



Universidad
Zaragoza

Trabajo Fin de Grado

Grado en Medicina

Defectos de mantenimiento del ADN mitocondrial.
Mutaciones en el gen POLG. A propósito de un caso.

Mitochondrial DNA maintenance defects.
Mutations in POLG gene. Report of a clinical case.

AUTOR/ES

DAVID GUALLAR GARCÍA

DIRECTOR/ES

MANUEL GUERRA SÁNCHEZ

GUILLERMINA GOÑI RASIA

FACULTAD DE MEDICINA

2019-2020



Universidad Zaragoza



CONTENIDO

CONTENIDO.....	1
ÍNDICE DE FIGURAS.....	2
ÍNDICE DE TABLAS.....	2
1 RESUMEN	1
2 ABSTRACT.....	1
3 INTRODUCCIÓN.....	2
4 JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS	3
5 MARCO TEÓRICO.....	4
5.1 ASPECTOS GENERALES DE LA MITOCONDRIA.....	4
5.2 FISIOLÓGÍA Y BIOQUÍMICA	5
5.3 SISTEMA GENÉTICO MITOCONDRIAL.....	10
5.4 ENFERMEDADES MITOCONDRIALES. aspectos clinicos	14
6 MATERIAL Y MÉTODOS	20
7 CASO CLÍNICO.....	22
8 RESULTADOS	26
8.1 DIAGNÓSTICO ACTUAL DE LAS ENFERMEDADES MITOCONDRIALES	26
9 DISCUSIÓN.....	36
10 CONCLUSIONES	38
Bibliografía	39
ANEXO ABREVIATURAS.....	45

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Procesos de apoptosis.....	5
Figura 2: Generación de lactato.....	6
Figura 3: Ciclo de Krebs.....	7
Figura 4: Complejos multienzimáticos y transportadores.....	8
Figura 5: β -Oxidación de ácidos grasos.....	9
Figura 6: Segregación mitótica.....	12
Figura 7: Homoplasma y heteroplasma.....	12
Figura 8: Cuello de botella materno.....	13
Figura 9: Afectación multisistémica debido a fallos en la producción de ATP en la mitocondria.....	15
Figura 10: Diagrama que muestra los elementos implicados en el mantenimiento del mtADN.....	17
Figura 11: Algoritmo de aproximación diagnóstica ante la sospecha de patología relacionada con el gen POLG en adultos.....	19
Figura 12: Resumen del caso clínico.....	24
Figura 13: Resumen de las recomendaciones consensuadas de estudio bioquímico.....	28

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Genes nucleares involucrados en síndromes de depleción de mtADN.....	16
Tabla 2: Tabla que relaciona genes nucleares con su acción en la mitocondria y los cuadros clínicos que producen.....	18
Tabla 3: Búsqueda en Pubmed.....	21

1 RESUMEN

En el presente trabajo se expone el caso de una paciente afectada de enfermedad mitocondrial por deficiencia de la polimerasa gamma. La paciente porta las variantes patogénicas H1134R e Y831C en el gen de la ADN polimerasa gamma. Se expone también el marco teórico fisiopatológico y bioquímico que subyace a estas patologías para intentar comprender el funcionamiento de las enfermedades mitocondriales, así como su diagnóstico y tratamiento.

Además, se discute el proceso diagnóstico y terapéutico de las enfermedades mitocondriales actualizando el conocimiento sobre estas patologías, a fin de aportar las últimas evidencias científicas para el diagnóstico y las posibilidades terapéuticas disponibles en la actualidad, así como las que se encuentran en estudio y desarrollo.

Palabras clave: Fosforilación oxidativa, metabolismo energético, enfermedades mitocondriales, gen POLG, ADN mitocondrial (mtADN), ADN nuclear (nADN), cadena respiratoria, diagnóstico prenatal, secuenciación de próxima generación (NGS), depleción de ADN mitocondrial, defectos de mantenimiento del mtADN

2 ABSTRACT

The 2006 case of a newborn with a mitochondrial disease is studied. This pathology is due to a mutation in the gamma DNA polymerase gene: H1134R and Y831C. The pathophysiological and biochemical theoretical framework underlying these pathologies is explained to understand the way mitochondrial diseases work. This is used to later justify the diagnosis and treatment of these diseases.

The diagnostic and therapeutic process is compared with the literature on mitochondrial diseases. The knowledge about these pathologies is updated, providing the latest scientific evidence on the diagnosis and therapeutic possibilities currently available, as well as some currently developing.

Keywords: Oxidative phosphorylation, energy metabolism, mitochondrial diseases, POLG gen, mitochondrial DNA (mtDNA), nuclear DNA (nDNA), respiratory chain, prenatal diagnosis, next generation sequencing (NGS), mtDNA depletion, maintenance defects of the mitochondrial DNA.

3 INTRODUCCIÓN

Las mitocondrias son orgánulos situados en el citoplasma celular e indispensables para las células eucariotas, cuya función principal es la de generar la energía necesaria para llevar a cabo la actividad o respiración celular. Por ello, las enfermedades mitocondriales son enfermedades de base genética que se caracterizan por un déficit energético debido a alteraciones en las proteínas que llevan a cabo la fosforilación oxidativa (OXPHOS) (1). Las proteínas requeridas para llevar a cabo la función mitocondrial provienen de dos fuentes genéticas, el ADN mitocondrial (mtADN) y el ADN nuclear (nADN). Por ello, mutaciones o errores en cualquiera de estos dos tipos de ADNs pueden resultar en una patología de tipo mitocondrial. La patología causada por alteración en el mtADN puede deberse tanto a mutaciones puntuales en el mtADN como a deleciones del mtADN o a depleción del mtADN. Los defectos de mantenimiento del mtADN son un grupo de patologías que engloban defectos cualitativos o cuantitativos del mtADN (múltiples deleciones o depleción) (2).

Las enfermedades mitocondriales suelen ser progresivas y multisistémicas, presentándose como un grupo heterogéneo de trastornos. Los órganos típicamente afectados son los que tienen una gran demanda energética, como el músculo esquelético y cardíaco, sin embargo, prácticamente cualquier órgano o tejido puede estar afectado. La diversidad de fenotipos que pueden expresar estas enfermedades supone un reto en la práctica clínica, especialmente en su diagnóstico. Pero, la dificultad diagnóstica se debe no sólo al amplio espectro de síntomas y signos que presenta, sino también a la ausencia de una detección sistemática fiable o a la falta de un biomarcador sensible y específico (3)(5).

Por todo ello, estimar la prevalencia de estas enfermedades resulta extremadamente complicado. Algunos estudios sitúan la prevalencia de las enfermedades mitocondriales en general entre 1 de cada 5.000 a 10.000 habitantes (4). El estudio más detallado al respecto, realizado en el noreste de Inglaterra, muestra una prevalencia estimada de 9,6 casos de enfermedades mitocondriales causadas por mutación en el nADN cada 100.000, y de 2,9 casos de enfermedades causadas por mutaciones en el mtADN por 100.000 habitantes (1)(3). Todos los estudios coinciden en la dificultad de llegar a calcular una prevalencia real debido al infra diagnóstico y heterogeneidad clínica.

Lo que en tiempos fueron consideradas enfermedades raras a describir en las sesiones clínicas o en forma de casos clínicos en las revistas en la actualidad son trastornos que se observan con mayor frecuencia (5). Debido al gran desconocimiento acerca de estas enfermedades, no solo el diagnóstico representa un reto, sino también el tratamiento curativo efectivo que sigue siendo esquivo, por lo que generalmente estará dirigido solo a paliar los síntomas.

Para llevar a cabo el estudio de estas enfermedades y en particular del caso a revisar, en los siguientes apartados se abordará el conocimiento de la mitocondria, su estructura, sus funciones, su división y mantenimiento normales que nos permitirán comprender y explicar la fisiopatología que subyace en estos síndromes.

4 JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

Este trabajo recoge la aproximación clínica y metodología diagnóstica a una paciente con una enfermedad mitocondrial que, a pesar de utilizar todos los recursos diagnósticos disponibles en aquel momento no se alcanzó un correcto diagnóstico etiológico hasta 5 años después.

Las enfermedades mitocondriales están consideradas como enfermedades raras, aunque su prevalencia no es tan reducida como se suele creer, por lo tanto hay que pensar en ellas para poderlas diagnosticar (1)(3).

Su diagnóstico, como se ha comentado, es complejo, dificultado por la sintomatología heterogénea con fenotipos clínicos muy diferentes con la que se presentan y que, además, pueden manifestarse tanto en edad pediátrica como adulta.

Por otro lado, el tratamiento disponible es escaso, y de efectividad limitada. Generalmente es paliativo, enfocado al alivio de la sintomatología. Como dificultad añadida, existe un desconocimiento general sobre este tipo de patologías (5).

Con este trabajo se pretenden conseguir los siguientes objetivos

- 1) El objetivo principal de este trabajo consiste en actualizar la información disponible en cuanto al diagnóstico y tratamiento de estas enfermedades.
- 2) Exponer el conocimiento actual sobre las enfermedades mitocondriales.
- 3) Estudio y análisis de un caso pasado como precedente, para mejorar el manejo de casos similares que puedan presentarse en la actualidad con el conocimiento disponible hoy en día.
- 4) Investigar sobre opciones diagnósticas y terapéuticas novedosas disponibles en la actualidad, así como en desarrollo con posible aplicación en un futuro cercano.
- 5) Presentar un informe actualizado sobre el conocimiento adquirido sobre este tipo de enfermedades.
- 6) Facilitar una fuente de información para profesionales que deseen actualizar o incrementar su conocimiento sobre las patologías tratadas en este trabajo, a fin de lograr una mayor familiaridad con ellas. Especialmente para que los médicos de asistencia primaria puedan acercarse a las manifestaciones cambiantes pero reales de la enfermedad mitocondrial que facilite el adecuado diagnóstico y tratamiento de esta patología que se presenta de forma cada vez más frecuente y que involucra a todas las especialidades.

5 MARCO TEÓRICO

5.1 ASPECTOS GENERALES DE LA MITOCONDRIA

Las mitocondrias son orgánulos celulares, presentes en todas las células nucleadas de los mamíferos (por lo que no están presentes en los eritrocitos). Están formadas por una doble membrana (externa e interna) que limita un espacio intermembranoso y una matriz mitocondrial (6). La membrana externa de las mitocondrias es lisa, pero la interna forma unos pliegues o crestas, que aumentan su superficie. De esta manera aumenta el espacio disponible para la presencia de una gran cantidad de proteínas enzimáticas y de transporte. Entre ellas, las que forman los complejos enzimáticos de la cadena respiratoria destinados a la producción de energía (7).

Estos orgánulos son conocidos, principalmente, por su papel en la generación de energía en forma de ATP mediante la respiración aeróbica, usando como combustible nutrientes orgánicos. Pero, además, llevan a cabo otras funciones, que pueden variar según el tipo de célula eucariota en la que estén presentes. Se cree que todas las mitocondrias derivan de un orgánulo ancestral que se originó por la integración endosimbiótica de una proteobacteria y un huésped celular, una arquea del grupo Asgard (8).

La mitocondria está involucrada en los procesos termogénicos no relacionados con los movimientos corporales (temblor) (7). Además, estos orgánulos generan especies reactivas de oxígeno (ROS), como el ion superóxido O_2^- , que está involucrado en muchas señales relacionadas con el crecimiento, la supervivencia y la migración de la célula (9).

Las mitocondrias poseen su propio material genético, de manera que pueden sintetizar proteínas, necesarias para realizar sus funciones, para mantener su propia estructura, y «reproducirse» generando nuevas mitocondrias. Es por ello por lo que se dice que tienen una vida semiautónoma. La supervivencia misma de cada célula eucariota depende de la integridad de sus mitocondrias (6)(7).

La mitocondria participa activamente en la producción de la apoptosis o muerte celular programada, que implica la muerte de ciertas células como células anormales, infectadas por virus o cancerosas, proceso que es ventajoso y muchas veces resulta esencial para la supervivencia del organismo (Figura 1). En este proceso está regulado por proteínas antiapoptóticas y mediado por proteínas proapoptóticas. La apoptosis se desencadena cuando la principal proteína proapoptótica, el citocromo C, sale de la mitocondria a través de unos poros que se forman en su membrana por otras proteínas proapoptóticas, e inicia una cascada de eventos bioquímicos que culminan con la muerte celular (6).

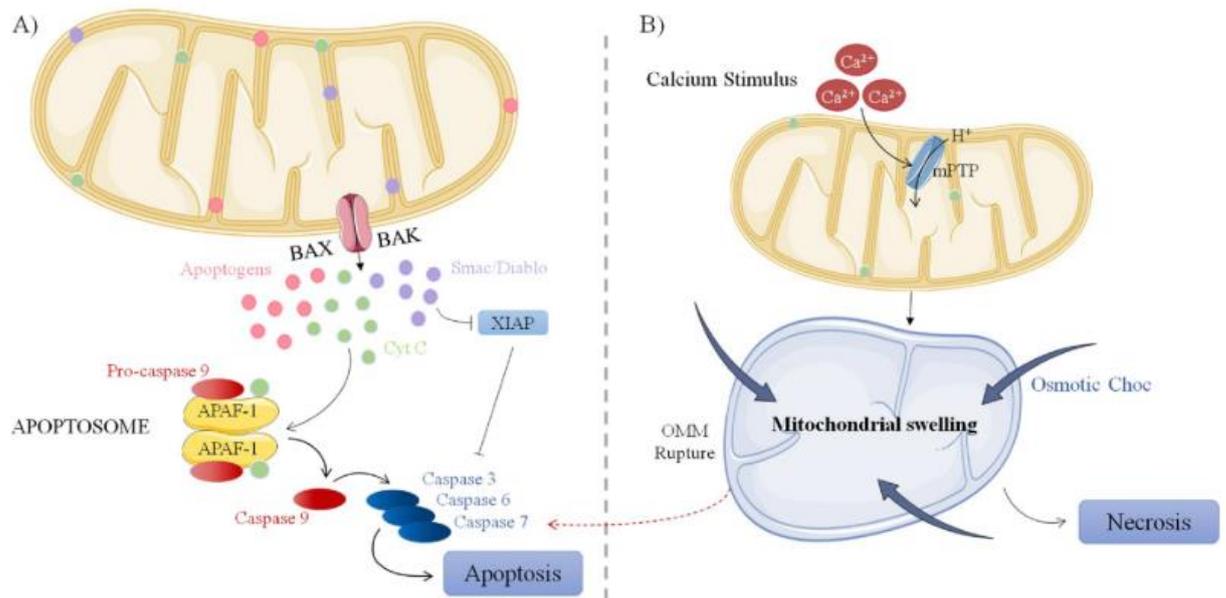


Figura 1: Procesos de apoptosis (izquierda) y necrosis (derecha) (1).

