricevette il Premio Nobel nel 1978 per questo lavoro.

La ETC viene convenzionalmente detta essere costituita da 5 complessi. Ciascun complesso è in realtà una collezione di molte dozzine di proteine che lavorano insieme in un largo assemblaggio macromolecolare per produrre la forza di riduzione catalitica che noi misuriamo con gli esami ETC standard. Solo i primi tre complessi fanno passare elettroni. Il quarto complesso (COX) usa gli elettroni che riceve per ridurre l'ossigeno dissolto ( $O_2$ ) ad acqua ( $H_2O$ ). Il quinto complesso è la ATP sintetasi stessa.

In aggiunta ai nominati complessi dal I fino al V, tre altri complessi sono essenziali per il normale funzionamento della ETC. Questi sono il didroorotato: CoQ-ossidoriduttasi (DHO-QO), la flavoproteina di trasporto degli elettroni CoQ-ossidoriduttasi\* (ETF-QO), ed il nucleotide di trasporto adenina\* (ANT). La loro localizzazione relativa all'interno della ETC viene indicata nella Fig. 2 e la loro attività enzimatica è stata elencata nella Tabella 1.

### **Ossigeno di tipo reattivo e apoptosi**

In circostanze normali, la sintesi della ATP è strettamente accoppiata con il consumo di ossigeno. Comunque, durante una febbre, in certe malattie mitocondriali e nel cancro i mitocondri diventano parzialmente "dissociati" e viene consumato più ossigeno di quanto ne viene realmente usato per produrre ATP. In queste circostanze, cresce drammaticamente la produzione di radicali liberi prodotti dalla ETC.

I radicali liberi sono un sottoinsieme di molecole conosciute come ossigeno di tipo reattivo. Queste molecole partecipano ai processi di segnalazione, ma possono anche reagire con molte molecole differenti nelle cellule producendo danni ossidativi. Quando i residui del mtDNA vengono ossidati, diventa più difficile per la polimerasi mitocondriale copiarli accuratamente, con il risultato di deplezioni, riarrangiamenti, e altre mutazioni. I lipidi nelle membrane cellulari e mitocondriali sono perossidati, diventando rigide e con buchi. Le proteine possono venire danneggiate e parzialmente non ripiegabili a seguito della ossidazione.

C'è una crescente evidenza che la produzione di ossigeno di tipo reattivo è controllata durante le malattie infettive dalle citochine ed è coinvolta nei processi di segnale che talvolta portano ad un tipo di morte cellulare programmata chiamata apoptosi. Questo è un processo altamente evoluto e sofisticato designato a sacrificare certe cellule infette nel corpo attraverso la loro uccisione, in modo da limitare la diffusione dell'infezione alle cellule limitrofe. In un certo numero di malattie mitocondriali, comunque, questo processo si ritorce e certe cellule critiche, come i neuroni nel cervello, possono soffrire eccessive perdite per la apoptosi, portando ad inconvenienti neurologici associati alle infezioni che sono così comuni nelle malattie mitocondriali.

### **Definizione di malattia mitocondriale**

Le malattie mitocondriali sono il risultato sia di mutazioni ereditarie che spontanee nel mtDNA o nel nDNA che portano ad una alterazione della funzione delle proteine o delle molecole di RNA che normalmente risiedono nei mitocondri (fig.1). I problemi connessi con la funzione mitocondriale, comunque, possono limitarsi a colpire solo alcuni tessuti come risultato di fattori avvenuti durante lo sviluppo e la crescita che noi ancora non conosciamo. Perfino quando consideriamo isoforme tissutospecifiche di proteine (Tabella 1), è difficile spiegare la varietà di tipi di sistemi di organi colpiti nelle sindromi di malattie mitocondriali che si vedono clinicamente.



