

## LA MITOCONDRIA: ¿CÉLULAS DENTRO DE CÉLULAS?

Jaime Iván Rodríguez O. MD, MSc.

Profesor Asistente de Cátedra.

Grupo Interdisciplinario para el Estudio de las Parasitosis Intestinales (GIEPI)

Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia

### Introducción

Los seres vivos poseen algunas características y propiedades extraordinarias, no encontradas en otros entes observables en el universo conocido. El grado de regularidad y de orden, que se manifiesta tanto molecular como estructuralmente (morfológico) dentro de un organismo, entre organismos de una misma especie o entre especies diferentes, dan cuenta de tres procesos fundamentales característicos de los sistemas vivos, a saber: el de la auto-replicación molecular (de los ácidos nucleicos y las proteínas); el de la captación, transformación y utilización de la energía; y el de la división celular.

Otras propiedades de los sistemas vivientes, como la capacidad de regulación y control, los variados niveles de complejidad, desde lo atómico hasta los complejos ecosistemas, la existencia de vías metabólicas comunes y la capacidad de responder a estímulos ambientales, que pueden ser explicadas por la existencia de un programa genético y sus recursos de aplicación, en el cual la información (genética) codificada es empacada, replicada y distribuida desde un organismo a su progenie, no son menos asombrosas.

Desde las primeras observaciones microscópicas realizadas por R. Hooke y A. Van Leeuwenhoek, a principios

del siglo XVII, las células han capturado la atención de biólogos y otros científicos. Estas observaciones culminaron con lo que podríamos llamar uno de los dogmas centrales de la Biología, formulados a mediados del siglo XIX por Scheliden, Schwann y Virchow: "Las células son la unidad fundamental de la vida". La descripción de van Leeuwenhoek de "animáculos" dentro de minúsculas gotas de agua es muy sugestiva. La corroboración definitiva de dicho dogma se logró gracias George Gey, quien en 1951 desarrolló la línea celular HeLa, a partir de un tumor, demostrando que era posible aislar células y mantener su crecimiento autónomo fuera de un organismo. En otras palabras, las células poseen en sí mismas todas las estructuras y funciones necesarias para considerarlas seres vivientes.

Como se ha discutido previamente en varios capítulos de este libro, en los sistemas vivos podemos distinguir claramente dos tipos de células, procariotes y eucariotes, que difieren esencialmente en su tamaño, en la existencia de un citoesqueleto organizado y en el tipo y organización de sus estructuras internas (organelas). Aún con los microscopios más rudimentarios es posible observar algunas de tales estructuras internas, pero fue la introducción del microscopio electrónico a mediados del siglo XX lo que permitió estudiar las organelas celulares en el ámbito ultraestructural.

La existencia de un código genético común, la homogeneidad de las múltiples y variadas reacciones químicas que ocurren en las células usando vías metabólicas comunes, la presencia de una membrana plasmática, de citoplasma y de ribosomas, son rasgos compartidos por todos los tipos celulares conocidos. Una diferencia fundamental entre eucariotes y procariotes es la existencia de compartimientos funcionales separados por membranas. Sin embargo, puede decirse que hay coherencia funcional. Las funciones del núcleo, característico de los eucariotes, se encuentran en una estructura unida a la membrana plasmática de los procariotes, el nucleóide. Las transformaciones energéticas que ocurren en mitocondrias y cloroplastos también están presentes en los mesosomas y las membranas fotosintéticas de los procariontes. Lo anterior nos permite concluir, que a pesar de la discontinuidad genética exista, un ancestro común, de una proto-célula.

El desarrollo de la Biología moderna fue catapultado por la descripción de la estructura del ADN por Watson y Crick en 1953. Sin embargo, el estudio de las características y procesos termodinámicos que sustentan la vida y el desarrollo de la hipótesis quimio-osmótica, que ocurre en la mitocondria y otras organelas, han contribuido enormemente a un cambio conceptual desde la descripción puramente anatómica y bioquímica de la célula hacia otros terrenos. También la mitocondria posee un ADN que se expresa, se replica y se reproduce independientemente de la célula. Un cuerpo creciente de evidencias sugiere que tal vez la mitocondria es una célula que co-evolucionó para transformarse en un simbiote de otra célula.

Estas características peculiares de la mitocondria la han convertido en una herramienta útil para estudiar los procesos evolutivos que generaron la amplia variedad de especies, muchas de ellas extintas, que hoy conocemos. Procesos tales como el envejecimiento y ciertas enfermedades neurodegenerativas en los cuales la mitocondria parece tener un papel importante son objeto de investigación activa.