5.2 FISIOLÓGÍA Y BIOQUÍMICA

Como se ha visto, las mitocondrias son orgánulos complejos con numerosas funciones importantes en las células eucariotas, entre las que destaca la producción de energía. A continuación, se detallarán estos procesos.

5.2.1 METABOLISMO INTERMEDIARIO

Las mitocondrias son orgánulos cruciales como integradoras del metabolismo intermediario (10). El metabolismo intermediario es la suma total de todas las reacciones enzimáticas que tienen lugar en la célula (11). Las funciones son las siguientes:

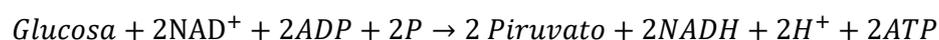
- 1) Obtener energía química del entorno
- 2) Convertir elementos nutritivos exógenos en las unidades estructurales o precursores de los componentes macromoleculares de las células
- 3) Reunir los precursores para formar proteínas, ácidos nucleicos, lípidos, polisacáridos y otros componentes celulares
- 4) Formar y degradar las biomoléculas que se necesitan en la función especializada de la célula

5.2.1.1 GENERACIÓN DE ENERGÍA

En las células eucariotas se genera energía mediante 2 vías diferentes, una aerobia y otra anaerobia

5.2.1.1.1 Generación en condiciones anaerobias mediante glucólisis en el citosol

La glucólisis anaerobia genera pequeñas cantidades de ATP, como se muestra en la siguiente ecuación:

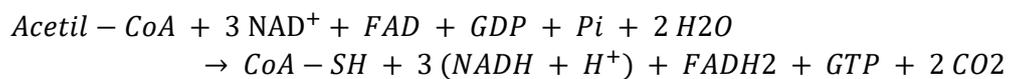


El rendimiento neto de la glucólisis por mol de glucosa metabolizada es el siguiente:

- 1) 2 moles de piruvato.
- 2) 2 moles de ATP
- 3) 2 equivalentes reductores en forma de NADH

El piruvato resultante puede transformarse en diferentes productos según las condiciones de oxigenación presentes:

- **En anaerobiosis:** se reduce por fermentación a lactato a través de una reacción catalizada por la enzima lactato deshidrogenasa, donde se regenera poder reductor o NAD^+ , el cual permite metabolizar más glucosa mediante glucólisis (12) (Figura 2).
- **Aerobias:** se oxida y decarboxila catalizado por la piruvato deshidrogenasa a CO_2 y acetil-CoA. Este último se metabolizará por el ciclo de los ácidos tricarboxílicos o ciclo de Krebs (10). Su balance neto es:



Obteniendo energía en forma de energía química (GTP) y poder reductor (NADH y FADH₂).

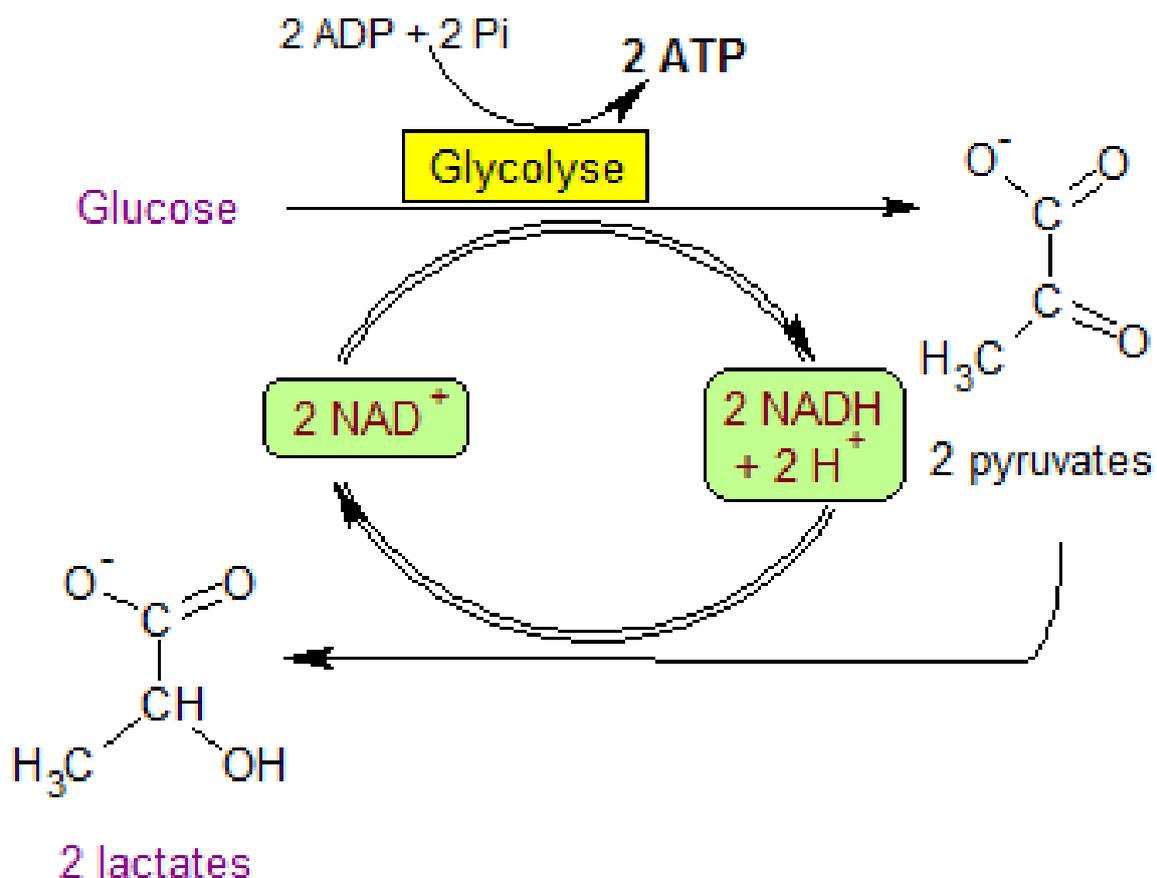


Figura 2: Generación de lactato. Una molécula de glucosa genera otra de lactato mediante una reacción anaeróbica (13).

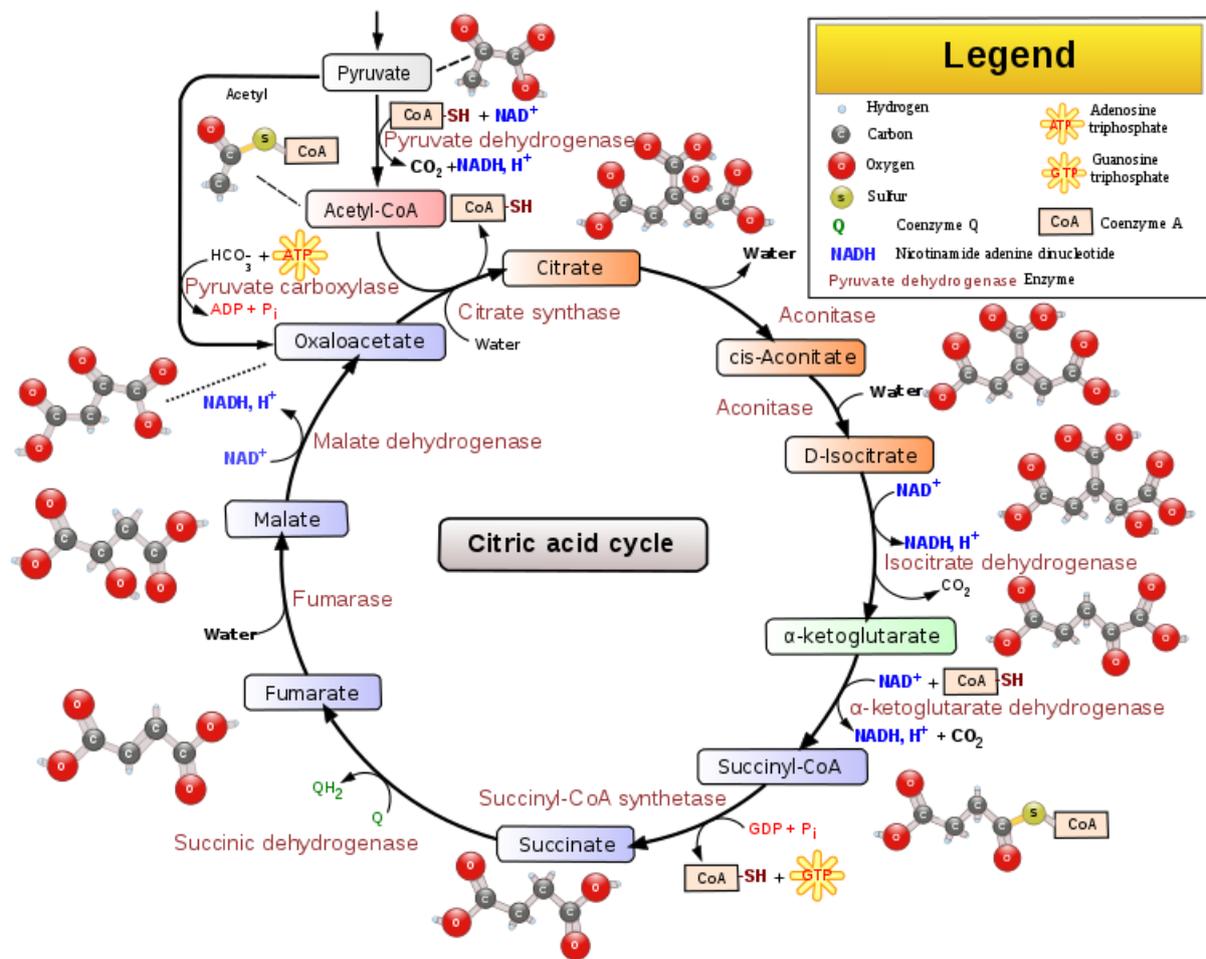


Figura 3: Ciclo de Krebs. En el margen superior izquierdo puede verse el paso de piruvato a Acetil-CoA (6).

5.2.1.1.2 Fosforilación oxidativa en las mitocondrias (aerobia)

La fosforilación oxidativa u OXPHOS es la etapa final de la oxidación aeróbica de nutrientes energéticos. Es un proceso que también sucede en la mitocondria y genera energía química en forma de ATP. Antropológicamente, en etapas tempranas de la historia de la vida se originó un método eficaz para generar energía y sintetizar ATP que superaba a la fermentación o glucólisis. Este proceso consiste en el desplazamiento de electrones a través de membranas, que es precisamente el proceso empleado en la fosforilación oxidativa (14). Este proceso genera la mayor parte (~90%) del ATP celular (15).

El movimiento de electrones a través de la membrana se lleva a cabo mediante la cadena de transporte de electrones (CTE), y lo que en ella sucede es un proceso exergónico (que genera energía). Los compuestos reductores (como NADH) *donan* electrones a aceptores de electrones (como el oxígeno). La energía transferida del primer proceso genera un movimiento de protones a través de la membrana, los expulsa de la matriz mitocondrial y los introduce en el espacio intermembrana. Este gradiente generado de protones permite un flujo de reentrada que es el que aporta la energía a la enzima ATP sintasa para generar moléculas trifosfato (ATP) (Figura 4).

Una célula sin mitocondrias, como es el caso de los eritrocitos, aprovecha peor sus nutrientes energéticos. Por ejemplo, de 1 molécula de glucosa obtiene únicamente 2 moléculas de ATP. En cambio, una mitocondria por fosforilación oxidativa es capaz de generar hasta 32 moléculas de ATP por molécula de glucosa (6).

La CTE está compuesta por cinco complejos multienzimáticos (Figura 4) y dos moléculas que actúan a modo de nexo de unión o lanzadera, la coenzima Q y el citocromo c, cuya función es transportar electrones entre los diferentes complejos. El quinto complejo es la ATP sintasa, que es la encargada de sintetizar las moléculas de ATP (1).

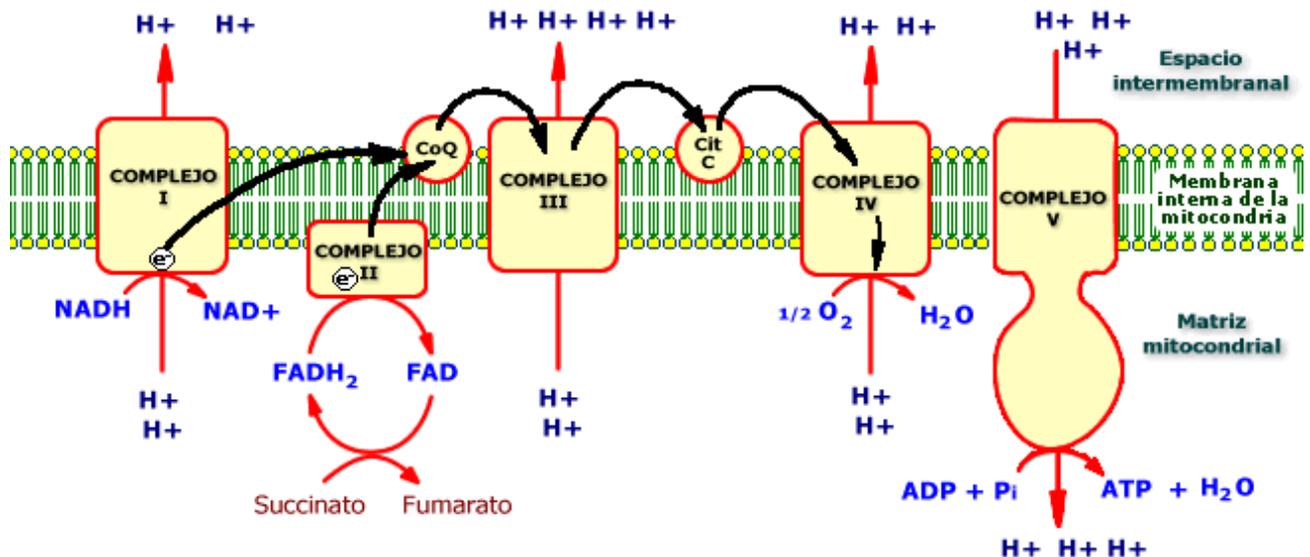


Figura 4: Complejos multienzimáticos y transportadores. CoQ (Coenzima Q10), Cit c (citocromo c), transportadores de electrones (16).