### **Genocopie delle malattie mitocondriali**

Poiché i mitocondri compiono così tante differenti funzioni in differenti tessuti, ci sono letteralmente centinaia di differenti malattie mitocondriali. Ciascuna malattia produce uno spettro di anomalie che può essere confuso sia dai pazienti che dai medici nei primi stadi della diagnosi. A causa delle complesse interazioni tra centinaia di geni e cellule che devono cooperare per tenere in moto uniforme la nostra macchina metabolica, è un marchio delle malattie mitocondriali che *identiche mutazioni del mtDNA possano non produrre identiche malattie*. Le genocopie sono malattie che sono causate dalla stessa mutazione ma che possono non manifestarsi allo stesso modo clinicamente.

### **Fenotipo delle malattie mitocondriali**

L'inverso è altrettanto vero: differenti mutazioni nel mtDNA e nDNA possono portare alle stesse malattie. In genetica, sono conosciuti come fenocopie. Un buon esempio è la sindrome di Leigh, che può essere causata da circa una dozzina di differenti difetti genetici. La sindrome di Leigh, originariamente la descrizione neuropatologica del cervello di un bambino affetto, fu descritta da Denis Leigh, eccellente medico britannico, nel 1951.

TABELLA 3

## Presentazioni atipiche della malattia mitocondriale

| <i>Diagnosi</i> | <i>Caratteristiche atipiche</i>  | <i>Difetti mitocondriali</i>                                 |
|-----------------|--|--|
| Epilessia       | Manifestazione improvvisa tra 1 e 8 anni con o senza infezione, peggioramento notturno, EEG non focale | Deplezioni del mtDNA, riarrangiamenti e mutazioni puntiformi |
| Schizofrenia    | Attacchi epilettici  | MELAS  |

|  |  |   |
|--|--|---|
| Ritardo del linguaggio isolato                   | Lattato elevato nel sangue                                 | MELAS   |
| Paralisi cerebrale                               | Peggiora con infezioni                                     | NARP, GAI   |
| Diabete tipo II                                  | Astenia, perdita dell'udito                                | MELAS   |
| Leucodistrofia                                   | Ipotonia   | Delezioni del mtDNA e riarrangiamenti                           |
| Autismo  | Attacchi epilettici  | Duplicazioni e delezioni del mtDNA                              |
| Sindrome della morte infantile improvvisa (SIDS) | Ipoglicemia  | NARP, MCAD, LCHAD   |
| Leucemia   | Trombocitopenia ereditata maternalmente                    | Delezioni del mtDNA e riarrangiamenti                           |
| Emicrania  | Perdita dell'udito, ictus, diabete                         | MELAS   |
| Perdita precoce dell'udito                       | Età minore di 40 anni                                      | MELAS, LCHAD  |
| Riflusso infantile refrattario                   | Carenza di carnitina, arresto della crescita a 6 mesi      | GAI, LCHAD, fenocopie MELAS                                     |
| Sclerosi multipla                                | Attacchi epilettici  | Mutazioni del mtDNA   |
| Insufficienza epatica                            | Non riscontrati virus o tossine, lattato elevato           | Carenza della polimerasi mitocondriale e/o deplezione del mtDNA |
| Cecità   | Atrofia ottica, distonia                                   | LHON  |
| Acidosi tubulare renale                          | Acido lattico elevato, ipotonia                            | Carenza del complesso I, COX, delezioni del mtDNA               |
| Arresto cardiaco                                 | Cardiomiopatia ipertrofica non valvolare prima dei 50 anni | Delezioni del mtDNA, riarrangiamenti e mutazioni puntiformi     |
| Pancreatite cronica                              | Episodi di simil-ictus                                     | MELAS   |

Oggi, noi sappiamo che essa, una delle più mortali malattie mitocondriali, porta alle caratteristiche anomalie della MRI simmetrica bilaterale del tronco cerebrale, del cervelletto, e dei gangli basali e spesso è accompagnata da elevati livelli di acido lattico nel sangue o nel liquido cerebrospinale. Il tasso di mortalità è circa del 50% all'anno dopo la diagnosi. La sindrome di Leigh può essere causata dalla mutazione NARP, dalla mutazione MERRF\*, dalla carenza del complesso I, dalla carenza di citocromo ossidasi (COX), dalla carenza di piruvato deidrogenasi (PDH), e di altri cambiamenti del DNA non mappato.