## La mitocondria

Hacia 1888 R.A Kollicker, estudiando células musculares de insecto, observó unos gránulos que en condiciones hiposmolares sufrían un hinchamiento. Este comportamiento le permitió postular que estos gránulos poseían membrana. No obstante esta no fue la primera observación de una mitocondria. Ya desde 1850 se emplearon los términos blefaroplastos, condriomitos, condrioplastos, condriosomas, condrioesferas, hebras, plasmabioplastos, plastocondrios, mirogeles, cuerpos filamentosos, sarcosomas, cuerpos intersticiales, bioblastos o, simple-

mente gránulos fucsínofilos para describir estas estructuras celulares.

A pesar de que hacia 1890 R. Altman postulaba que estos "bioblastos" encontrados en el citoplasma celular se comportaban como seres vivos autónomos y elementales, formando aglomerados semejantes a colonias bacterianas, el componente genético no fue tenido en cuenta hasta casi 30 años después. Esto fue debido a que, tras la demostración en 1913 del papel de la mitocondria en la respiración celular por BF. Kingsbury y O. Warburg, se empezó a considerar esta organela como la central energética de la célula, apoyados por el descubrimiento sucesivo de los nucleótidos y los citocromos asociados a las membranas mitocondriales.

Después del descubrimiento del ATP como una molécula de intercambio energético, sólo hasta la década de 1940 O. Warburg y O Meyerhof describieron el proceso de fosforilación a nivel de sustrato acoplado a la oxidación de compuestos fosforilados como el fosfo-gliceraldehído, que es característico del citoplasma y claramente diferenciable de los procesos mitocondriales como la fosforilación oxidativa acoplada a la respiración, como lo demostrara HM Kalckar. La dilucidación de todos estos procesos fue facilitada por el desarrollo de técnicas de fraccionamiento celular, que permitieron obtener mitocondrias virtualmente puras para estudiar sus distintos componentes y los procesos asociados a ella.

## Morfología de las mitocondrias

El tamaño, número y forma de las mitocondrias es muy variable, dependiendo del tipo de célula, su grado de especialización y, especialmente, de las necesidades metabólicas. Estas características explican la variedad de nombres que recibieron estos organelos en sus primeras descripciones, a finales del siglo XIX.

En 1890, R. Altman reportó que estas estructuras granulares podían teñirse con fucsina. Ocho años más tarde, C. Benda describe su tinción con cristal violeta y L. Michaelis logra teñirlas con verde de Janus, el cual es reducido en el ambiente mitocondrial, evidenciando su potencial redox. Técnicas más recientes emplean anticuerpos específicos, a menudo conjugados con fluorocromos, y sustancias fluorescentes como la rodamina, la cual es concentrada activamente en la mitocondria, para describir la localización de componentes dentro de ésta.

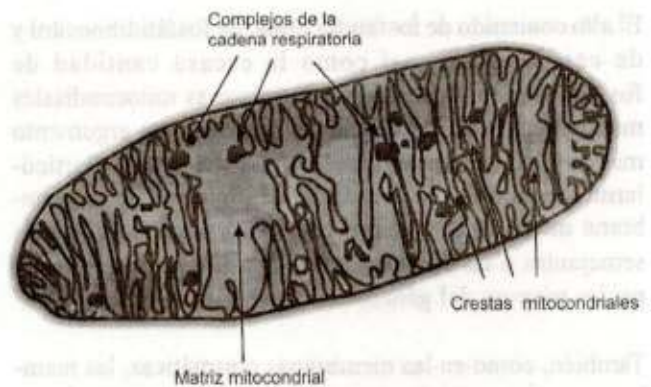
La forma de estos gránulos es, en general, alargada; sin embargo, se pueden observar mitocondrias esferoidales

u ovales y es frecuente observarlas como estructuras filamentosas. Aunque las mitocondrias crecen por la incorporación de lípidos y de proteínas durante la interfase celular, el número y tamaño de las mitocondrias depende del estado metabólico y del grado de especialización de la célula mediante un proceso de división por fisión pero también de fusión mitocondrial. Estos dos procesos (fisión y fusión de las mitocondrias), parece estar tanto bajo control nuclear como mitocondrial. Así, una célula puede poseer una única mitocondria de gran tamaño y densamente ramificada como en el caso del *Saccharomyces cerevisiae*, o numerosas y pequeñas, en otros casos. Típicamente, una célula hepática humana posee unas 800 mitocondrias usualmente de unas 3 – 4 micras de largo por 1 micra de diámetro, que pueden representar hasta el 25 % de la masa celular; en cambio, un oocito humano contiene alrededor de 100.000 mitocondrias, aunque otros organismos como la ameba gigante *Chaos chaos* pueden contener hasta 500.000.

La mitocondria posee un sistema de doble membrana, denominadas membrana externa e interna. Mientras que la membrana externa es continua y uniforme, la membrana interna se caracteriza por un cierto número de repliegues, los cuales fueron denominados crestas por G. Palade, cuya finalidad parece ser aumentar la superficie interna. Esta peculiaridad permite aumentar la eficiencia funcional de la cadena transportadora de electrones y la síntesis de ATP, dos de las principales funciones de la mitocondria.