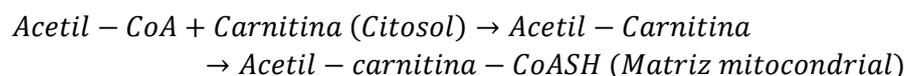
5.2.1.2 GLUCONEOGÉNESIS

La gluconeogénesis tiene lugar en las mitocondrias del hígado y de la corteza renal (12), a partir de diferentes sustancias:

- 1) Piruvato
- 2) Lactato: mediante el ciclo de cori, gluconeogénesis hepática acoplada a la producción muscular de lactato.
- 3) Intermediarios del ciclo de Krebs
- 4) Aminoácidos glucogénicos: principalmente la alanina y la glutamina
- 5) Ciclo glucosa-alanina: en tejidos periféricos, el piruvato experimenta transaminación a alanina, que se devuelve al hígado y se utiliza para la gluconeogénesis
- 6) Glicerol

5.2.1.3 β -OXIDACIÓN DE LOS ÁCIDOS GRASOS

La energía procedente de la degradación de grasas se obtiene mediante la β -oxidación de ácidos grasos. Este proceso también tiene lugar en el interior de las mitocondrias. Los ácidos grasos constituyen una fuente importante de energía debido a que la mayor parte de sus átomos de carbono están en estado más reducido que en los hidratos de carbono o las proteínas. Este proceso supone la degradación de ácidos grasos a acetil-CoA (11) (Figura 5).



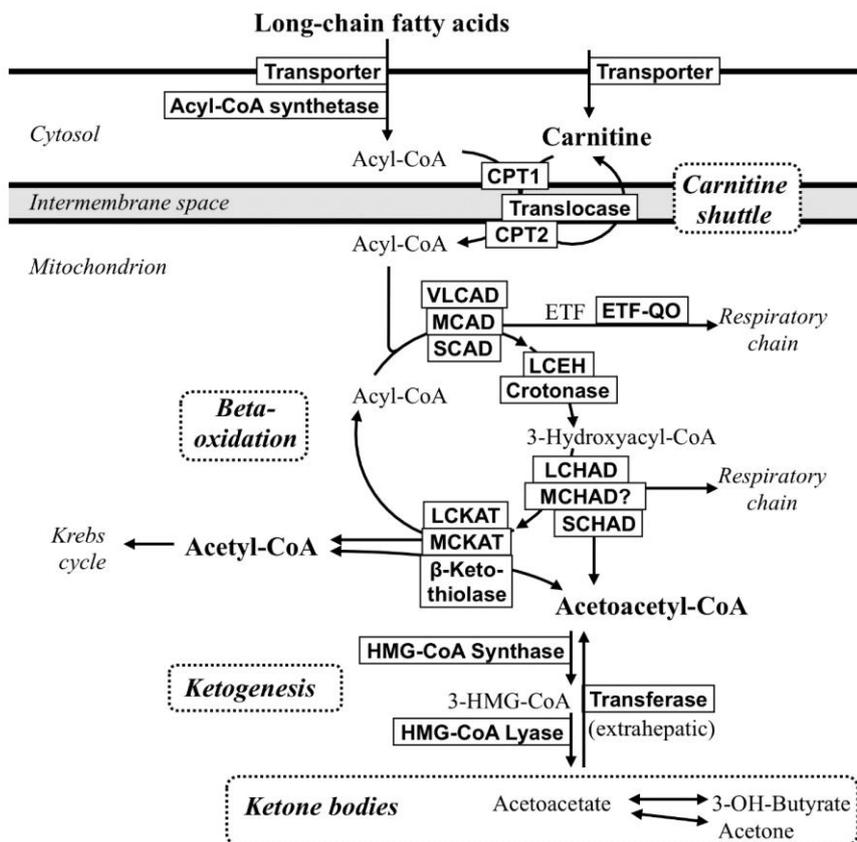
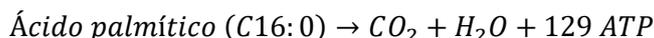


Figura 5: β -Oxidación de ácidos grasos (17).

El acetyl-Coa, como se ve en Figura 5, puede seguir la ruta del ciclo de Krebs, o formar cuerpos cetónicos. El malonil-CoA es el primer intermediario de la síntesis de ácidos grasos e inhibe esta ruta de degradación (10).

El rendimiento energético de la β -oxidación (ejemplo con el palmítico C16:0, que es un ácido graso saturado formado por una cadena de dieciséis átomos de carbono) puede verse en la siguiente reacción:



Por cada átomo de C oxidado se obtienen 8'2 moléculas de ATP. Mientras que en la oxidación de la glucosa se obtiene 6'3 moléculas de ATP por cada átomo de carbono oxidado (10).

En la degradación de ácidos grasos de cadena impar se obtiene al final una molécula de acetyl-CoA y otra de propionil-CoA. Este último sigue una serie de transformaciones por las que acaba entrando en la ruta del ciclo de krebs a través del succinil CoA:



5.2.1.4 METABOLISMO DE LOS CUERPOS CETÓNICOS

Los cuerpos cetónicos se originan a partir del acetil-CoA (11), que a su vez proviene de:

- 1) Oxidación a $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$ (ciclo de Krebs)
- 2) Biosíntesis de ácidos grasos
- 3) Biosíntesis de colesterol
- 4) Biosíntesis de cuerpos cetónicos

En la mitocondria, cuando el acetil-CoA se acumula, sigue la ruta de la cetogénesis (14).

Cuando la disponibilidad de glucosa es baja en el hígado predomina la degradación de ácidos grasos respecto a la de hidratos de carbono, por lo que se forman grandes cantidades de acetil-CoA.

Cuando en la mitocondria no hay disponibilidad de oxalacetato (agotamiento de hidratos de carbono), el acetil-CoA no puede entrar al ciclo de Krebs y es cuando se forman cuerpos cetónicos en exceso (ruta denominada de rebosamiento) (14).

Los cuerpos cetónicos son el acetoacetato, acetona (las cetonas) y D- β -hidroxibutirato (11). Éstos se exportan a los músculos esquelético y cardíaco y a la corteza renal. El cerebro sólo los consume en estado de inanición. Este transporte permite la continua oxidación de ácidos grasos en el hígado cuando el acetil-CoA no está siendo oxidado en el ciclo de Krebs.

El exceso de cuerpos cetónicos, que son compuestos ácidos, acarrea numerosos problemas, como acidosis metabólica y cetosis, debilidad, deshidratación, vómitos, hipertensión, taquicardia y la disminución del nivel de conciencia entre otros (18).

5.3 SISTEMA GENÉTICO MITOCONDRIAL

El cigoto de los mamíferos es una célula nueva generada a partir de un óvulo y un espermatozoide. El espermatozoide sólo aporta al cigoto su material genético, mientras que el óvulo proporciona su material genético y todos los orgánulos necesarios para el buen funcionamiento celular, incluidas las mitocondrias. La procedencia del mtADN es exclusivamente del óvulo, por eso el material genético de las mitocondrias humanas (mtADN) procede únicamente de la madre (aunque en ocasiones puede haber una contribución paterna) (1).

El mtADN es una cadena doble de ADN, integrado por 16.569 pares de bases (19), codifica:

- 1) 22 ARNs de transferencia
- 2) ARNs ribosómicos
- 3) 13 péptidos de la CTE (componentes del sistema OXPHOS, excepto el complejo II)

La secuencia completa del mtADN se publicó por primera vez en 1981 (20).

La independencia de la mitocondria es relativa, ya que su funcionamiento y su material genético están coordinados con el del núcleo celular, que contiene material genético de origen materno y paterno.

La cantidad de mtADN en cada célula puede variar entre cientos de miles de copias y unos pocos cientos, dependiendo del tipo de célula (7).

El mtADN tiene una alta tasa de mutación, de 10 a 17 veces mayor que la observada en el nADN. El mtADN tiene una estructura circular, carece de estructura intrón-exón y de la protección de las histonas. Además, al codificar las proteínas involucradas en los procesos de fosforilación oxidativa, se encuentra expuesto al daño oxidativo producido por los radicales libres generados en ese metabolismo. Por último, aunque existen sistemas de mtADN de reparación, no son suficientes para contrarrestar el daño oxidativo sufrido por el genoma mitocondrial, ni son tan eficientes como el del nADN (7).

La tasa de mutación del mtADN se puede verse influida por factores ambientales o por mutación de genes nucleares involucrados en el mantenimiento de mtADN (21).

5.3.1 REGULACIÓN DE LA FUNCION MITOCONDRIAL Y PATRÓN DE HERENCIA

Se necesitan más de 1500 proteínas para una correcta función de la mitocondria. De ellas, sólo 13 las codifica el mtADN. El resto las codifica el nADN y, tras traducirse en el citoplasma, son importadas a través de la membrana mitocondrial.

La función mitocondrial está regulada por un doble sistema genético:

- mtADN
- nADN

El término "enfermedad mitocondrial" se aplica al grupo de trastornos que tienen en común el estar producidos por una deficiencia en la biosíntesis de ATP y que pueden estar causadas por mutaciones en uno o en ambos sistemas genéticos, mostrando patrones de herencia materna o mendeliana, lo que complica su diagnóstico. La enfermedad por esta razón presenta síntomas muy diferentes, suelen ser multisistémicas, presentan una morbilidad y mortalidad muy significativas y, la relación del genotipo del mtADN con el fenotipo no es nada clara (22).

5.3.2 CARACTERÍSTICAS DIFERENCIALES DEL ADN MITOCONDRIAL

Herencia materna: Las mitocondrias se heredan de la madre, por lo que ella transmite el genoma mitocondrial a todos sus hijos, pero solo las mujeres lo transmiten a la siguiente generación (19).

Poliplasmia: El número de moléculas de mtADN varía entre unas pocas en las plaquetas a unas 100.000 en el ovocito, pero la mayor parte de los tejidos contienen entre 1.000 y 10.000 copias por célula (22).

Heteroplasmia: coexistencia en una misma célula de poblaciones mutadas y sanas de mtADN (19).

Segregación mitótica: Durante la división mitocondrial, las moléculas de mtADN se segregan al azar entre las células hijas, pudiendo dar lugar a tres posibles genotipos: homoplásmico normal, homoplásmico mutante y heteroplásmico con porcentajes variables de mtADN mutado y normal (Figura 6). Por tanto, el fenotipo de una célula con heteroplasmia dependerá del porcentaje de mtADN mutado. A su vez, durante la división celular las mitocondrias se segregan también al azar por lo que los diferentes tejidos y órganos que formarán pueden contener un porcentaje variable de mitocondrias mutadas (0%, 30%, 70%, etc o 100%), explicando así que las enfermedades mitocondriales suelen ser multisistémicas y tan heterogéneas (Figura 7) (19).

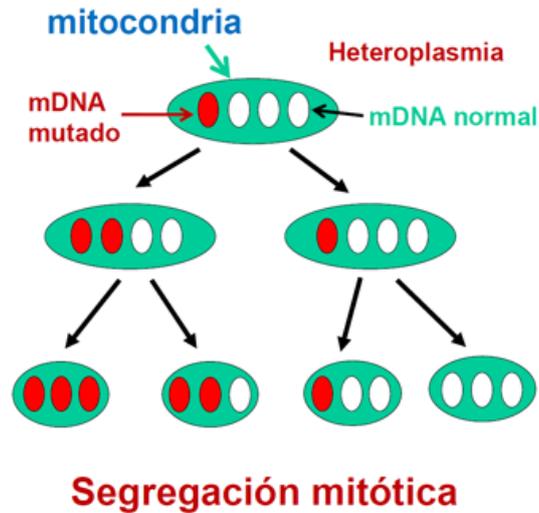


Figura 6: Segregación mitótica (21).

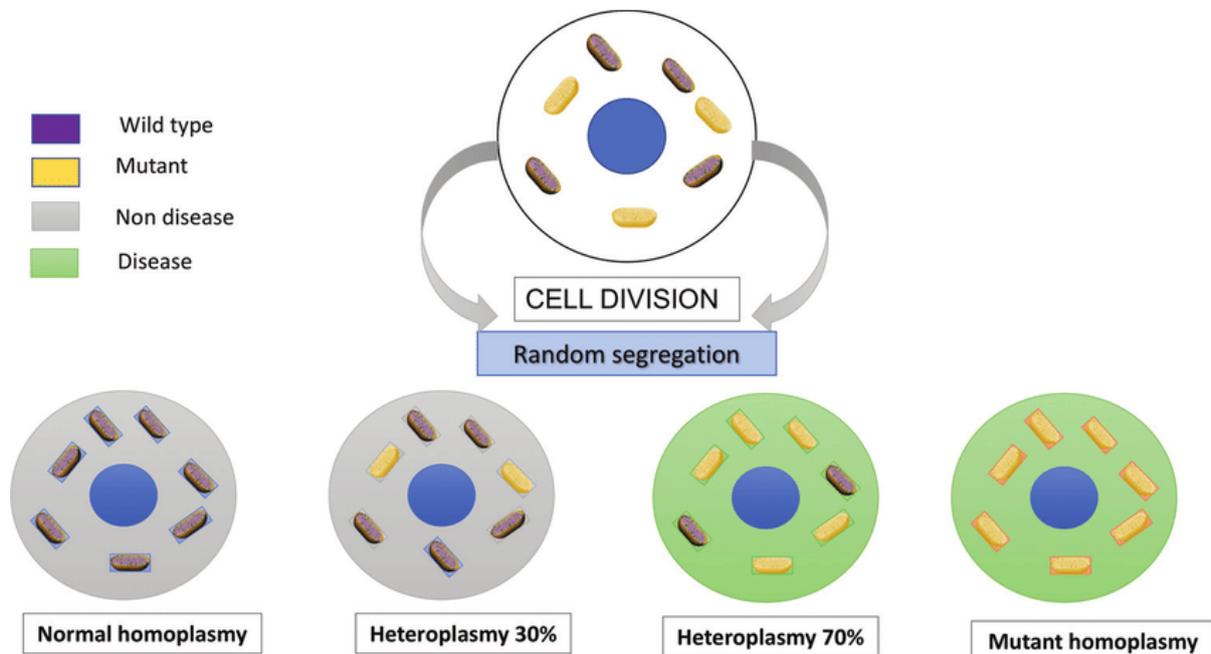


Figura 7: Homoplasmia y heteroplasmia. Se ven 3 mitocondrias, la primera, con mtADN homoplásmico sin mutaciones. La segunda, con heteroplasmia en la que el 30% del ADN no está mutado. La última, una mitocondria con el 70% de su ADN mutado (23).

Expresión umbral: Cuando los niveles de ATP están por debajo de un nivel umbral, que difiere para cada tejido según sus necesidades energéticas, aparecen manifestaciones de la enfermedad. Por tanto, el hecho de que cada célula exprese la enfermedad depende de qué cantidad de mtADN defectuoso tenga y sus necesidades energéticas. Los tejidos que se ven más afectados son el sistema nervioso, el cardíaco y el muscular, aunque realmente, cualquier órgano o tejido puede verse implicado (22).