Comunque, non tutti i bambini con queste anomalie nel DNA andranno a sviluppare la sindrome di Leigh. La Fig.3 è un diagramma Venn che illustra questo punto.

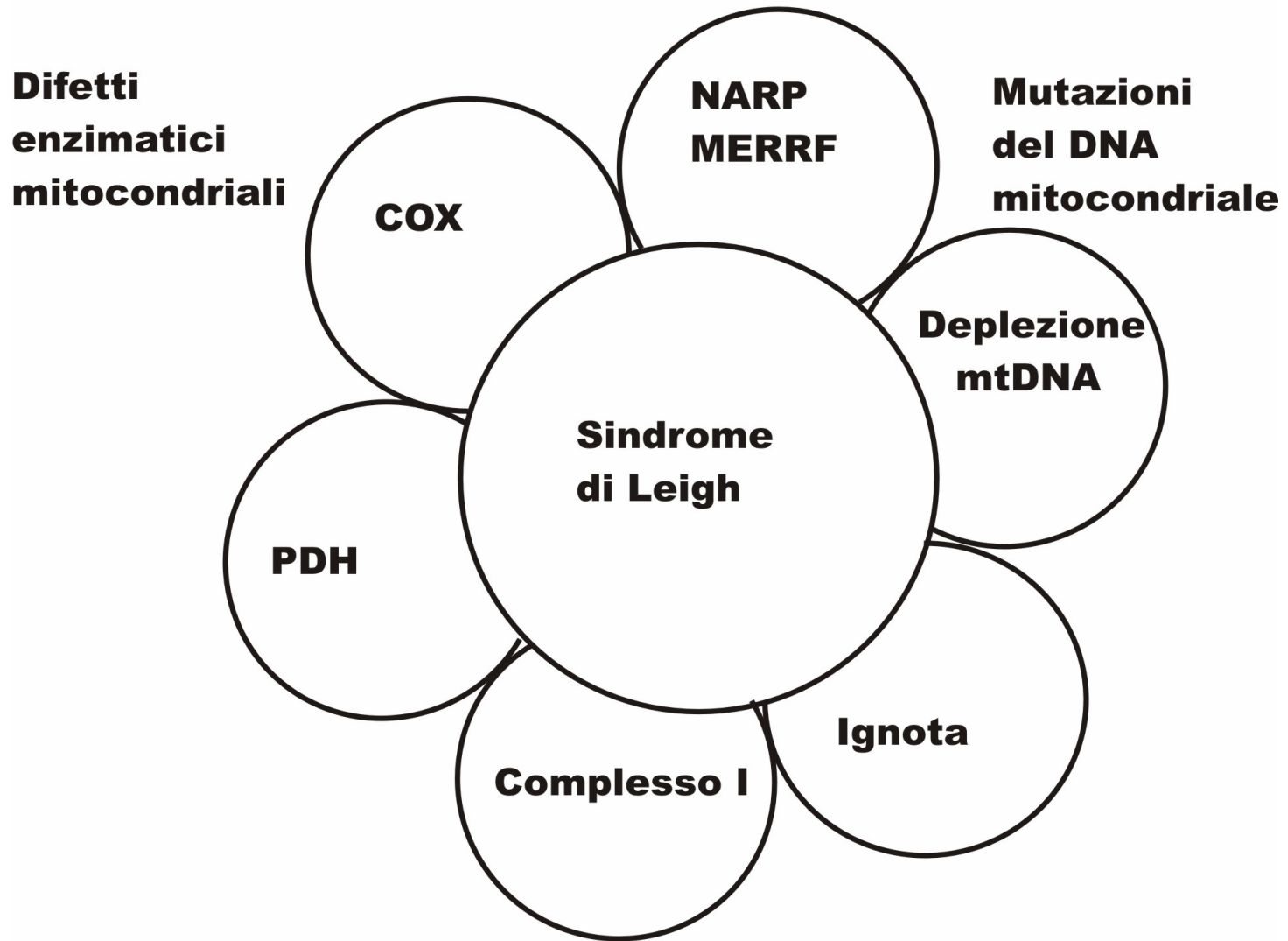
Le malattie mitocondriali sono perfino più complesse negli adulti poiché cambiamenti identificati nel mtDNA avvengono con l'età e, di converso, lo stesso processo di invecchiamento può risultare da un deterioramento della funzione mitocondriale. C'è un largo spettro di malattie metaboliche, ereditarie e acquisite negli adulti nelle quali un'anomala funzione mitocondriale è stata postulata o dimostrata (Tabella 2).