Este doble sistema genera, pues, dos espacios funcionalmente diferentes: la matriz mitocondrial y el espacio inter-membranoso. No obstante, existen puntos de contacto entre las membranas interna y externa de la mitocondria. Se ha observado que estos puntos de contacto corresponden a los sistemas de transporte de proteínas desde el citosol hacia la matriz mitocondrial. La matriz mitocondrial no tiene aspecto homogéneo sino granular, tal vez debido a secuestro de calcio iónico, con partículas electro densas asociadas a la membrana interna (Figura 1).

Las crestas mitocondriales aparecen como estructuras lamelares o tubulares, cuyo número está en correspondencia con las demandas energéticas de la célula. Así, por ejemplo, en células musculares y en las neuronas, las crestas son lamelares y densamente empacadas; mientras que en el tejido muscular las mitocondrias se encuentran distribuidas regularmente siguiendo a los sarcómeros. Algo semejante ocurre en la pieza media de los espermatozoides. Imágenes obtenidas por microscopía electrónica muestran disposiciones particulares de las crestas mitocondriales: en el músculo cardíaco las crestas son lamelares y anguladas, o son tubulares cilíndricas, como



**Figura 1. Morfología de una mitocondria típica.** Se muestran las crestas mitocondriales, la matriz y los complejos de la cadena respiratoria (los puntos oscuros en las crestas).

en células de la corteza adrenal; o tubulares de perfil hexagonal o triangular en los astrocitos. No se conoce el significado funcional de estas variaciones.

Se cree que el número de crestas mitocondriales se encuentra bajo el control de genes, tanto nucleares como mitocondriales, de acuerdo con evidencias experimentales obtenidas en *S. cerevisiae*. En estos microorganismos, la presencia de sustratos no fermentables como el glicerol o el etanol, con la correspondiente dependencia de la fosforilación oxidativa para la obtención de energía, se correlaciona con la presencia de mitocondrias de morfología típica. El sólo cambio de dichos sustratos por glucosa causa la represión de la biogénesis de la membrana mitocondrial interna, lo cual altera la morfología y reduce el número de las crestas mitocondriales, sin alterar la cantidad total de mitocondrias en la célula. Algo semejante ocurre en la levadura *Picchia pastoris* en la cual la presencia de metanol y de ácidos grasos induce la aparición de grandes peroxisomas.

## Membrana mitocondrial

Más notable que poseer un doble sistema de membrana, es la composición de dichas membranas lo que llama poderosamente la atención. Las membranas mitocondriales se caracterizan por una ausencia casi total de ciertos tipos de lípidos como el ácido fosfatídico, las esfingomielinas y los glicolípidos, característicos de las membranas plasmáticas de los eucariotes (Tabla 1). También es notable el bajo porcentaje de colesterol presente en estas membranas: mientras que una célula típicamente tiene alrededor de un 25% del contenido lipídico como colesterol, la mitocondria posee escasamente un 3% de colesterol.

El alto contenido de fosfatidilcolina, de fosfatidilinositol y de cardiolipinas, así como la escasa cantidad de fosfatidilserina, hacen de las membranas mitocondriales más semejantes a las de ciertas bacterias, un argumento más para considerar la hipótesis del simbiote. Particularmente, el elevado contenido de proteínas de la membrana interna mitocondrial (un 75%), las hace aún más semejantes a las bacterias gram-positivas y a ciertas especies púrpura del género *Halobacterium*. (Tabla 2.).

También, como en las membranas plasmáticas, las membranas mitocondriales poseen una asimetría en la distribución de los lípidos no sólo entre las membranas interna

y externa, sino también entre las capas interna y externa de las bicapas lipídicas. De modo que una alteración en esta distribución tiene consecuencias para la función y supervivencia de las mitocondrias dentro de la célula y, aún de la célula misma en procesos de muerte celular programada.

### Transporte de proteínas mitocondriales

A pesar de que las mitocondrias poseen material genético funcional y capacidad de síntesis de proteínas, solo unas pocas proteínas son producidas dentro de la matriz mitocondrial. Cerca del 95% de las proteínas

Tabla 1. Distribución de lípidos\* para algunas membranas biológicas.

|                        | Eritrocito humano | Mitocondrias de músculo cardíaco (bovino) | E. coli |
|------------------------|-------------------|---|---------|
| Ácido fosfatídico      | 1,5               | 0,0                                       | 0,0     |
| Fosfatidil-colina      | 19,0              | 39,0                                      | 0,0     |
| Fosfatidil-etanolamina | 18,0              | 27,0                                      | 65,0    |
| Fosfatidil-glicerol    | 0,0               | 0,0                                       | 18,0    |
| Fosfatidil-inositol    | 1,0               | 7,0                                       | 0,0     |
| Fosfatidil-serina      | 8,5               | 0,5                                       | 0,0     |
| Cardiolipinas          | 0,0               | 22,5                                      | 12,0    |
| Esfingomielinas        | 17,5              | 0,0                                       | 0,0     |
| Glicolípidos           | 10,0              | 0,0                                       | 0,0     |
| Colesterol             | 25,0              | 3,0                                       | 0,0     |

\* Porcentajes sobre el total de lípidos de membrana.