Cuello de botella materno: el ovocito, antes de madurar, reduce su número de moléculas de mtADN, y selecciona al azar un pequeño porcentaje que luego se amplifica. Por lo tanto, el mtADN de la descendencia en realidad procede de una pequeña proporción del mtADN materno, pudiendo haber seleccionado ADN mutado o no (24).

En la Figura 8 se muestra un ejemplo en el que una mujer posee un 30% de mtADN mutado, pero a su descendencia puede transmitirle desde sólo mtADN normal (0% mutado) hasta el 100% de mtADN mutado, según la población de mtADN resultante tras la reducción.

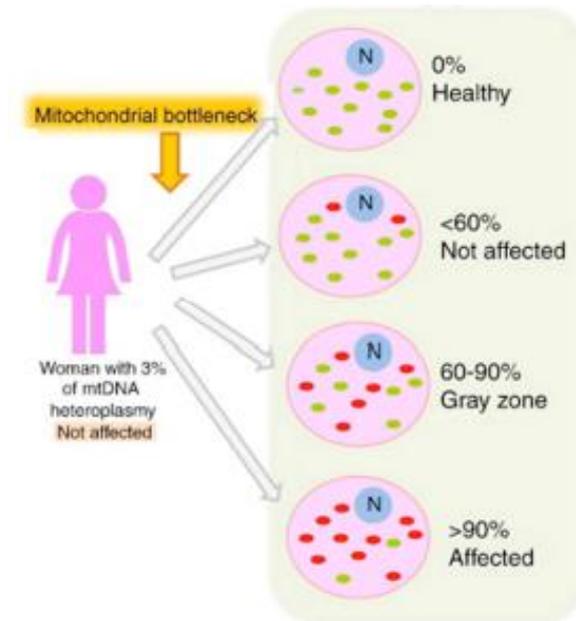


Figura 8: Cuello de botella materno (25).

5.3.3 ADN NUCLEAR RELACIONADO CON EL FUNCIONAMIENTO DE LA MITOCONDRIA

Hay más de 1.500 genes nucleares diferentes que codifican proteínas mitocondriales. Actualmente se está descubriendo un número creciente de mutaciones en estos genes. La herencia de estos genes, por ser nucleares, se ajusta a un patrón mendeliano, que puede ser autosómico dominante, recesivo o ligada al cromosoma X. Las consecuencias patológicas de las mutaciones en el nADN que afectan a las mitocondrias son variadas e incluyen defectos en la replicación mtADN, la traducción del mtADN y la homeostasis mitocondrial, entre otras (26).

5.4 ENFERMEDADES MITOCONDRIALES. ASPECTOS CLINICOS

El amplio abanico de alteraciones en el metabolismo oxidativo mitocondrial condiciona cuadros heterogéneos englobados bajo la denominación de enfermedades mitocondriales, reservándose el término citopatías mitocondriales para disfunciones de la cadena respiratoria mitocondrial (27).

Si bien existen una serie de síndromes clínicos bien definidos, su característica principal es la heterogeneidad en sus manifestaciones (ver Figura 9), que viene en parte condicionada por los fenómenos de heteroplasmia, segregación mitótica y efecto umbral, debido a que, como se ha enunciado antes, cada tejido requiere un determinado porcentaje de mitocondrias afectadas para que se exprese el proceso (28).

Las enfermedades mitocondriales pueden manifestarse a cualquier edad, en cualquier órgano que requiera energía, siendo los síntomas predominantes los neuromusculares. Debe sospecharse un defecto de la fosforilación oxidativa mitocondrial ante cualquier paciente que presente una asociación inexplicable de dos o más síntomas, con un curso clínico rápidamente progresivo, y que afecte tejidos y órganos aparentemente no relacionados (29).

Prácticamente, cualquier síntoma o afectación orgánica puede ser reflejo de disfunción mitocondrial, siendo especialmente sugerentes los siguientes hechos (30):

1. Evidencia de trastorno multistémico progresivo, que afecte en proporción y cronología variable al sistema nervioso central (SNC), sistema nervioso periférico (SNP), ojos, audición, musculatura estriada y corazón.
2. Oftalmoplejía externa progresiva, en especial si va asociada a retinitis pigmentaria.
3. Asociación de polimioclonías y ataxia.
4. Existencia de ataxia cerebelosa con trastornos sensoriales propioceptivos.
5. Debilidad muscular e intolerancia al ejercicio asociada a un síndrome neurológico.
6. Episodios neurológicos recurrentes y parcialmente progresivos (tipo ictus), tales como hemiparesia, hemianopsia, ceguera cortical o migraña.
7. Síndrome de talla baja y déficit de audición progresivo.

Afectación multisistémica

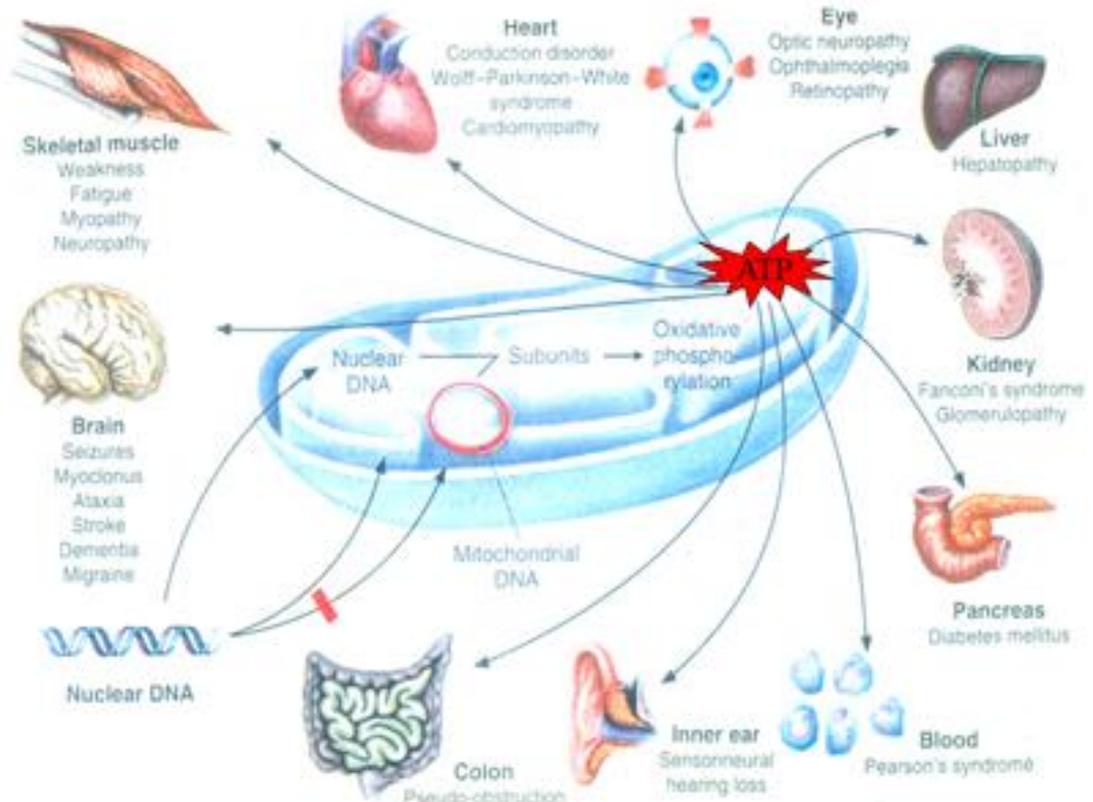


Figura 9: Afectación multisistémica debido a fallos en la producción de ATP en la mitocondria (29).

5.4.1 DEFECTOS DEL MANTENIMIENTO ADN MITOCONDRIAL

Los defectos del mantenimiento del mtADN (MDMD) son un grupo de enfermedades causadas por variantes patogénicas en los genes nucleares implicados en el mantenimiento del ADN mitocondrial (hasta el momento se han descrito 20 genes) que producen defectos cuantitativos (depleción de ADN mitocondrial) y cualitativos (múltiples deleciones de ADN mitocondrial). Por lo tanto, los MDMD se heredan siguiendo un patrón de herencia nuclear y no mitocondrial (24).

El mtADN defectuoso ocasiona una disfunción orgánica debido a la síntesis insuficiente de proteínas codificadas por él, lo que resulta en una síntesis insuficiente de los componentes de la cadena respiratoria necesarios para la producción adecuada de energía de los órganos afectados (30).

El mantenimiento del mtADN depende de proteínas codificadas por el nADN (ver Tabla 1), entre ellas (31):

- 1) Genes que codifican enzimas de maquinaria de replicación de mtADN (polimerización de mtADN: **POLG**, POLG2, TWNK y TFAM; y nucleasas que eliminan los intermedios de la aleta: RNASEH1, MGME1 y ADN2)
- 2) Genes que codifican proteínas que funcionan para mantener un grupo equilibrado de nucleótidos mitocondriales (vía de rescate mitocondrial: TK2, DGUOK, SUCLG1, SUCLA2 y ABAT; metabolismo de nucleótidos citosólicos RRM2B y TYMP; e importación de nucleótidos mitocondriales: SLC25A4, AGK y MPV17)
- 3) Genes que codifican proteínas involucradas en la fusión mitocondrial (OPA1, MFN2 y FBXL4)

Tabla 1: Genes nucleares involucrados en síndromes de depleción de mtADN. ADN mitocondrial (mtDNA), autosómico dominante (AD), autosómico recesivo (AR), deleciones de mtADN múltiples (dels), depleciones de mtADN (depl), oftalmoplejia externa progresiva (PEO), miopatía mitocondrial (MM), síndrome de depleción de mtADN (MDS), síndrome de Alpers (AS), síndrome de ataxia recesiva mitocondrial (MIRAS), encefalopatía mitocondrial (ME), atrofia óptica (OA), encefalopatía neurogastrointestinal mitocondrial (MNGIE), ataxia infantil espinocerebral (IOSCA) (31).

Pathway	Gene	Locus	Encoded Protein	Transmission	Onset	mtDNA Defects	Tissues Mainly Affected	Clinical Phenotypes
mtDNA replication	POLG	15q25	DNA polymerase gamma, catalytic subunit	AD, AR	Adult	dels	muscle	PEO, MM
				AR	Infantile	depl	liver	MDS, ME, AS
					Adult	depl	cerebellum	MIRAS
mtDNA replication	POLG2	17q	DNA polymerase gamma, accessory subunit	AD	Adult	dels	muscle	PEO
	PEO1	10q24	Twinkle	AD	Adult	dels	muscle	PEO
AR				Infantile	depl	liver	MDS	
mtDNA repair	MGME1	20p11.23	Mitochondrial genome maintenance exonuclease 1	AR	Adult	dels/depl	muscle	PEO, MM
				AD	Adult	dels	muscle	PEO, MM
				AD	Adult	dels	muscle	PEO, MM
dNTPs pools maintenance	SLC25A4	4q35	Adenine nucleotide translocator	AD	Adult	dels	muscle	PEO
	TYMP	22q13	Thymidine phosphorylase	AR	Late childhood	dels/depl	muscle	MNGIE
					Adolescence			
dNTPs pools maintenance	TK2	16q22-q23.1	Thymidine kinase 2	AR	Early childhood	depl	muscle	MDS
				AR	Adult	dels	muscle	PEO, MM
				AR	Neonatal Infantile	depl	liver/muscle	MDS
dNTPs pools maintenance	RRM2B	8q23.1	Ribonucleotide reductase M2 B	AR	Infantile	depl	muscle	MDS
				AR	Adult	depl	muscle	MNGIE
				AD	Adult	dels	muscle	PEO
dNTPs pools maintenance	SUCLA2	13q12.2-q13.1	Succinyl-CoA ligase, beta subunit	AR	Early childhood	depl	muscle	MDS
	SUCLG1	2p11.2	Succinyl-CoA ligase, alpha subunit	AR	Neonatal Infantile	depl	muscle/liver	MDS
	ABAT	16p13.2	4-aminobutyrate aminotransferase	AR	Infantile	depl	brain/muscle	MDS
Mitochondrial dynamics	OPA1	3q28-q29	Mitochondrial dynamin-like GTPase	AD	Adult	dels	muscle	OA plus
	MFN2	1p36.22	Mitofusin 2	AR	Adult	dels	muscle	OA plus
	MPV17	2p23.2	Mpv17 mitochondrial inner membrane protein	AR	Neonatal Infantile	depl	liver	MDS
AR				Adult	dels	brain	ME	
Mitochondrial dynamics	FBXL4	6q16.1	F-box and leucine-rich repeat (LRR) protein	AR	Neonatal Infantile	depl	brain/muscle	ME/

La síntesis de mtADN requiere disponibilidad constante de bloques de construcción de ADN, los desoxirribonucleótidos trifosfatos (dNTP), “los ladrillos”. Estos, provienen de vías de novo y de vías de rescate en las que se producen dNTP usando nucleótidos preexistentes (Figura 10).

A diferencia del ADN nuclear, que se replica solo durante la división celular, la síntesis de mtADN es continua durante todo el ciclo celular y se replica independientemente de la división celular.