#### **MANIFESTAZIONE INASPETTATA DELLA MALATTIA MITOCONDRIALE**

La complessa specializzazione cellulare del mitocondrio porta ad una frastornante gamma di segni e sintomi che i medici nei centri medici specializzati sono venuti a riconoscere come caratteristici della malattia mitocondriale. Sintomi possono andare dalla goffaggine, alle emicranie, attacchi, diabete, o una malattia metabolica catastrofica, ed ancora essere totalmente assenti in relativa salute nel caso dei portatori silenti. Sono possibili molte combinazioni di sintomi

### **FIGURA 3**

#### **Le cause della sindrome di Leigh**



La Fig. 4 enfatizza la varietà delle malattie che possono risultare da un difetto nel metabolismo mitocondriale. Molti pazienti in queste categorie non hanno una malattia mitocondriale. Comunque, i medici si imbattono in pazienti in ciascuna categoria che sono "atipici". E' tra questi casi atipici che la malattia mitocondriale è più comune. Per esempio, un bambino al quale è stata diagnosticata una leucodistrofia ma è ipototonico è atipico poiché la leucodistrofia solitamente produce spasticità progressiva e ipertonia. La Tabella 3 elenca alcune delle caratteristiche atipiche che dovrebbero accrescere la possibilità della malattia mitocondriale, assieme con alcuni esempi di cause che sono state trovate in ciascuna categoria, sebbene la reale prevalenza delle malattie mitocondriali, perfino tra gli stessi casi anomali, è sconosciuta e probabilmente piuttosto bassa.

Molte malattie mitocondriali sono così nuove che esse non sono ancora state inserite nei libri di testo medici o, in alcuni casi, nella letteratura medica. Conseguentemente, la maggior parte dei medici non sono in grado di individuarle correttamente. Perfino medici che lavorano in centri altamente specializzati che vedono dozzine di casi di malattia mitocondriale ogni anno sono colpiti dalla grande diversità di segni e sintomi di queste malattie.