Modificado de: Tanford, C. *The hydrophobic effect*. Wiley, 1980.

Tabla 2. Composición de algunas membranas biológicas.

| Espécimen                       | Proteínas (%) * | Lípidos (%) | Carbohidratos (%) | Razón lípidos: proteínas |
|---------------------------------|-----------------|-------------|-------------------|--------------------------|
| Eritrocitos humanos             | 49,0            | 43,0        | 8,0               | 1,1                      |
| Membrana nuclear hígado de rata | 59,0            | 35,0        | 2,0               | 1,6                      |
| Membrana mitocondrial externa   | 52,0            | 48,0        | 2-4               | 1,1                      |
| Membrana mitocondrial interna   | 76,0            | 24,0        | 1-2               | 3,2                      |
| Bacterias Gram-positivas        | 75,0            | 25,0        | (10)**            | 3,0                      |
| <i>Halobacterium</i>            | 75,0            | 25,0        |                   | 3,0                      |

\* Porcentaje del peso total de la membrana.

\*\* Porcentaje calculado (como péptido glicanos).

Adaptado de: Guidotti, G. *Annu. Rev. Biochem.* 41, 732. 1972.

mitocondriales, tanto de la matriz como de las membranas, son sintetizadas en el citoplasma celular en ribosomas no unidos al retículo endoplásmico. Puesto que esta organela posee un doble sistema de membranas y compartimientos, la translocación de proteínas y su ubicación adecuada es un proceso complejo que requiere energía en forma de ATP, pero también se aprovecha el potencial electrostático generado a través de la membrana interna.

De un modo parecido al de las proteínas de la membrana plasmática y de otras organelas, las proteínas mitocondriales son captadas y orientadas por mecanismos similares, es decir, este proceso está determinado por secuencias de señal que, en este caso son ricas en aminoácidos con cadenas laterales básicas o hidroxiladas (unos 15 – 70 aminoácidos), con muy pocos o ningún residuo ácido.

Una vez iniciada la síntesis de proteínas mitocondriales una chaperona citosólica de la familia de las Hsp70 interactúa con aquellas, impidiendo su plegamiento prematuro, y las descargan sobre receptores de la membrana mitocondrial externa. Estos receptores, denominados Tom20 y Tom22 en levaduras se encuentran asociados a complejos (Tom40), y actúan como canales a través de los cuales la proteína mitocondrial es introducida. El complejo de translocación Tom40 se une al complejo Tim44 – Tim23/Tim17, situado en la membrana mitocondrial interna, que aprovecha la fuerza protón motriz para pasar la proteína hacia la matriz mitocondrial. Una vez en la matriz mitocondrial, la proteína es recibida por chaperonas de la matriz mitocondrial (Hsc70 matriciales), las cuales mediante su acoplamiento con la hidrólisis de ATP, orientan la proteína hacia los complejos de chaperoninas Hsc60, homólogos del complejo GroEL bacteriano, gracias a éstos la proteína adquiere su plegamiento funcional. En algún momento de este proceso dentro de la matriz mitocondrial una peptidasa elimina el péptido señal del extremo amino terminal.

Tanto las proteínas del espacio intermembranoso como las asociadas a las caras intermembranosas de las membranas mitocondriales son translocadas por el complejo Tom40 hacia la matriz mitocondrial. Una vez allí, la escisión del péptido señal genera una segunda señal que dirige la proteína hacia el espacio intermembranoso o hacia la membrana interna. Sin embargo, existen otros mecanismos alternativos.

Algunas proteínas son orientadas hacia la mitocondria no por las Hsp70 sino por otras chaperonas, como el factor estimulador de importación mitocondrial (MSF), que interactúa con otro receptor, constituido por las protei-

nas Tom37 y Tom70 que a su vez se unen al complejo Tom40 para transportar las proteínas directamente al espacio intermembranoso. Por ejemplo, el citocromo c, una proteína asociada a la superficie externa de la membrana mitocondrial interna, es translocada a través de la membrana mitocondrial externa en forma de apocitocromo c (es decir, sin el grupo prostético). Una vez iniciada la translocación del apocitocromo c la citocromo c hemo-liaza une covalentemente el grupo heme a la proteína, lo cual impide la salida del citocromo c del espacio intermembranoso. Sorprendentemente, la secuencia señal no es eliminada en esta proteína una vez translocada, lo cual significa que si no se adiciona el grupo heme, la proteína puede salir nuevamente de la mitocondria.