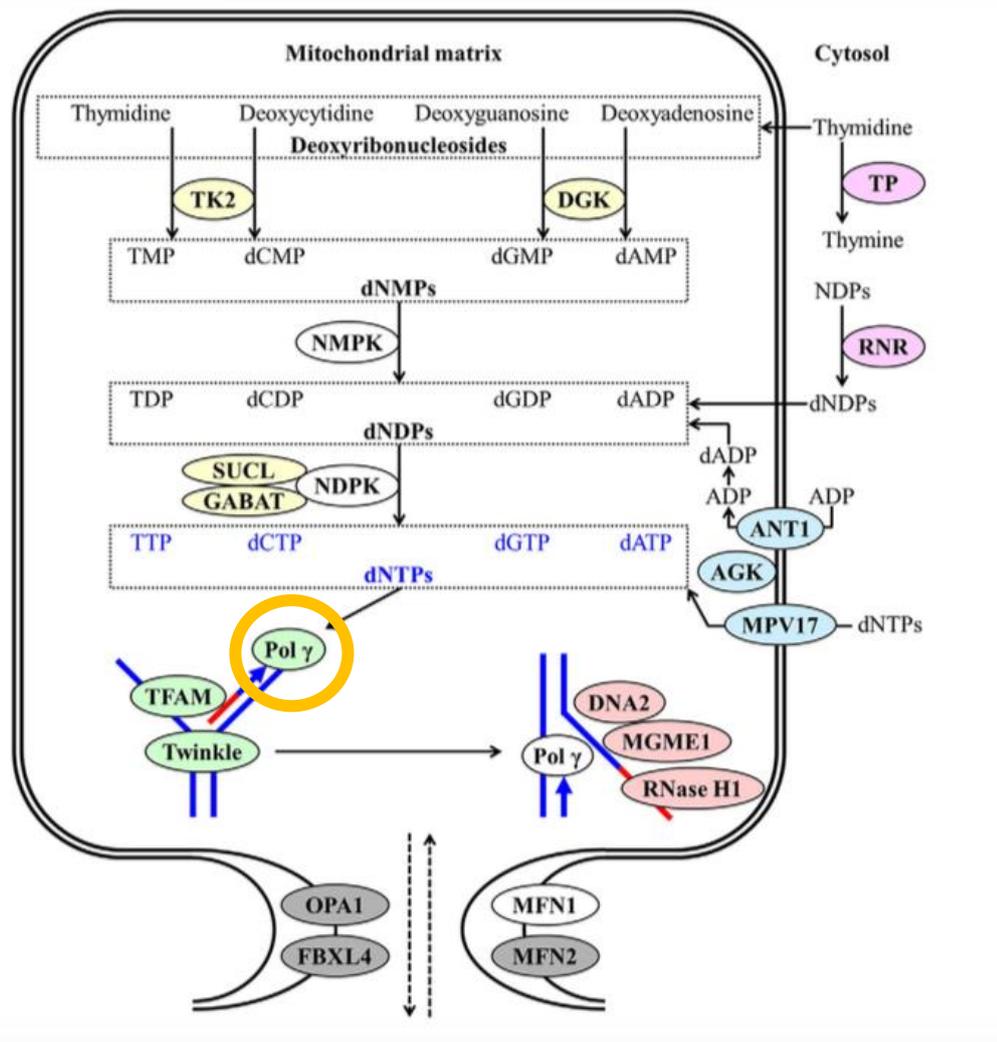


Figura 10: Diagrama que muestra los elementos implicados en el mantenimiento del mtADN (24).

5.4.2 CLÍNICA

El mtADN defectuoso ocasiona una amplia variedad de problemas en la célula resultado de fallos en las funciones comentadas en el apartado 5.1 ASPECTOS GENERALES DE LA MITOCONDRIA (como un defecto en la homeostasis del calcio, un exceso de especies reactivas de oxígeno, una disregulación de la apoptosis, entre otros).

Pero, principalmente, ocasiona una disfunción orgánica debido a que las mitocondrias no son capaces de generar la energía suficiente para los órganos, especialmente aquellos con altas demandas de energía, como el sistema nervioso, muscular, cardiaco, hígado, riñón y sistema endocrino (32).

Esta deficiencia de energía en los órganos mencionados se manifiesta con un amplio espectro fenotípico que va desde la oftalmoplejía leve de inicio en adultos hasta la insuficiencia hepática mortal infantil grave, encontrándose dentro de este abanico patologías como encefalopatía, miopatía, dismotilidad gastrointestinal, oftalmoplejía, ataxia, epilepsia. Es decir, la clínica puede variar desde cuadros leves hasta cuadros de fracaso multiorgánico por déficit energético (Tabla 2) (32).

Según la edad de inicio se observan manifestaciones edad dependientes (hígado en la infancia, músculo esquelético en el adulto, neuropatía a cualquier edad) (2)(32)(33).

Tabla 2: Tabla que relaciona genes nucleares con su acción en la mitocondria y los cuadros clínicos que producen (26).

MANIFESTACIÓN	GEN	FISIOPATOLOGÍA
MIOPATICAS	TK2 SLC25A4	Síntesis nucleótidos
ENCEFALOMIOPATICAS	SUCLA2 SUCLG1 RRM2B	Síntesis nucleótidos Síntesis nucleótidos Síntesis nucleótidos
HEPATOCEREBRAL	DGUOK MPV17 POLG C10orf2	Síntesis nucleótidos Síntesis nucleótidos Replicación mtADN Replicación mtADN
NEUROGASTROINTESTINAL	TYMP	Síntesis nucleótidos

5.4.3 ENFERMEDADES RELACIONADAS CON EL GEN POLG

POLG codifica la subunidad catalítica de la ADN polimerasa y la enzima responsable de replicar el ADN mitocondrial (ver Figura 10). Las mutaciones de POLG pueden producir depleción del mtADN y/o la acumulación de múltiples deleciones de mtADN y son la causa más frecuente de enfermedad mitocondrial asociada a un gen nuclear (10% de los casos de enfermedad mitocondrial en adultos); la causa más frecuente de epilepsia mitocondrial en todas las edades, y también representan el 10-25% de oftalmoplejía externa progresiva (PEO) y más del 10% de los casos de ataxia (34).

Lo más común es una afectación muscular generalizada acompañada por la alteración de otros sistemas, que se van haciendo más evidentes con el paso del tiempo (34).

Hasta cierto punto, los fenotipos clínicos se correlacionan con el fenotipo de mtADN (depleción o deleciones) (35).

Diversas asociaciones de neuropatía sensorial, debilidad muscular que afecta los músculos oculares, faríngeos, cinturas y/o de las extremidades, trastornos del movimiento, síndrome cerebeloso, síntomas psiquiátricos y/o hipoacusia son muy sugestivas de enfermedades relacionadas con POLG.

La probabilidad de una enfermedad relacionada con POLG es baja en presencia de signos aislados (36)(37)(38).

Una estrategia de aproximación diagnóstica ante la sospecha de patología relacionada con el gen POLG puede verse en Figura 11.

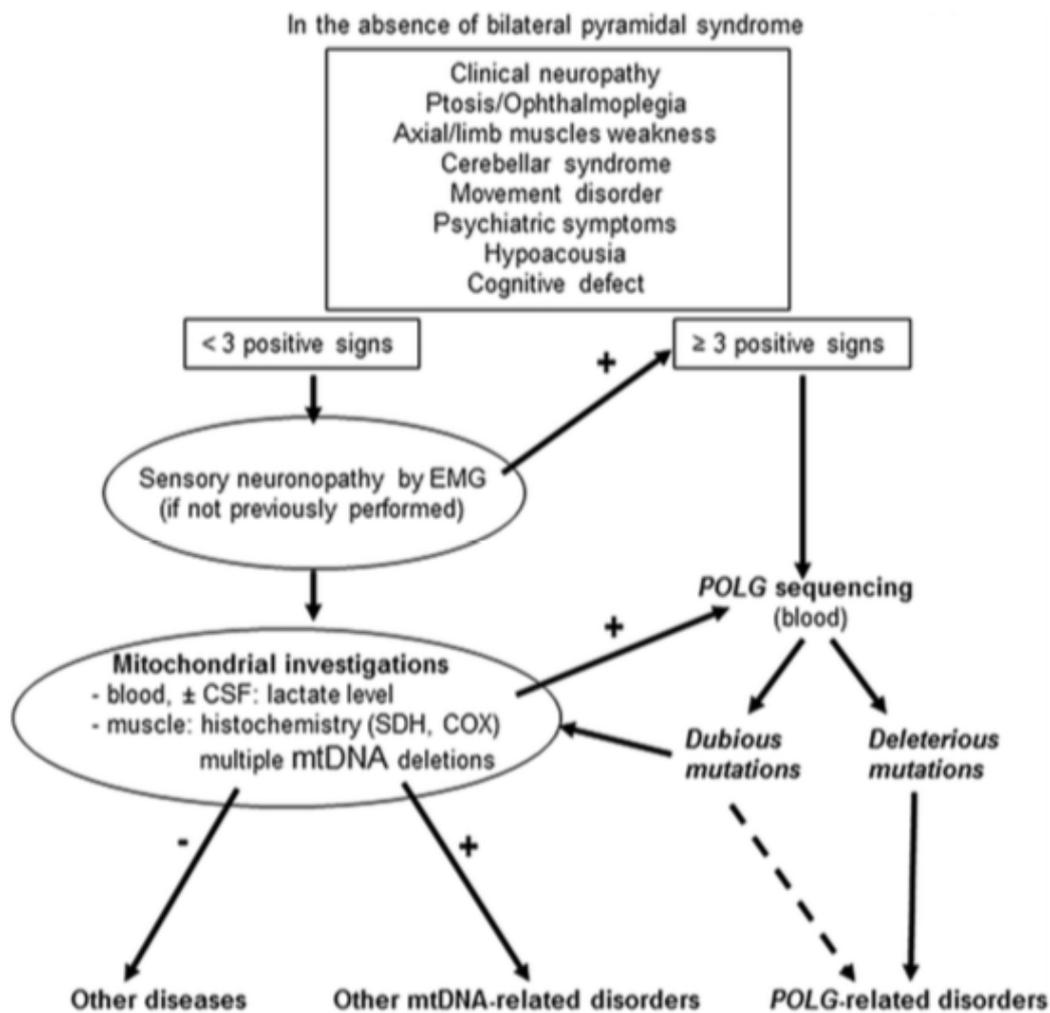


Figura 11: Algoritmo de aproximación diagnóstica ante la sospecha de patología relacionada con el gen POLG en adultos (38).

6 MATERIAL Y MÉTODOS

Para el caso clínico se ha revisado de forma retrospectiva la historia clínica de una paciente estudiada en el año 2006 en la unidad de neuropediatría del Hospital Infantil Miguel Servet de Zaragoza y todos los datos recogidos en la base de datos Acces de la unidad. La información ha sido proporcionada por dicho servicio, con fines de investigación, tras anonimizar los datos identificativos de la paciente, de acuerdo con los protocolos de autoevaluación ética del CEICA.

Para llevar a cabo esta investigación se necesitaban 2 tipos de fuentes de información. Una base fisiológica que aporte una visión general del tema para comprender la fisiopatología de la que se habla en este trabajo y otra más profunda y especializada para profundizar en el tema y encontrar información actual, novedosa y útil.

Para la primera se han empleado manuales y libros (de Biología molecular, Fisiología y Bioquímica), principalmente obtenidos de la biblioteca de la Universidad de Medicina de Zaragoza. Para la segunda tarea han utilizado obras especializadas, artículos de revista y tesis encontradas en diferentes bases de datos. Se ha realizado una revisión a 10 años sobre las enfermedades del mantenimiento del mtADN y las enfermedades mitocondriales en general. Para la realización del marco teórico se han empleado tratados de las áreas de conocimiento mencionadas (biología molecular, fisiología y bioquímica) y algunos artículos de revistas que exceden dicho periodo temporal.

Para la realización de este trabajo se han empleado diferentes bases de datos, entre las que se incluyen Alcorze, Dialnet, Pubmed, Cochrane, así como la biblioteca física de la Facultad de Medicina de la Universidad de Zaragoza.

Para encontrar la información más actualizada en cuanto a tratamientos se ha empleado la base de datos de <https://clinicaltrials.gov/>

Previo a la búsqueda se ha definido con claridad el tema a estudio para realizar una búsqueda bien delimitada. Al realizar la búsqueda se ha recurrido en primer lugar a un mapeo de los descriptores interesantes para este trabajo, para posteriormente acotar la búsqueda como puede verse en Tabla 3 y se ha empleado DECS para obtener los descriptores de ciencias de salud en inglés que permiten una búsqueda más precisa.

También se ha recurrido a crear un registro My NCBI para estar actualizado en el tema de este trabajo.

Tabla 3: Búsqueda en Pubmed

Filtros	Búsqueda	Resultados
10 years	(mtDNA) AND (maintenance defects)	252
10 years, Review, Systematic review, meta-Analysis	(mtDNA) AND (maintenance defects) AND (mitochondrial disease*)	62
5 years, Review, Systematic review, meta-Analysis	(mtDNA) AND (maintenance defects) AND (mitochondrial disease*)	32
10 years, Review, Systematic review, meta-Analysis	(mitochondrial disease*) AND (nDNA)	54
5 years, Review, Systematic review, meta-Analysis	(mitochondrial disease*) AND (nDNA)	28
10 years, Review, Systematic review, meta-Analysis	POLG AND mitochondria* AND disease*	53
5 years, Review, Systematic review, meta-Analysis	POLG AND mitochondria* AND disease*	23
10 years, Review, Systematic review, meta-Analysis	(mitochondrial disease* AND nuclear DNA) AND prenatal diagnosis	10
5 years, Review, Systematic review, meta-Analysis	(mitochondrial disease* AND nuclear DNA) AND prenatal diagnosis	4
10 years, Review, Systematic review, meta-Analysis, clinical trial	(mitochondrial disease* AND maintenance defects) AND treatment	30
10 years, Review, Systematic review, meta-Analysis	"Mitochondrial Diseases/diagnosis"[MAJR] and biomarker*	18
5 years, Review, Systematic review, meta-Analysis	"Mitochondrial Diseases/diagnosis"[MAJR] and biomarker*	10

A la hora de entender las revisiones y analizarlas se ha empleado la escala de valoración Caspe obtenida del programa de habilidades de lectura crítica en español (<http://www.redcaspe.org/herramientas/instrumentos>).

Se ha empleado el gestor bibliográfico Mendeley para el manejo de las referencias bibliográficas.

7 CASO CLÍNICO

Se presenta el caso clínico de una paciente nacida en enero 2006 que presenta una mutación en el gen POLG.

El primer día de vida presenta vómitos tras las tomas y presenta oliguria por lo que ingresa en la unidad de neonatos.

Antecedentes familiares y personales: Segunda hija de padres sanos, no consanguíneos. No hay antecedentes familiares de interés. No hay antecedentes de abortos previos.

Embarazo controlado en Alto Riesgo por preeclampsia materna en embarazo previo. Ecografías y controles durante el embarazo normales. Parto vaginal eutócico en la semana 38 – 2 de gestación. Peso al nacimiento 2280 gramos. Apgar 9/10.

Exploración física al nacimiento: microsómica, normocéfala, fontanela anterior normotensa 2x2. Hipotonía cervico-axial. Fenotipo anodino. Reflejos del recién nacido normales. Sin malformaciones externas aparentes. Auscultación cardiopulmonar y abdominal normales.

Cribado neonatal (hipotiroidismo, fenilcetonuria e hiperplasia suprarrenal) normal.

Evolución durante el ingreso. La recién nacida es ingresada por vómitos recurrentes, diuresis escasa con sequedad mucocutánea y fontanela deprimida. Al iniciar la tolerancia oral tras la rehidratación endovenosa, presenta nuevos vómitos, por lo que se realiza una radiografía y ecografía de abdomen. Ante sospecha de una malrotación intestinal en dichas pruebas de imagen se realiza una intervención quirúrgica que la descarta.