### **MUOVENDOSI VERSO UNA DIAGNOSI**

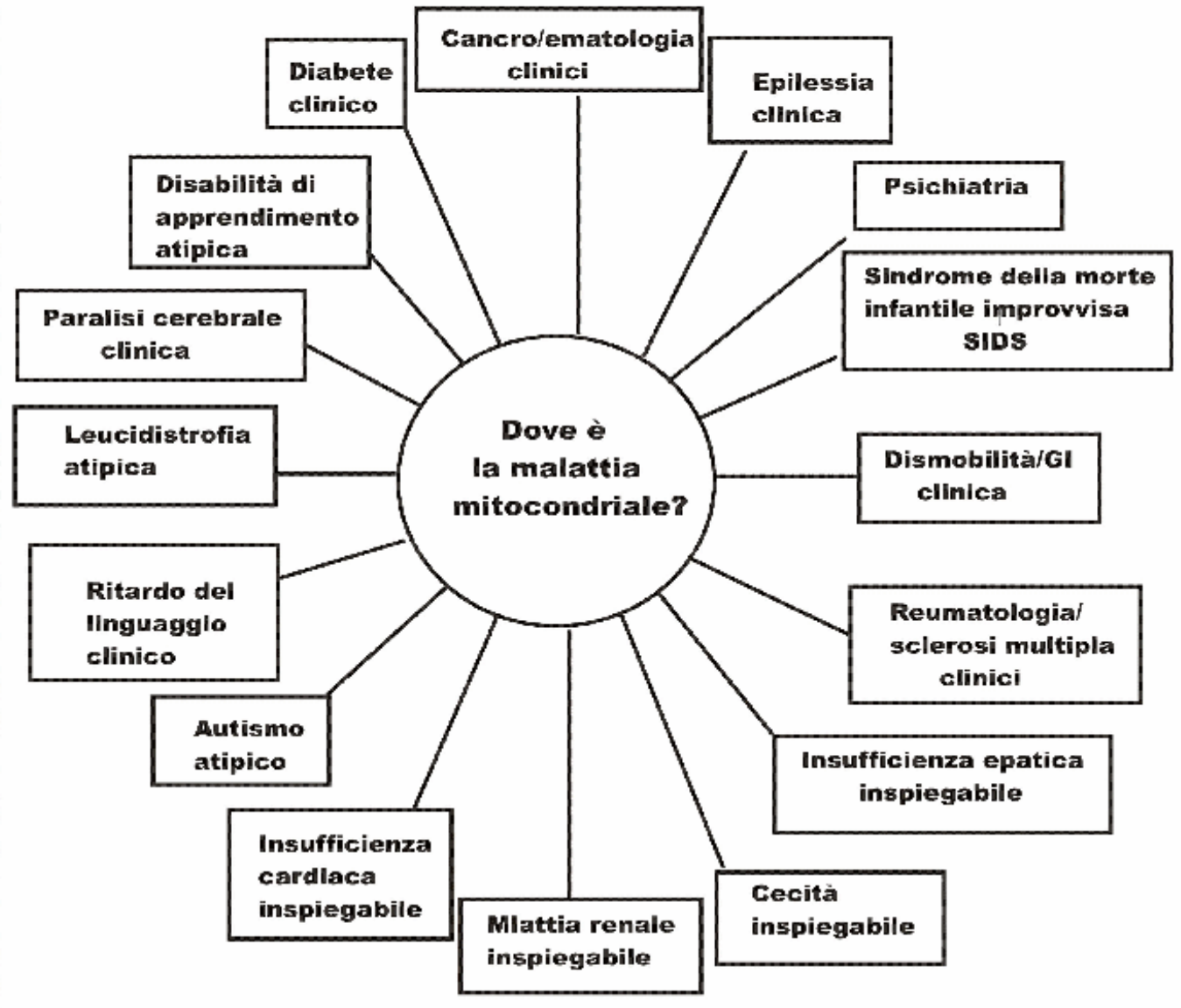
Il medico di famiglia dovrebbe ricordare questa relativamente semplice scaletta: *"Quando una malattia comune ha caratteristiche che la pongono al di fuori dalla massa, o coinvolge 3 o più sistemi organici, pensa ai mitocondri"*. La Fig. 5 è una lista di controllo usata per aiutare i medici a raccogliere i necessari elementi medici per la valutazione di una sospetta malattia mitocondriale. La maggior parte degli esami listati sono relativamente non invasivi e servono a guidare gli ulteriori studi diagnostici.

Un EEG, una MRI del cervello, ed una biopsia muscolare specializzata sono frequentemente richieste se i primi pochi studi suggeriscono una malattia mitocondriale. Sebbene ci siano delle controversie, molti specialisti credono un tessuto muscolare fresco, non congelato o fissato, per l'isolazione dei mitocondri, sia essenziale per una diagnosi attendibile. Sfortunatamente, questa tecnologia è disponibile solo in pochi centri.

Se si è in presenza di una epatomegalia o di una splenomegalia, o se la MRI cerebrale mostra una leucodistrofia, si devono inviare i globuli bianchi per l'esame enzimatico per escludere la malattia di accumulo lisosomale. La leucodistrofia adrenalinca (ALD) può essere esclusa con l'analisi del sangue o della catena lunga degli acidi grassi.

In generale, dopo che i primi pochi studi non invasivi suggeriscono la possibilità di una malattia metabolica o mitocondriale, il paziente dovrebbe essere indirizzato ad un centro medico specializzato dove possono essere eseguite valutazioni e trattamenti più complessi. Per maggiori informazioni sugli esami o sui laboratori e centri specializzati, consulta il Biochemical Test List o contatta il Council of Regional Networks for Genetic Services (CORN) (vedi risorse).