## **Distribución citoplasmática de las mitocondrias**

La forma, el tamaño y el número de las mitocondrias responden a las demandas celulares de energía. Así mismo, la distribución de las mitocondrias dentro del citoplasma no es azarosa. Las mitocondrias interactúan dinámicamente con diversos elementos del citoesqueleto para cambiar su forma y distribución. Singer y Chen utilizando rodamina 123, una tinción fluorescente, que afecta poco la viabilidad celular, observaron que durante la división celular las mitocondrias se acumulan alrededor del huso mitótico.

En general, la distribución subcelular de las mitocondrias depende de la actividad metabólica. Las regiones que demandan más energía acumulan mitocondrias. Resulta casi obvio que en los espermatozoides las mitocondrias se encuentran empacadas y alineadas en la pieza media, donde el ATP que se produce es utilizado por el sistema motor. En células musculares, la distribución regular a lo largo de las miofibrillas garantiza un aporte adecuado de energía para la contracción. Hirsuto reportó, en células HeLa, una asociación cercana entre las mitocondrias y la membrana del retículo endoplásmico. Usando tinciones diferenciales se puede observar que entre un 5 y un 20% de la membrana mitocondrial, asociada al retículo endoplásmico, establece un estrecho contacto, tal vez relacionado con la liberación de iones de calcio en respuesta al aumento del inositol trifosfato en el citoplasma.

## **Distribución durante la división celular**

El número y tamaño de las mitocondrias aumenta o se duplica a lo largo de todo el ciclo celular; sin embargo, el destino de las mitocondrias durante la división celular no ha sido estudiado en detalle. Durante la mitosis las

mitocondrias se encuentran asociadas a los microtúbulos del huso acromático, lo cual sugiere un mecanismo para mantener la proporción mitocondrias:masa celular después de la división. La actividad del anillo contráctil en las células animales, o del fragmoplasto en las vegetales, determina una distribución casi homogénea de estas organelas en las células hijas. En células que están en proceso de diferenciación o en células terminales en las cuales hay recambio de mitocondrias, ocurre algo diferente.

M. Yaffe observó que en levaduras (*S. cerevisiae*), algunas yemas poseen viabilidad reducida y carecen de mitocondrias (levaduras deficientes en respiración). Durante el proceso de gemación, el citoplasma y el genoma son empujados hacia la nueva célula en formación. El análisis molecular reveló un producto génico, la proteína *mdm1p*, cuya estructura es semejante a la de los filamentos intermedios observados en vertebrados. Mutaciones en el gen MDM no sólo afectan la distribución de las mitocondrias durante la gemación, sino también en la forma u agrupamiento de las mismas.

La distribución mitocondrial durante la meiosis es desigual. En levaduras ocurre tanto división asexual como sexual. Poblaciones de levaduras pueden generar gametos por división meiótica y éstos al fusionarse generan nuevas células diploides. Al marcar dos poblaciones de levaduras con dos fluorocromos diferentes, la proteína verde fluorescente y el TMR-CH<sub>2</sub>Cl, J. Numari encontró que después de la fusión de los gametos, las mitocondrias se distribuían en forma polarizada, en regiones correspondientes a las células progenitoras. Posteriormente, durante la gemación, las poblaciones mitocondriales se distribuyeron asimétricamente dependiendo de la región del cigoto a partir de la cual se generó el brote. La comprensión cabal de estos fenómenos y su significación funcional es escasa, y aún faltan estudios sobre la naturaleza de las proteínas involucradas en el anclaje y movimiento de las mitocondrias durante la meiosis y en los procesos posteriores a la formación de los cigotos.

### Comportamiento durante la diferenciación celular

Existen unos pocos estudios sobre el papel de las mitocondrias durante la diferenciación. Se han observado ciertos patrones de fusión, aparentemente relacionados con los procesos de diferenciación; por ejemplo, durante la espermiogénesis en la *Drosophila*, después de culminar la meiosis, las mitocondrias de la espermátide en diferenciación se fusionan para formar dos mitocondrias gigantes estrechamente asociadas en una estructura denomi-

nada Nebenkern. Simultáneamente con la formación del axonema flagelar, el Nebenkern se separa y se fragmenta para formar la pieza media, en estrecha relación con el aporte de ATP necesario para la función de los motores moleculares de dineína que mueven el flagelo del espermatozoide. Algunas espermátides no desarrollan la pieza media, fenómeno asociado con una mutante (denominada *fzo*, por *fuzzy onion*) que codifica una proteína de membrana con actividad de GTPasa. La presencia de la mutación *fzo* causa esterilidad en la *Drosophila*.