Se realizan otras exploraciones complementarias: Hemograma normal, Proteína C reactiva (PCR)= 5,51 mg/dl, que desciende en los controles (valor normal (VN) < 0,5 mg/dl). La gasometría capilar muestra un pH de 7,59 (probablemente debido a la deshidratación y vómitos), un ácido láctico de 7,2 (mmol/l), el resto es normal. Tripsina inmunorreactiva= 78,8 ng/ml. Hemocultivo negativo.

Presenta mejoría clínica por lo que es dada de alta.

A los 2 meses y medio es controlada en neuropediatría, por hipotonía cérvico-axial, reflejo cócleo-palpebral negativo, fenotipo peculiar y hepatomegalia.

A los 3 meses y medio de edad ingresa de nuevo por rechazo de las tomas e irritabilidad. Durante el ingreso se realizan las siguientes pruebas:

- Analítica básica de orina que se observa sin alteraciones
- Gasometría venosa: pH 7,23 (VN: 7,35-7,45), HCO₃ 16 mmol/l (VN: 23-27 mmol/l), pO₂ normal, CO₂ 17,2 mmHg disminuido (VN: 36-45 mm Hg). Los datos indican claramente una acidosis metabólica con compensación respiratoria.
- Bioquímica: Glucemia 34 mg/dl disminuida (VN: 60-100 mg/dl), Creatina fosfo cinasa (CPK) 249 U/L aumentada (VN: 0 – 171 U/l), ion amonio 209 mcmol/l muy aumentado (VN: 11 a 32 mcmol/l), lactato 104,7 mg/dl muy aumentado (4,5 a 19,8 mg/dl).

En el análisis bioquímico se observan unos niveles de muy elevados de CPK, de lactato (seriados en y ascenso), con hepatomegalia y una hiperamonemia (signo de un aumento de la destrucción proteica o de insuficiencia hepática), además de afectación neurológica. El conjunto de estos síntomas y signos hacen pensar en una **metabolopatía**.

El segundo día del ingreso, persisten en la analítica los signos de hepatopatía demostrada por estos valores:

- Albúmina 2,5 g/l, disminuida (VN: 3,5-4,7g/l). CPK 343 U/l, GOT 263 mU/ml, ambas muy aumentadas (VN: 5-32 mU/ml). GPT 209 mU/ml, también muy aumentada (VN: 7-33 mU/ml). Valor de ácido láctico similar al del día anterior y una carnitina libre de 9,5 mmol/ml muy disminuida (VN: 36,5 – 96 nmol/ml).

Ante la sospecha de enfermedad mitocondrial, se decide comenzar tratamiento con Carnitina (que estimula la captación de ácidos grasos por parte de la mitocondria para estimular β -oxidación(7)) y dicloroacetato, que estimula la piruvato deshidrogenasa, disminuyendo así los niveles de lactato (39).

Durante el ingreso, se completa el estudio para realizar un diagnóstico etiológico con las siguientes pruebas:

- B-hidroxiacetato (BHB): 13,58 mg/dl aumentado.
- Ácidos grasos libres (AGL): 2,08 mmol/l aumentados.
- Cociente entre ácidos grasos y cuerpos cetónicos (AGL/KB): 4,3 (VN entre 1-10)
- Cortisol basal 53,2 mcg/dl aumentado, Insulina 2 mcUI/ml disminuida. La alteración de ambos parámetros es secundaria a la hipoglucemia.
- Aminoácidos: Alanina elevada (sugestivo de enfermedad mitocondrial), Glutamina elevada, Glicina elevada, Valina elevada, Leucina elevada, Tirosina elevada (sugestivo de afectación hepática).
- Hormona de crecimiento (GH): 40 ng/ml (elevada, secundario a la hipoglucemia).
- Interconsulta con cardiología, que tras realizar las debidas exploraciones reporta un diagnóstico de insuficiencia tricúspidea leve junto con derrame pericárdico (2mm). Este hallazgo se debe al fallo hepático con hipoalbuminemia e hipoproteinemia, hechos que pueden producir derrames.
- Radiografía de tórax: normal.
- Interconsulta con el servicio de oftalmología, que tras realizar las correspondientes exploraciones concuerdan que la paciente no presenta alteraciones.

Valoración por neuropediatría durante el ingreso: Destaca un fenotipo peculiar con macrocefalia relativa. Tórax pequeño, abdomen globuloso. Irritabilidad. No contacto visual. Reflejo Copleopalebral negativo. Hipotonía generalizada, sobre todo cervico-axial y de cintura escapular. No presenta movilidad espontánea de extremidades superiores. Reflejos osteotendinosos ausentes. Tortícolis derecha. Hepatomegalia de dos traveses de dedo. Resto normal. Amplía su estudio con las siguientes pruebas complementarias:

- Electroencefalograma: actividad de fondo lentificada y con pobre organización topográfica. No hay signos focales valorables ni descargas agudas.
- Potenciales evocados auditivos de tronco cerebral 70 y 60 dB: no hay respuestas reproducibles.
- Electroneurografía: sin anomalías.
- Electromiograma: no presenta actividad espontánea patológica. No se observan anomalías en potenciales de unidad motora.

Durante el ingreso su estado general empeora progresivamente persistiendo los signos y síntomas de la hepatopatía. Los parámetros bioquímicos también varían: el ácido láctico se normaliza para posteriormente elevarse hasta 32 y volver a disminuir, la PCR y la velocidad de eritrosedimentación (VSG) se elevan ligeramente, la glucemia fluctúa entre 40 y 100 mg/dl, el ion amonio fluctúa alrededor de 140 mcg/dl, pero se mantiene elevado. Se determina una disminución de albúmina y proteínas totales, un incremento de IgG (374 mg/dl) y una IgA disminuida (30,5 mg/dl). Presenta diarrea y fiebre, por lo que se le administra un tratamiento antibiótico sin éxito.

La paciente presenta empeoramiento del estado general, con edemas generalizados, mala perfusión, palidez cutánea, distensión abdominal e hipoactividad. Ante la sospecha de enfermedad mitocondrial y la gravedad de su estado clínico, se realiza biopsia de piel, de músculo esquelético y de hígado para intentar llegar a un diagnóstico etiológico.

Se toman medidas de confort y a los pocos días la paciente, con 4 meses de edad, fallece.

En la Figura 12 podemos ver un resumen del caso y la evolución.

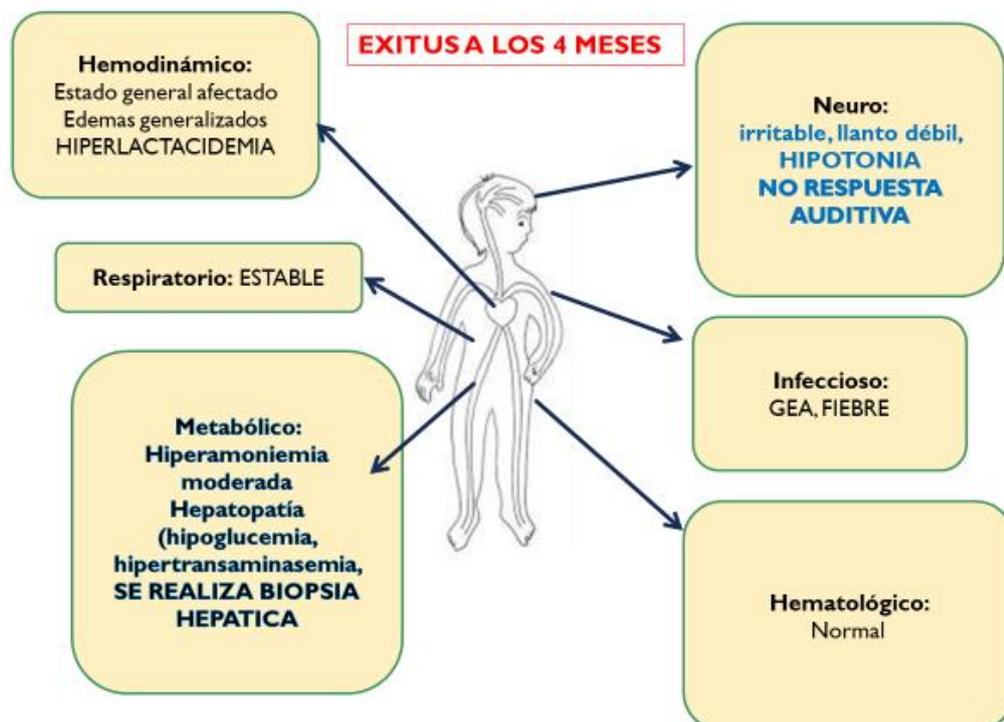


Figura 12: Resumen del caso clínico

Tras su éxitus, llegan resultados de laboratorio y de las biopsias:

- Acilcarnitinas: se observan elevadas las de acilcarnitinas hidroxiladas, lo que sugiere una deficiencia de hidroxiacil-CoA deshidrogenasa de cadena larga (LCHAD) (40)(41). La medición de la función de la β oxidación, indica, que no funciona adecuadamente.
- Biopsia hepática: se observa esteatosis microgotular severa y colestasis que indican una hepatopatía de significado inespecífico.
- Biopsia muscular: demuestra enfermedad por depósito de lípidos y recomienda realizar un estudio enzimático que resulta inespecífico.
- Ácidos orgánicos en orina: elevación de los ácidos p-hidroxi-fenil-láctico y p-hidroxi-fenil-pirúvico. Dada la acidosis láctica y la afectación hepática que presenta la paciente, se sugiere estudiar ADN mitocondrial, comprobando el porcentaje de depleción de mtADN. Ambos ácidos se encuentran elevadas en tirosinemias o en afectación hepática (42).
- Estudio de sialotransferrinas séricas por isoelectroenfoque: se observa un patrón similar al de los individuos control.
- Ácidos grasos de cadena muy larga: Resultado normal. Patológico en trastornos generalizado de la biogénesis del peroxisoma(43).

Análisis genético del ADN mitocondrial. Se encuentra depleción del ADN mitocondrial de un 86% en el tejido muscular. Se considera que una depleción superior al 60% produce sintomatología clínica y es por lo tanto diagnóstica para un síndrome por depleción mitocondrial (44).

Como primera posibilidad diagnóstica post-mortem se inicia un estudio molecular del gen DGUOK que codifica la deoxiguanosina quinasa mitocondrial (dGK), que cataliza la fosforilación de los desoxirribonucleótidos en nucleótidos. Pero no se encuentran mutaciones. Este estudio se realiza mediante PCR, secuenciación completa del gen que codifica para la dGK.

Estudio del metabolismo energético en fibroblastos: disminución de las tasas de oxidación de piruvato y glutamato. Esto produce una alteración del metabolismo energético, en concordancia con la depleción del mtADN. Este marcador indica una disfunción de la cadena respiratoria.

Por las características de la patología se piensa que pueda tener una mutación en la ADN polimerasa γ (POLG), se estudia dicho gen con la técnica PCR 5 años más tarde y se encuentran 2 mutaciones en dicho gen (H1134R e Y831C).

8 RESULTADOS

8.1 DIAGNÓSTICO ACTUAL DE LAS ENFERMEDADES MITOCONDRIALES

El diagnóstico actual de las enfermedades mitocondriales se fundamenta en la sospecha clínica, sugerida por los datos de anamnesis y exploración física y apoyada inicialmente por los resultados de exploraciones complementarias generales y específicas de disfunción mitocondrial.

Se detallan a continuación las exploraciones complementarias recomendadas actualmente para la aproximación diagnóstica a las enfermedades mitocondriales.

8.1.1 ANÁLISIS BIOQUÍMICO EN PLASMA, LCR Y ORINA

8.1.1.1 LACTATO EN PLASMA, LCR Y ORINA

La hiperlactacidemia ocurre porque el elevado flujo a través de la glucólisis sobrecarga el uso de piruvato en la mitocondria (45). Esto además explica las hipoglucemias de la paciente por el exceso de uso de glucosa por la glucólisis.

Es necesario remarcar que hay que tener mucho cuidado con la recogida de la muestra para determinar el lactato ya que:

- En la extracción en sangre venosa, los torniquetes aplicados durante mucho tiempo aumentan los niveles de lactato al igual que el aumento del tono muscular y el estrés.
- Para que no se eleve el lactato de la muestra después de la extracción, hay que interrumpir el metabolismo desproteinizando la sangre recolectada o meterla en un recipiente con hielo y analizarla rápidamente.

Valores superiores a 3 mmol/l en una muestra debidamente recogida sugieren una disfunción primaria de la mitocondria, pero también puede ser secundaria a acidemias orgánicas, otros errores del metabolismo, toxinas, isquemia tisular, infección anaeróbica u otras enfermedades. El lactato postprandial es más sensible que en sujetos en ayunas. En pacientes con enfermedades primarias de la mitocondria, las elevaciones reales de lactato se consideran marcadores de enfermedad mitocondrial con una sensibilidad entre 34 y 62% y una especificidad entre 83 y 100% (36).

El piruvato también puede ser útil para orientar a enfermedades relacionadas con el metabolismo del ciclo de Krebs, al igual que las enzimas piruvato deshidrogenasa y piruvato descarboxilasa. Pero el piruvato no suele emplearse por su inestabilidad y porque la recogida de la muestra es complicada, siendo preferible cuantificar la alanina (46).

El cociente lactato/piruvato es útil para diferenciar enfermedades de la cadena de transporte de electrones de enfermedades del metabolismo de piruvato, pero sólo cuando el lactato está elevado. La sensibilidad de cociente es del 31% con una especificidad del 100%. Sin embargo, no se utiliza mucho debido a la inestabilidad del piruvato (36).

El lactato elevado en LCR puede ser útil para el diagnóstico en pacientes con síntomas neurológicos asociados. Además, en este fluido los artefactos de recolección no suelen ser un problema. El único problema es que ciertas enfermedades cerebrales pueden alterarlo, particularmente el estado epiléptico (47). El lactato en orina no es un buen marcador de enfermedades mitocondriales ya que no se correlaciona bien con estas enfermedades (36).

8.1.1.2 AMINOÁCIDOS EN LCR, PLASMA Y ORINA

La cuantificación de aminoácidos en sangre o LCR puede ser útil para orientar un diagnóstico hacia una enfermedad mitocondrial. Especialmente la alanina, glicina, prolina y treonina. Sus alteraciones más importantes suelen ocurrir en momentos de empeoramiento clínico (48). En la paciente se puede observar un aumento de la alanina, la glutamina, la glicina, la valina, la leucina y la tirosina, apoyando el diagnóstico de enfermedad mitocondrial y hepatopatía.

Los aminoácidos en orina se utilizan con más frecuencia si una tubulopatía forma parte del cuadro clínico (36).