FIGURA 4



## **TERAPIA DIETETICA, VITAMINE E COFATTORI**

Nessun singolo farmaco, dieta, o vitamina sono emersi costituire una panacea per la malattia mitocondriale. Continuamente, i medici che lavorano nei centri metabolici specializzati hanno ricordato che ogni bambino è biochimicamente unico. Due bambini con esattamente la stessa mutazione puntiforme nel loro DNA, che nominalmente giungono alla stessa malattia, possono rispondere agli interventi medici e nutrizionali in modo differente. Nessun paziente dovrebbe ricevere un trattamento semplicemente perché egli o ella si sa avere una specifica mutazione nel loro DNA mitocondriale o nucleare.

Se una carenza misurata di carnitina viene trovata nel sangue o nel muscolo, o se viene trovato un aumento nei gruppi esteri urinari della carnitina, la causa primaria di queste anomalie dovrebbe essere cercata sistematicamente. (vedere Fig. 5). La somministrazione prematura di una terapia a base di L-carnitina senza una adeguata lavoro diagnostico può portare ad un ritardo o ad un fallimento nella definizione di una accurata diagnosi. Inoltre, l'uso di una terapia a base di L-carnitina da sola rimane controversa in certe anomalie degli acidi grassi a catena lunga (per es. VLCAD e LCHAD) e nelle anomalie degli acidi organici (ad es. certe forme di aciduria 3-metil-glucagonica). In queste specifiche malattie, la glicina viene usata sia da sola, che insieme con una dose ridotta di L-carnitina. Nel dubbio, è consigliata la consultazione con uno specialista metabolico.

Pazienti con una sospetta malattia mitocondriale che si riferiscono al nostro centro sono spesso sottoposti ad una combinazione di coenzima Q10, vitamina E, un integratore bilanciato di vitamine B chiamato "B50", e, in alcuni casi, carnitina quando indicata. La carnitina ed il coenzima Q10 possono essere prodotti dal corpo, ma possono essere eliminati in numerosi stati di malattia e devono essere integrati per evitare sintomi clinici. Comunque, questa procedura non è seguita da tutti gli specialisti del settore.

Poiché le malattie mitocondriali e metaboliche coinvolgono difetti ad un livello delle funzioni cellulari eccedente il fondamentale, le vitamine ed i cofattori non sono terapeutamente curativi eccetto che in malattie molto rare e specifiche come la carenza di carnitina primaria o la carenza primaria di coenzima Q10. Abbiamo visto talvolta un aumento significativo della qualità della vita con una terapia con vitamine e cofattori sebbene la longevità totale non abbia avuto sostanziali incrementi. Tuttavia, i medici devono avere la precauzione di ricordare che in tutti gli Stati Uniti gli integratori dietetici sono considerati prodotti alimentari anziché medicinali; la loro qualità non è regolata da FDA, non ci sono pubblicazioni, ricerche pubblicate su riviste scientifiche che abbiano testato l'efficacia di questi integratori in pazienti con malattia mitocondriale. C'è bisogno di fonti accreditate per questi prodotti per i nostri pazienti e c'è bisogno di ricerca che dimostri la loro efficacia. I medici dovrebbero considerare attentamente il fatto di come i supplementi possano influenzare gli esami diagnostici prima di prescriverli. Genitori e pazienti adulti devono stare attenti a partire con nuove terapie nutrizionali o vitamine e cofattori senza la prescrizione e la supervisione del loro medico. **Specifici interventi terapeutici devono essere guidati da uno specialista metabolico.**