Utilizando oocitos y embriones de *Bos taurus* obtenidos por fertilización in vitro, A. Tarazona et al, demostraron la existencia de tres patrones diferentes de distribución mitocondrial: uno difuso y uno periplásmico (próximo a la membrana plasmática), que pueden observarse en los diferentes estadios de desarrollo embrionario hasta la formación del blastocisto, pero en los embriones, a diferencia de los oocitos, se observa un patrón perinuclear. La actividad mitocondrial, en términos del potencial de la membrana interna, es muy baja en los oocitos inmaduros y aumenta a niveles altos en los oocitos maduros. Una vez que se inicia la división mitótica del embrión, la actividad mitocondrial se vuelve moderada hasta el estadio de 16 células, después del cual vuelve a ser elevada. Dado que los embriones que no alcanzan el estado de blastocisto mantienen potenciales transmembranales bajos durante estas etapas tempranas de desarrollo y mueren, se ha postulado un papel importante de las mitocondrias en la adquisición de la competencia de estos embriones. Otra observación interesante es que en los blastómeros las mitocondrias se distribuyen asimétricamente en cada división celular, lo cual podría estar relacionado con la activación de los procesos de diferenciación y la formación del cúmulo embrionario.

### Genoma mitocondrial, control de la replicación y la transcripción

Uno de los hitos más interesantes en la investigación biológica fue el hallazgo de ADN en las mitocondrias, que contribuyó a robustecer la hipótesis de que las células eucariotes son el resultado de una simbiosis entre diferentes tipos de protocélulas. Preparaciones altamente purificadas de mitocondrias han permitido estudiar el genoma de estas estructuras subcelulares desde varios puntos de vista.

La hipótesis del origen endosimbiótico de la mitocondria se apoya en características morfológicas tales como el tamaño, presencia de un doble sistema de membranas, la estructura y composición de sus membranas, y, particularmente, en la existencia de material genético funcional

en su interior. Estudios iniciales usando microscopía electrónica permitieron observar el genoma mitocondrial como una estructura circular, característico de los procariotes. De hecho, aunque el ADN mitocondrial carece de histonas, se encuentra cubierto por proteínas que conservan cierta homología con las poliaminas que interactúan con el cromosoma procariote.

En los metazoarios (animales pluricelulares), el ADN mitocondrial es una estructura circular que puede formar dímeros u oligómeros encadenados (concatámeros). Poseen una longitud promedio de unos 16.000 nucleótidos y, por consiguiente, un número limitado de genes. En contraste, el genoma mitocondrial de la mayoría de plantas y hongos posee un tamaño que varía entre 30 y 60 kb, aunque se conocen extremos como la *Marchantia polymorpha* que tiene 186.608, o la *Arabidopsis thaliana* (mostaza) con 366.924 nucleótidos. A pesar de estas diferencias de tamaño, no existen grandes variaciones en el número y tipo de genes que se encuentran en el genoma mitocondrial.

Es una noción generalizada que los genomas mitocondriales son circulares; sin embargo, investigaciones más recientes han demostrado la existencia de cromosomas mitocondriales lineales, particularmente en ciliados (*Paramecium Aurelia*), algas (*Chlamydomonas reinhardtii*), hongos (especies de *Candida*, *Wiliopsis*, *Pichia*), y oomicetos, lo que sugiere que, al menos en plantas y hongos, esta estructura lineal puede ser la forma funcional *in vivo*. Estos cromosomas poseen estructuras terminales características homologas a los telómeros, aunque no poseen las secuencias consensuales típicas que explican y resuelven el problema de la replicación de los extremos 5'.

El primer ADN mitocondrial que pudo ser secuenciado en su totalidad fue el de origen humano (1981) y poco después, el de los bovinos. Sin embargo, la dilucidación de los genes ha sido difícil pues existen diferentes frecuencias de utilización de los codones para los distintos aminoácidos e incluso algunos codones se utilizan para acoplar aminoácidos diferentes cuando se les compara con sus similares en el genoma nuclear. Adicionalmente, las secuencias que caracterizan los marcos de lectura abiertos (ORF del inglés open reading frame) son diferentes y presentan una gran variabilidad entre especies.

En el genoma mitocondrial metazoario se han identificado 22 genes para RNAt, sendos genes para las subunidades menor y mayor del ribosoma mitocondrial, y para unos 13 péptidos que hacen parte de distintos componentes de los complejos I, III, IV y V de la cadena respiratoria.

Estos péptidos son proteínas integrales de membrana con dominios hidrofóbicos extensos, pero sus secuencias son muy divergentes entre especies. Así, mientras que en el ratón el gen ND6 posee 172 aminoácidos, en el *C. elegans* posee sólo 145; la ATPasa6 murina tiene 226 aminoácidos mientras que la del *C. elegans* solo 199.