8.1.1.3 ACILCARNITINAS EN PLASMA

La cuantificación en sangre de niveles de carnitina total y libres, así como de perfil de acilcarnitinas, permite la identificación de defectos primarios o secundarios de la oxidación de ácidos grasos (37).

El estudio de los ácidos grasos de cadena muy larga que se realizó a la paciente (con resultado normal), descarta un trastorno generalizado de la biogénesis del peroxisoma (Zellweger, Adrenoleucodistrofia neonatal y Refsum infantil). Este estudio se realizó para descartar enfermedades metabólicas que pueden derivar en afectación hepática (43)

En la paciente el estudio del BHB ofreció un resultado aumentado. El BHB es un cuerpo cetónico, que, como se ha enunciado previamente, puede usarse para evaluar de forma indirecta cómo funciona la β -oxidación de los ácidos grasos.

Los ácidos grasos libres, también aumentados en la paciente, se deben a la movilización de lípidos para obtener energía mediante la β -oxidación, que también explica la elevación de cuerpos cetónicos.

8.1.1.4 ÁCIDOS ORGÁNICOS EN ORINA

Los ácidos orgánicos en orina a menudo sufren alteraciones en pacientes con enfermedades mitocondriales. Según un análisis retrospectivo, parecen correlacionarse mejor el malato (en orina se mide el ácido metilmalónico) y el fumarato (36)(37)(49).

En caso de sospecha también debería obtenerse niveles de ácido 3-metilglutacónico (3MG), en pacientes con enfermedades mitocondriales se han visto aumentos de leves a moderados (50).

En la paciente vemos una elevación de los ácidos p-hidroxi-fenil-láctico y p-hidroxi-fenil-pirúvico. Ambos ácidos son metabolitos de la tirosina y se encuentran elevadas en tirosinemias o en afectación hepática (42). En este caso el incremento en orina se explica por la afectación hepática.

8.1.1.5 AFECTACIÓN HEPÁTICA

Muchas enfermedades mitocondriales provocan alteraciones hepáticas, la alteración de las transaminasas y la albúmina orientan hacia su diagnóstico (36). Para evaluar el grado de afectación hepática en estas enfermedades se deben realizar pruebas de función hepática como: cuantificación de albúmina, transaminasas, bilirrubina, amoniaco y glucosa en ayunas y perfil de coagulación (30).

En el caso comentado en este trabajo se puede observar una alteración de los niveles de los parámetros nombrados.

8.1.1.6 FOLATO CEREBRAL

El 5-metil tetrahydrofolato en LCR se puede usar para diagnosticar deficiencias de folato cerebrales, esto se encontró inicialmente en pacientes con enfermedades mitocondriales con el síndrome de Kearns-Sayre (KSS) (oftalmoplejía externa progresiva (OEP), retinitis pigmentaria e inicio antes de los 20 años de edad. Presenta rasgos comunes adicionales: sordera, ataxia cerebelar y bloqueo cardiaco). Además, la deficiencia de folato cerebral se ha encontrado en pacientes con delección del mtADN, enfermedad de POLG, y deficiencia del complejo I. También existe un déficit primario de folato cerebral debido a mutaciones en un receptor de folato (51).

8.1.1.7 OTROS

Una tesis defiende que puede utilizarse como biomarcador de enfermedades que provocan un defecto de la OXPHOS una proteína denominada gelselina. Esto se debe a que esta proteína disminuye notablemente en respuesta a una disfunción de la actividad mitocondrial (52). Actualmente no es un estudio que se realice de manera estándar, pero podría ser útil de acuerdo con dicha tesis.

El nivel en suero del factor de crecimiento de fibroblastos-21 (FGF21) y el factor de crecimiento/diferenciación 15 (GDF15) parecen ser nuevos y prometedores biomarcadores en el diagnóstico de enfermedad mitocondrial (se elevan ante disfunciones de la cadena respiratoria mitocondrial) pero aún no han sido validados ni estandarizados. Se elevan también en patología como la diabetes mellitus, obesidad y otras, aun así parece prometedora como marcador de enfermedad mitocondrial (24).

8.1.1.8 RECOMENDACIONES CONSENSUADAS DE ESTUDIO BIOQUÍMICO EN SANGRE, ORINA Y LCR

La evaluación inicial debería incluir hemograma, CPK, transaminasas, albúmina, lactato y piruvato, aminoácidos y acilcarnitinas (Figura 13). También debería hacerse análisis cuantitativo y cualitativo de ácidos orgánicos urinarios (8). Si se toma una muestra de LCR por cualquier motivo, se debería analizar también el lactato, piruvato, aminoácidos y 5 metil tetrahydrofolato (36).

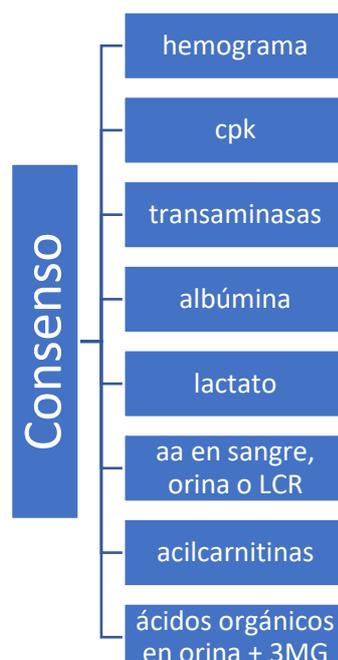


Figura 13: Resumen de las recomendaciones consensuadas de estudio bioquímico en sangre, plasma y LCR.

8.1.2 ESTUDIO DEL ADN

Como se ve en 5.3.1 REGULACIÓN DE LA FUNCION MITOCONDRIAL Y PATRÓN DE HERENCIA, las enfermedades mitocondriales primarias pueden estar causadas por defectos en el mtADN o nADN (36).

Desde hace unos años está disponible el NGS, que se ha convertido en el patrón de referencia para el estudio de las enfermedades mitocondriales producidas por mutaciones en el nADN. Permite también el estudio del mtADN utilizando técnicas adecuadas. Para el estudio del nADN se puede utilizar la sangre como muestra. Para el estudio del mtADN, en ocasiones se puede utilizar la sangre como muestra pero, si no se encuentran mutaciones o deleciones, no descarta el diagnóstico, ya que estas mutaciones pueden encontrarse únicamente en el tejido más afectado (53).

La secuenciación del exoma completo, empezó a estar disponible en la clínica en 2011 (53).

8.1.2.1 Estudio depleción y/o deleción del mtADN

El estudio de depleción del mtADN se puede realizar en sangre (sólo en el síndrome de Pearson, ya que las mitocondrias patológicas pueden encontrarse en los leucocitos en este síndrome), orina o tejido más afectado, dependiendo de los síntomas y muestras disponibles (siempre será mejor realizarlo en biopsia del tejido más afectado) (36).

Para el estudio de deleciones en mtADN se han utilizado técnicas de PCR largo en el tejido más afectado (54).

Si procede, los tejidos preferidos para realizar estudios de depleción y/o deleción del mtADN son el músculo esquelético y el hígado, por su alto contenido en mtADN, su dependencia de la respiración mitocondrial y porque puede haber mutaciones en el mtADN que no se detecten en sangre (36).

En orina se puede analizar el genoma del mtADN, ya que las células epiteliales renales tienen un alto contenido en mtADN. Especialmente útil en el síndrome de MELAS (encefalomiopatía mitocondrial, acidosis láctica y episodios tipo ictus) y su mutación más común m.3243 A>G en MTTL1 (55). No obstante, es necesario tener una cantidad suficiente de células para obtener una cantidad adecuada de mtADN, y esto no siempre es posible.

8.1.2.2 Estudio del ADN nuclear

Probablemente la mayor revolución en el diagnóstico de las enfermedades mitocondriales en la actualidad se ha dado en el campo de la genética con la aparición de la técnica NGS. Antes de que apareciera, el estudio de los genes que podían causar enfermedades mitocondriales era mucho más laborioso y difícil. Se debían buscar mutaciones de manera dirigida, lo que era muy difícil debido a la heterogeneidad de las enfermedades mitocondriales (54). Además, NGS ha permitido el diagnóstico de nuevos genes del nADN implicados en la patología mitocondrial.

En caso de sospecha de patología mitocondrial causada por mutaciones en el nADN se debe de realizar exoma completo mediante NGS, ya que como ya se ha comentado, el NGS está disponible para estudiar el nADN y el mtADN (54).

8.1.3 PRUEBAS DE ANATOMÍA PATOLÓGICA Y E HISTOQUIMICAS

Típicamente, se suele enviar una muestra de tejido afectado para estudio histológico, bioquímico y genético. Con los métodos de estudio molecular actuales, hay menor necesidad de realizar pruebas bioquímicas sobre este. Aunque pueden aportar información útil para investigaciones o en caso de dudas diagnósticas (36)(47).

Las pruebas sobre tejidos ayudan a validar la patogenicidad de las variantes de importancia desconocida encontradas en las pruebas moleculares (8)(36). En pacientes con miopatía, la biopsia muscular puede excluir otras enfermedades neuromusculares (36).

La histología muscular incluye habitualmente tinción con hematoxilina y eosina (H&E) y tricrómico de Gomori modificado para ver la morfología básica del músculo y detectar cualquier anomalía a este nivel, como pueden ser núcleos centrales o inclusiones anormales, que indicarían una denervación muscular. La tinción tricrómico de Gomori modificada permite ver especialmente tejido conectivo, tejido muscular y mitocondrias. Permite la visualización de fibras rojo rasgado y proliferación anormal de mitocondrias. Esto desvela una respuesta compensatoria a defectos bioquímicos de la cadena respiratoria (56).

Para observar la función de la cadena respiratoria mitocondrial se pueden emplear tinciones COX (remarca la citocromo *c* oxidasa) y SDH (remarca la succinatodeshidrogenasa). Ambas enzimas forman parte de la cadena transportadora de electrones y se puede observar su actividad con estas tinciones, especialmente al combinarlas (56).

Con la tinción NADH-tetrazolio reductasa (NADH-TR) se puede evaluar otro de los complejos de la cadena respiratoria (36)(53).

Los pacientes pediátricos es menos probable que tengan anomalías histopatológicas (36).

8.1.3.1 Recomendaciones consensuadas

Las biopsias musculares (y/o hepáticas) deben realizarse en el análisis de rutina de la enfermedad mitocondrial cuando el diagnóstico no puede confirmarse con una prueba de ADN (36).

Se debería realizar una biopsia del vasto lateral si se requiere tejido muscular en la evaluación de la enfermedad mitocondrial. Esto es debido a que este sitio ha sido utilizado por la mayoría de los laboratorios a la hora de realizar sus estudios y estandarizar resultados (56)(36).

Las tinciones de COX, SDH, NADH-TR y la tinción combinada de SDH / COX junto con microscopía electrónica pueden usarse en el proceso diagnóstico de una enfermedad mitocondrial buscando disfunciones de la cadena respiratoria como se ha mencionado. La microscopía electrónica se recomienda en pacientes pediátricos que son sometidos a una biopsia de tejido porque los hallazgos histológicos a menudo son limitados (36)(56).

La hepatopatía mitocondrial puede tener hallazgos característicos en la histología de la biopsia hepática tales como esteatosis, colestasis, arquitectura alterada y amontonamiento citoplasmático debido a mitocondrias atípicas con crestas inflamadas (36).

Cuando sea posible, se debería congelar tejido extra para permitir pruebas adicionales (36).

Todas las guías anteriores al desarrollo de técnicas genéticas incluían técnicas bioquímicas para el diagnóstico de enfermedades mitocondriales, pero actualmente están en segundo plano (36).

8.1.4 NEUROIMAGEN

A veces se encuentran alteraciones en la neuroimagen que pueden apoyar el diagnóstico, pero que no son exclusivas de enfermedades mitocondriales. Estas pueden ser lesiones isquémicas sin distribución vascular, sustancia blanca con patología difusa o involución bilateral de la materia gris en los ganglios basales (36).

La resonancia magnética puede aportar una estimación semicuantitativa de metabolitos en el cerebro, incluyendo lactato, creatina y N-acetil aspartato (8).

La neuroimagen exclusivamente no puede ser un criterio para confirmar ninguna enfermedad mitocondrial debido a su baja sensibilidad y especificidad. Puede ser útil en el seguimiento y progresión de la enfermedad (36).

8.1.5 DIAGNÓSTICO PRENATAL Y OPCIONES REPRODUCTIVAS

El diagnóstico prenatal está disponible actualmente para parejas con riesgo de transmitir alguna enfermedad mitocondrial de origen nuclear a su descendencia. Esto es, con algún hijo afecto que haya puesto en evidencia la existencia de dichos genes en la pareja, o algún estudio genético realizado por cualquier motivo que haya expuesto dichos genes (57).

El diagnóstico prenatal se realiza comúnmente mediante biopsia de vellosidades coriales o amniocentesis. Una vez realizado, calcular el riesgo de enfermedades mitocondriales con mutaciones en el nADN es sencillo y con resultados fiables.

En el caso de mutaciones en el mtADN no es posible realizar diagnóstico prenatal debido a la heteroplasmia explicada en el apartado 5.3.2 CARACTERÍSTICAS DIFERENCIALES DEL ADN MITOCONDRIAL. Las mutaciones en el mtADN son más difíciles de descubrir e interpretar (54), puesto que aunque en las vellosidades coriales no aparezcan mutaciones pueden estar presentes en cualquier otro tejido del feto y en proporciones variables.

La terapia de reemplazo mitocondrial se ha realizado con éxito en Gran Bretaña. Consiste en introducir el núcleo de un ovocito en un ovocito donante enucleado. Esta terapia puede ser útil en la prevención de transmisión de enfermedades mitocondriales con base en el mtADN (58).

The U.K. Human Fertilisation and Embryology Authority (HFEA) aprobó en 2016 la utilización de técnicas de donación o reemplazo mitocondrial para casos en los que se pudiera producir la muerte del feto o pudiera causar patologías graves debido a una herencia mitocondrial defectuosa. El primer país en permitir estas técnicas fue Reino Unido. Sin embargo, el primer bebé nacido que aprovechó estas técnicas nació en México ese mismo año. El procedimiento se realizó en Nueva York.

En España, las leyes sobre reproducción asistida no se prohíben específicamente estas técnicas, pero establece cuáles son las técnicas autorizadas y qué permisos se requieren para técnicas no concretadas (59).

Otra de las posibles terapias es el diagnóstico preimplantación. Esta técnica se realiza mediante fecundación *in vitro* y estudio del nADN y mtADN del embrión en fases tempranas. Hasta ahora ha mostrado buenos resultados en seleccionar embriones con bajo riesgo de portar enfermedades genéticas. Esto se debe a que, en los estadios precoces del desarrollo embrionario, que es cuando se toman las biopsias de estos embriones *in vitro*, el mtADN se distribuye de manera uniforme por todo el blastómero. Aunque se han visto excepciones, en general esta uniformidad en la expansión del mtADN en las fases iniciales del embrión se mantiene constante (60).