TABELLA 4

## Vitamine e cofattori per il trattamento della malattia mitocondriale

| Nome  | Funzione biochimica   | Dose               | Divisa                |
|---|---|--------------------|-----------------------|
| <b>Coenzima Q10</b>                           | Trasporto degli elettroni, neutralizzante i radicali liberi                   | 4 mg/Kg/di         | qD o BID              |
| <b>Complesso "B50" 1 tavoletta</b>            |   | <b>1 tavoletta</b> |                       |
| Tiamina (B1)                                  | Decarbossilazione, transchetolasi, memoria                                    | 50 mg              |                       |
| Riboflavina (B2)                              | Ossidazione acidi grassi, flavoproteine                                       | 50 mg              |                       |
| Niacina (B3)                                  | Trasporto degli elettroni, ribosilazione-ADP, colesterolo                     | 50 mg              | qD per < 10 Kg        |
| B6  | Aminoacido, glicogeno, metabolismo steroideo                                  | 50 mg              | BID per > 10 Kg       |
| Folato  | metabolismo carbonio-1, RNA/DNA, aminoacidi                                   | 0,4 mg             |                       |
| B12   | Iliina, valina, tialina, metabolismo della metiolina, sintesi della metiolina | 0,05 mg            |                       |
| Biotina                                       | Carbossilazione, glicofoneogenesi, metabolismo lipidico                       | 0,05 mg            |                       |
| Acido pantotenico                             | Sintesi del CoA, energia e metabolismo dei lipidi                             | 50 mg              |                       |
| <b>Vitamina E</b>                             | Neutralizzante i radicali liberi  | 200-400 mg         | qD per > 10 Kg        |
| <b>L-carnitina</b> (Carnitor)                 | Trasporto acidi grassi, escrezione dei metaboliti                             | 100 mg/Kg/di       | TID                   |
| <b>Integratori per malattie intercorrenti</b> |   |                    |                       |
| <b>Vitamina C</b>                             | Antiossidante, sintesi dei neurotrasmettitori                                 | 25 mg/Kg/di        | QID, o qD se rilascia |



|                            |   |               | sostanze                                |
|----------------------------|---|---------------|---|
| <b>Picolinato di zinco</b> | Dismutasi superossido, riparazioni tissutali          | 30 mg         | BID per > 20 Kg<br>qD per da 10 a 20 Kg |
| <b>Biotina</b>             | Carbossilazione, gliconeogenesi, metabolismo lipidico | 10 mg<br>1 mg | qD per > 10 Kg<br>qD per < 10 Kg        |
| <b>Acido á-lipoico</b>     | Antiossidante protezione NMDA, glutitione             | 10 mg/kg/di   | qD per > 10 Kg                          |
|                            |   |               |   |
|                            |   |               |   |

## FIGURA 5

### Lista di controllo della procedura medica

|   |
|---|
| Analisi del DNA mitocondriale - mutazioni puntiformi e Southern Blot                                      |
| Analisi quantitativa degli aminoacidi nel plasma  |
| Analisi quantitativa degli acidi organici nelle urine   |
| Acido lattico nel sangue  |
| Acido lattico nel fluido cerebrospinale (se sono presenti sintomi neurologici)                            |
| Carnitina nel plasma  |
| Carnitina nelle urine   |
| Valori completi del sangue (CBC)  |
| Chimiche 20, incluso acido urico, GGT e CPK   |
| Analisi delle urine   |
| Ammoniaca ematica   |
| Enzimi lisosomali dei leucociti (se il fegato o la milza sono ingrossati)                                 |
| Acidi grassi a catena lunga nel plasma (se la MRI del cervello mostra la malattia della materia bianca)   |
| Cromosomi (se sono presenti anomalie congenite multiple)  |
| MRI del cervello (deve essere spedita la copia delle pellicole, il rapporto scritto non è sufficiente)    |
| Biopsia muscolare (questa è meglio sia eseguita in un centro specializzato di riferimento)                |
| Altri studi (barrare se già fatti) - EEG, BAERS, NCV, EMG, VER, ERG, coltura dei fibroblasti cutanei, EKG |
| Cartella clinica delle due ospedalizzazioni più recenti   |
| Anamnesi e visita del medico curante o del neurologo  |
| Anamnesi e visita di altro specialista (se rilevante)   |
| Esame oftalmologico (se rilevante)  |
| Storia familiare rilevante  |
| Altri commenti:   |

In aggiunta a qualsiasi terapia con vitamine e cofattori, ciascun bambino dovrebbe ricevere una completa valutazione nutrizionale da un dietista esperto in malattie metaboliche. Questo viene compiuto di routine come parte di una valutazione metabolica complessiva in alcuni, ma non in tutti, i centri medici specializzati.