La disposición de los genes en el genoma mitocondrial es semejante a la de los procariotes: los genes están separados por regiones muy pequeñas (usualmente unos pocos nucleótidos) y por los genes que codifican para RNAt, los cuales separan los ORF de los RNAr y los genes para los péptidos de la cadena respiratoria. Sin embargo, existen variaciones interespecie en el orden de los genes mitocondriales. Puesto que los genes se expresan de manera policistrónica, este orden tiene implicaciones evolutivas, más no funcionales.

La transcripción de los genes mitocondriales ocurre en ambas direcciones y en ambas cadenas, generando RNA policistrónicos que son procesados para producir los RNA individuales. Los RNAm poseen regiones no traducibles 5' y 3' muy cortas o inexistentes. En el caso de los genes para la ATPasa6 y lo ATPasa8 los ORF están traslapados unos pocos nucleótidos, lo cual supone la existencia de regiones internas de terminación. Algo semejante ocurre con los genes para la ND4 y la ND4L.

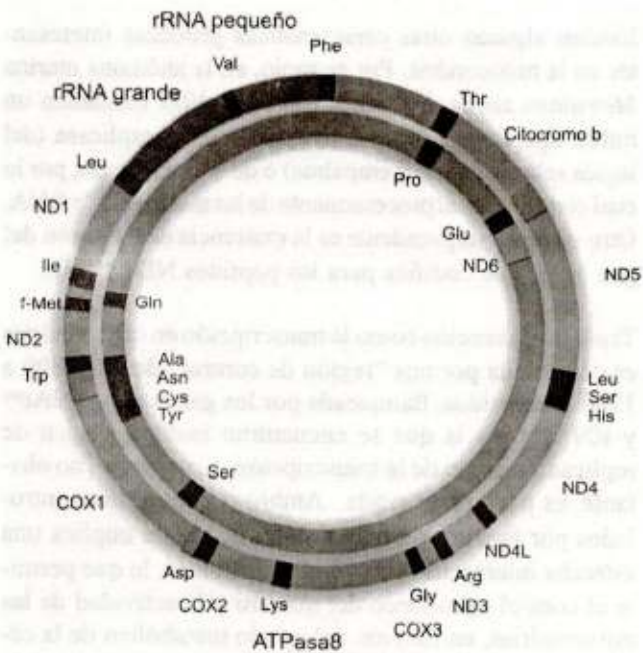
Existen algunas otras características genéticas interesantes en la mitocondria. Por ejemplo, en la anémona marina *Metridium senile*, los genes *CO I* y *ND5* contienen un intrón tipo I que poseen actividad de RNA-esplicasa (del inglés splicing: corte y empalme) o de endonucleasa, por lo cual contribuyen al procesamiento de las moléculas de RNA. Otro ejemplo sorprendente es la existencia de un intrón del gen *ND5* que codifica para los péptidos ND1 y ND3.

Tanto la replicación como la transcripción en mitocondrias es controlada por una "región de control" de unos 800 a 1300 nucleótidos, flanqueada por los genes para RNAt<sup>pro</sup> y RNAt<sup>phc</sup>, en la que se encuentran tanto el origen de replicación como de la transcripción. Esta región, no obstante, es poco conservada. Ambos procesos son controlados por factores de origen nuclear, lo que implica una estrecha interacción entre ambos genomas, lo que permite el control simultáneo del número y la actividad de las mitocondrias, en función del estado metabólico de la célula y del ciclo celular. Aunque se sabe que una mitocondria puede tener múltiples copias de su cromosoma, el número de mitocondrias por célula se mantiene dentro de un rango estrecho, por lo cual sólo se multiplican cuando la célula se divide. Una excepción la constituyen las mitocondrias en el oocito.

El proceso de replicación del genoma mitocondrial es muy semejante al de cualquier ADN. A menudo los procesos de replicación y transcripción son simultáneos como ocurre en los procariotes. De hecho, la replicación de la mitocondria requiere un tipo particular de ADN polimerasa (denominada gamma) que en algunas especies tiene gran homología con la ADN polimerasa I de *E. coli*.

Se estima que para la biogénesis y función de la mitocondria se requieren unos mil genes diferentes, de los cuales se conocen ahora la mayoría. Resulta obvio que el limitado número de genes que poseen las mitocondrias no proporciona información suficiente para la autoorganización de estas organelas. A pesar de poseer unos 22 genes para rNAt, la mitocondria no posee todos los necesarios para garantizar la síntesis de proteínas en la matriz mitocondrial; algunos de ellos tienen que ser transportados desde el citosol, lo mismo que la mayoría de las proteínas necesarias para cumplir con las funciones metabólicas propias de la mitocondria, a saber: fosforilación oxidativa; síntesis de colesterol y hormonas esteroideas; metabolismo de la urea; síntesis de aminoácidos, nucleótidos y otros lípidos.