Ipotonicemia a digiuno é una risultanza comune, non specifica nei bambini piú piccoli con certe malattie mitocondriali. Se viene trovata l'ipoglicemia a digiuno, i bambini possono aver bisogno di ricevere un'alimentazione piú frequente. Se questo non può essere fatto, la farina di mais può essere usata per fornire una fonte a rilascio sostenuto di glucosio. In questi casi, una malattia della ossidazione degli acidi grassi dovrebbe essere esclusa. L'acidosi tubulare renale é anche una risultanza comune e non specifica nella malattia mitocondriale. La sua individuazione ed il suo trattamento sono essenziali per promuovere una crescita normale e lo sviluppo osseo.

I bambini con malattia mitocondriale sono a rischio di ritardi neurologici sia durante la prima settimana, che dopo nelle malattie infettive intercorrenti. Sebbene nessuna terapia sia interamente protettiva in queste circostanze, il nostro centro talvolta prescriverà ad un bambino riconosciuto a rischio un regime supplementare di vitamina C, biotina, zinco e acido á-lipoico per 3-7 giorni, anziché prescrivere qualsiasi antibiotico od altre misure che potrebbero essere indicate per la specifica infezione. Questo regime è interrotto quando il bambino ritorna al suo livello di salute originario.

TABELLA 5 Sintomi da carenza di carnitina

|  |
|--|
| Sviluppo ritardato   |
| Ipotonia   |
| Iperammonimia  |
| Chetosi inappropriata  |
| Ipotonicemia   |
| Miopatia   |
| Cardiomiopatia   |
| Pancitopenia   |
| Episodi periodici di acidosi   |
| Sindrome simil-Reye  |
| Infezioni ricorrenti   |
| Malattia epilettica  |
| Encefalopatia  |
| Nota: I bambini che presentano questi sintomi dovrebbero essere sottoposti ad una valutazione metabolica approfondita, prima di iniziare un trattamento con L-carnitina. |

### **Dalla diagnosi al progresso**

I medici attenti hanno a lungo riconosciuto che dare il nome ad una malattia può essere un'arma a doppio taglio. Mentre molte condizioni mitocondriali, e metaboliche ed altre condizioni di malattia croniche hanno nomi tecnici che aiutano i medici a classificare le malattie, questi molti termini possono anche impedire loro di vedere diagnosi e terapie alternative. E' essenziale ricordare che non ogni malattia con lo stesso nome si comporta nello stesso modo, o ha le stesse cause sottostanti. Spesso un termine medico viene usato per descrivere una larga collezione di malattie. Ad esempio, come la parola "leucemia" descrive non una, ma dozzine di malattie con differenti eziologie, allo stesso modo molte malattie hanno una varietà di causa e di manifestazioni, incluse quelle atipiche. La lezione da ricordare sulle malattie mitocondriali è che a meno che la patogenesi di "malattia comune" venga conosciuta con confidenza, la diagnosi non sarà mai realmente stabilita. Il progresso inizia con il sapersi e sapere dire "Questa malattia è differente".

*Dott. Naviaux è fondatore e co-direttore del centro per le malattie metaboliche e mitocondriali (MMDC) alla università della California a San Diego. Egli è un prof. Assistente di medicina interna e genetica alla UCSD, ed uno specialista in genetica biochimica e metabolismo, ricercatore della replicazione del DNA mitocondriale e della diagnosi e trattamento di bambini ed adulti con malattia mitocondriale. Egli è anche il ricevitore del Lennox Foundations Award per le ricerche sulle malattie mitocondriali e metaboliche.*

*Questo lavoro ha avuto il supporto della Lennox Foundations Award del RKN*