Se han demostrado sistemas de transporte transmembranal para los componentes mitocondriales estudiados, en los



**Figura 2. Mapa genético de la mitocondria humana.** Se muestra la distribución de los genes mitocondriales de una célula humana típica. La mayoría de los péptidos, con excepción de ND6, son codificados por genes localizados en la cadena pesada (círculo exterior), mientras que 8 de los RNA de transferencia son codificados en la cadena liviana (círculo interior).

que participan chaperonas citosólicas y mitocondriales. Según la hipótesis del endosimbionte, la protomitocondria habría transferido al núcleo diferentes porciones de su genoma y habría eliminado la mayor parte de las regiones no codificantes, generando así un cromosoma con alta densidad de genes. El orden variable de los genes mitocondriales en distintas especies sugiere que ocurrieron rearrreglos evolutivos (Figuras 2 y 3). La variabilidad en la longitud del genoma, particularmente en plantas, en las cuales hasta un 60% de la secuencia no parece expresarse, podría deberse a adición de secuencias no funcionales, a su amplificación, o a la multiplicación de secuencias relacionadas con transposones. Sin embargo, existe una gran homogeneidad en el número y tipo de genes que poseen las mitocondrias, lo cual sugiere que la integración simbiótica ocurrió a partir de un único evento; además, que la pérdida y transferencia de los genes ocurrió en un período filogenético temprano. Por esta razón, el estudio de la variabilidad de secuencias mitocondriales permite rastrear cambios evolutivos sobre prolongados períodos de tiempo.

El descubrimiento de las mitocondrias y su descripción morfológica y funcional han dado una nueva perspectiva a la noción de la organización y operación de las células como unidades estructurales y funcionales de la vida. La



**Figura 3. Mapa genético mitocondrial de la levadura.** Este diagrama, representa el mapa genómico típico de una levadura. Las regiones separadoras no están a escala. Nótese la diferencia en el orden de los principales péptidos en relación con el mapa mitocondrial humano.



demostración de la existencia de un genoma funcional dentro de las mitocondrias cambió dramáticamente nuestra concepción de las células y del curso evolutivo de las mismas. Ciertas características metabólicas, particularmente los procesos químicos que proporcionan energía para el funcionamiento de la célula (los fenómenos respiratorios celulares) han sido determinantes en la generación de la diversidad biológica. La importancia funcional de las mitocondrias resulta clara al estudiar las múltiples vías metabólicas en las que está involucrado esta organela, y los diferentes estados anormales o enfermedades asociados a defectos en los genes mitocondriales (Figura 4).

La idea de una célula eucariota como resultado de la fusión simbiótica de protocélulas (procariotes), es muy atractiva. El estudio del genoma mitocondrial ha fortalecido la hipótesis del endosimbionte; de hecho se articula muy bien con la noción de evolución que actualmente se acepta ampliamente como resultado de la acumulación de evidencias científicas en esa dirección. Sin embargo, el rompecabezas celular y evolutivo dista mucho de haber sido resuelto y es posible que en el futuro sea necesario reconsiderar otras hipótesis que hasta ahora han sido desechadas por la dificultad que exige su demostración.

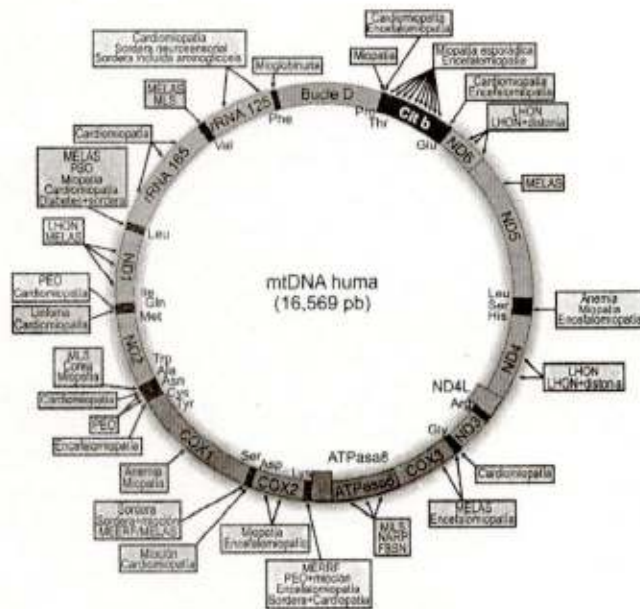


Figura 4. Mapa genético mitocondrial humano indicando algunas enfermedades asociadas con defectos mitocondriales.