Actualmente también hay en desarrollo una terapia génica para eliminar defectos en el mtADN mediante nucleasas que pueden actuar sobre el ovocito, eliminando determinadas líneas mutadas de mtADN. El problema de esta técnica radica en los ovocitos con una gran cantidad de heteroplasmia, en los que se ha visto que, tras emplear las nucleasas, la depleción de mtADN puede resultar tan grande que el ovocito deja de ser viable (54).

En casos similares al presentado en este trabajo, podría realizarse hoy en día el diagnóstico prenatal en caso de que esta familia quisiera tener más descendencia.

8.1.6 PRONÓSTICO Y TRATAMIENTO

Al hablar de tratamiento se habla de tratamiento para todas las enfermedades mitocondriales, porque la fisiopatología que subyace es la misma, el deterioro de la OXPHOS, y es sobre ello sobre lo que se intenta actuar. Aparte, hay algunas entidades con un tratamiento más específico que se nombran en particular. Por ello es crucial lograr un diagnóstico preciso y precoz (57)(61).

Los defectos de mantenimiento del mtADN son trastornos graves con mal pronóstico en la mayoría de las personas afectadas.

No existe una terapia curativa para ninguno de estos trastornos. A pesar de los avances en diagnóstico y comprensión molecular de la fisiopatología, el tratamiento está un paso por detrás y es principalmente sintomático (2). Por ejemplo: implantes cocleares para la pérdida auditiva, terapia física para la hipotonía, marcapasos para arritmias cardíacas, enzimas pancreáticas para las disfunciones del páncreas exocrino, tratamiento de la diabetes con dieta, sulfonilurea e insulina.

8.1.6.1 TERAPIA FARMACOLÓGICA ESPECÍFICA

Fármacos que modifican la función de la cadena respiratoria: algunos tratamientos están enfocados en mejorar la función de la fosforilación oxidativa y por lo tanto a mejorar la transferencia de electrones (coenzima Q10, idebenona y riboflavina) o a incrementar el sustrato de la cadena transportadora de electrones (tiamina) (2). La creatina puede ser útil en pacientes con miopatía, ya que se combina con el fosfato y se puede utilizar para obtener energía mediante la respiración anaerobia (33)(2).

EPI-743 es un compuesto (basado en la vitamina E) que protege de los ROS y restaura los niveles de glutatión intracelular. Un estudio de 2012 demostró una mejoría clínica en pacientes con diferentes enfermedades mitocondriales que estaban en riesgo de fallecer en los siguientes 90 días (62). Otro estudio del mismo año en niños con el síndrome de Leigh (enfermedad neurológica progresiva rara, definida por hallazgos neuropatológicos específicos asociados a lesiones del tronco cerebral y de los ganglios basales). demostró una estabilización clínica e incluso una regresión de la enfermedad (63). Otro del mismo año en 5 pacientes con neuropatía óptica de Leber (enfermedad mitocondrial neurodegenerativa que afecta al nervio óptico y que se caracteriza por pérdida súbita de la visión en los adultos jóvenes portadores) mostró una recuperación visual en 4 de ellos sin RAM (64). Actualmente hay 2 ensayos clínicos en proceso que emplean el EPI-743. Uno de ellos en fase 2 en pacientes con la enfermedad de Leigh, aún sin resultados publicados (65). Otro de ellos en niños de entre 2 y 11 años con diferentes enfermedades metabólicas en los que se quiere estudiar si son capaces de mejorar su producción energética. Aún sin resultados publicados. Actualmente está en fase 2 (66).

Fármacos que reducen el acúmulo de metabolitos tóxicos para las células, como la carnitina que mejora la captación de grasas por parte de la mitocondria para estimular la β -oxidación (7).

La carnitina, usada como tratamiento en 2006, sigue empleándose actualmente. Además de transportar ácidos grasos al interior de la mitocondria para realizar la β -oxidación, es un detoxificador clave de ésteres potencialmente tóxicos de la coenzima A (36).

Fármacos que actúan como antioxidantes: Los antioxidantes evitan el efecto tóxico de los ROS y evitan que bloqueen la cadena transportadora de electrones, como la vitamina C y el ácido lipoico. El ácido lipoico además de ser un factor esencial para la piruvato deshidrogenasa y para la cetoglutarato deshidrogenasa, es un antioxidante muy potente. El problema es que hasta el momento no hay una formulación adecuada para indicarlo, por lo que no se usa en la clínica. Un estudio mostró que una terapia con creatina monohidrato, CoQ10 y ácido lipoico es beneficiosa para pacientes con enfermedades mitocondriales, reduciendo el ácido láctico en sangre, así como los marcadores de estrés oxidativo medidos en orina y también reduce el deterioro en la fuerza muscular (67).

La glutamilsteína es un precursor del glutatión, que es un potente antioxidante intracelular. Este suplemento no mostró ninguna reducción del lactato, mejoría clínica ni de calidad de vida, pero redujo los marcadores de estrés oxidativo en individuos con enfermedades mitocondriales (45). La cardiolipina forma parte de la estructura de la membrana interna de la mitocondria. Este compuesto es muy sensible a la oxidación, y al haber un aumento de los ROS se puede dañar muy fácilmente, causando un deterioro de la función mitocondrial.

Actualmente hay un ensayo en fase 3 con elamipretida, que está mostrando resultados prometedores en mejorar la clínica de pacientes con enfermedades mitocondriales al reducir las especies tóxicas de oxígeno reactivo y estabilizar la cardiolipina (68).

El ácido folínico parece útil en enfermedades de depleción del mtADN ya que aumenta el folato cerebral (69). La restauración de la producción de monóxido de nitrógeno (NO) en individuos con MELAS usando como tratamiento citrulina y arginina ha demostrado beneficios en la clínica, ya que se encuentra reducida y estos compuestos son precursores de su síntesis (7)(70)(71).

8.1.6.2 MEDIDAS GENERALES

El ejercicio de resistencia ha demostrado beneficio en la mejora de la función de la cadena transportadora de electrones (45).

Una dieta alta en carbohidratos puede ser un reto metabólico para pacientes con defectos en la fosforilación oxidativa, por lo tanto se han propuesto que es mejor recomendar una dieta alta en grasas y baja en carbohidratos (72).

Para evitar las hipoglucemias es conveniente evitar el ayuno y realizar un aporte continuo de alimentos. La maicena también puede ser útil para disminuir las hipoglucemias sintomáticas en el fenotipo hepatocerebral de las MDMD en las mutaciones de los genes *DGUOK* y *MPV17* (73).

8.1.6.3 TRASPLANTE DE ÓRGANOS

El trasplante de hígado sigue siendo controvertido (49)(2)(74).

El trasplante de células madre en la enfermedad de MNGIE muestra resultados prometedores (74).

8.1.6.4 TERAPIA EN INVESTIGACIÓN

Un área actual de investigación es el coactivador de la biogénesis mitocondrial PCG-1 α . Su activación resulta en una mayor replicación mitocondrial que resulta en una mayor producción de ATP (2).

El bezafibrato, que se utiliza para tratar la dislipemia, parece estimular la vía mencionada de biogénesis mitocondrial (2)(75)(76).

Un estudio en pacientes con deficiencia de la citocromo c oxidasa mostró beneficios al emplear el bezafibrato. Estos resultados se midieron en términos de masa mitocondrial, capacidad de fosforilación oxidativa y producción de energía en modelos (75). Sin embargo, en ratones con una mutación en el gen POLG no se encontraron estos mismos beneficios (76).

Actualmente hay un estudio sin resultados aún publicados en el que se está midiendo el cambio en la cadena transportadora de electrones mediante otros parámetros bioquímicos y clínicos (77).

El resveratrol (un compuesto naturalmente presente en la piel de las uvas rojas) y el SRT2104 son, teóricamente, capaces de activar esta vía y podrían ser líneas de investigación de este tipo de tratamientos. Sin embargo, aún no hay estudios disponibles al respecto (2).

RTA 408 es un isoprenoide sintético que estimula el factor respiratorio nuclear 2, que finalmente promueve la biogénesis mitocondrial a través de la PCG-1 α . Actualmente hay un estudio llamado MOTOR en el que participan adultos con enfermedades mitocondriales de fenotipo miopático que mide la mejora clínica de estos pacientes (actualmente, aún no hay ningún resultado publicado) (78).

La epicatequina, un compuesto presente en el chocolate negro, ha demostrado tener propiedades que estimulan la biogénesis mitocondrial. En varios modelos murinos ha demostrado aumentar la capacidad de la fosforilación oxidativa, aumentar las proteínas involucradas en esta y aumentar la masa mitocondrial (79). Como curiosidad, actualmente hay un ensayo clínico que utiliza este compuesto como posible tratamiento de la ataxia de Friedrich (80).

8.1.6.5 *Terapia génica*

Debido a la ineficacia de las terapias clásicas surge la necesidad de investigar nuevos tratamientos. Uno de ellos es la terapia génica, actualmente en investigación (81).

- Síntesis de proteínas mitocondriales en el citosol (expresión alotópica)
 - o Se intentó sintetizar proteínas típicamente codificadas por mtADN en el citosol. Desgraciadamente se vio que al introducirlas posteriormente en la mitocondria resultaban tóxicas para ésta.
- Complementación de la expresión génica mitocondrial
 - o Se ha estudiado para mutaciones del nADN y se intenta replicar en el mtADN. Consiste básicamente en sustituir fragmentos de ADN mutados. El problema que esto supone es la barrera mitocondrial. Una manera de superar este obstáculo ha sido desarrollada creando una quimera ADN/proteína aprovechándose de un mecanismo de transporte de las proteínas mitocondriales (se ha conseguido introducir fragmentos de mtADN de 17 a 322 pares de bases). Aún no se sabe con certeza si el mtADN permanece estable dentro de la mitocondria.
 - o También se han usado ribonucleósidos para disminuir, en el síndrome de Kearns-Sayre, el tamaño de la delección.
 - o El tratamiento con nucleósidos en el TK2 ha mostrado excelentes resultados (aún no se ha realizado ningún estudio apropiado, pero está mostrando muy buenos resultados este tratamiento, especialmente en Italia y España) (74).

- Inhibición de la secuencia específica de la replicación del mtADN mutado
 - Esta línea de investigación se basa en la hipótesis de que las mutaciones del mtADN son funcionalmente recesivas. Se cree que con aproximadamente el 5-10% del ADN normal se puede invertir el defecto bioquímico. Se pretende emplear una técnica que permita sólo la replicación del ADN no mutado de manera que aumente la relación entre ADN normal/mutado. Se ha conseguido con éxito *in vitro* con unos oligonucleótidos. Pero aún no se tienen resultados *in vivo*.
- Inducción de la regeneración muscular en las miopatías mitocondriales
 - Esta técnica se basa en estimular la replicación de las células satélite musculares, ya que se ha visto que están prácticamente libres de mutaciones. Esto se puede conseguir mediante la hipertrofia muscular (ejercicio) o mediante necrosis muscular inducida.
- Trasplante nuclear de óvulos *in vitro*, fertilización *in vitro* con espermatozoides paternos
 - Consiste en trasplantar el núcleo del ovocito de la madre portadora de mutaciones del mtADN a un ovocito donado libre de dichas mutaciones. Posteriormente se fecunda *in vitro* con espermatozoides paternos.

9 DISCUSIÓN

Se ha presentado en el apartado 7 CASO CLÍNICO una paciente neonata con una mutación en el gen POLG causante de un síndrome de depleción del mtADN. El caso es de 2006, y como podemos ver en el apartado 8.1 DIAGNÓSTICO ACTUAL DE LAS ENFERMEDADES MITOCONDRIALES, hay algunas diferencias en la metodología diagnóstica en aquel momento frente a los estándares actuales.

Los estudios bioquímicos realizados a la paciente (perfil bioquímico en sangre y ácidos orgánicos en orina), no difieren sustancialmente de los que se realizan hoy en día. Dichos estudios son útiles para el diagnóstico sindrómico de los pacientes y así orientar los estudios etiológicos para la confirmación diagnóstica. Es necesario ampliar los estudios complementarios ya que las alteraciones bioquímicas se pueden explicar por otras patologías.

El estudio de sialotransferrinas séricas por isoelectroenfoque, se utiliza para el diagnóstico de defectos congénitos de la glicosilación de las proteínas. El test de CDT (transferrina deficientemente carboxilada) se utiliza como cribado para estos trastornos (82). Los defectos de la glicosilación entran en el diagnóstico diferencial de las enfermedades mitocondriales ya que algunos de ellos también causan afectación hepática. Este estudio se realiza en la paciente ya que forma parte del diagnóstico diferencial de enfermedades que pueden causar una hepatopatía.

La neuroimagen, en muchos casos, sigue siendo una prueba bastante inespecífica, cuya normalidad no descarta una patología mitocondrial, como puede verse en 8.1.4 NEUROIMAGEN. Además, en los niños tienen el inconveniente de precisar anestesia general para su realización, por lo que la accesibilidad a dicha prueba se reduce.

En cuanto a la biopsia muscular, en la actualidad no se realizan biopsias únicamente para el diagnóstico de enfermedad mitocondrial. En caso de precisar una muestra de tejido por otro motivo, como podría ser en el caso de una hepatopatía en la que interesa valorar el grado de afectación hepática, si se realiza dicha biopsia, se recoge además una muestra de tejido para el estudio de depleción y delección del mtADN en dicho tejido.

En cuanto al estudio del metabolismo energético en fibroblastos que se realizó en la paciente, hoy en día gracias a la disponibilidad de los estudios genéticos no es habitual su realización.

El cambio más relevante respecto al diagnóstico actual se observa en el estudio genético. En 2006 se estudiaron genes aislados del nADN (mediante PCR) orientados según la sospecha clínica que se tenía.

El diagnóstico de depleción del mtADN realizado en biopsia hepática junto con el síndrome clínico de afectación hepatocerebral hacía sospechar una mutación en un gen nuclear implicado en el mantenimiento del mtADN. En aquel momento los estudios de genes del nADN debían de realizarse estudiando de forma individual cada uno de los genes candidatos. Esta secuencia de estudio genético fue la realizada en nuestra paciente. Se estudió inicialmente el gen DGUOK, que no mostró ninguna variante patogénica, y posteriormente se estudió el gen POLG, que fue el que proporcionó el diagnóstico. El tiempo empleado en realizar estos estudios y llegar a un diagnóstico fue de 5 años. Actualmente se recurriría directamente al NGS, ya que es el método de elección actual para el estudio del nADN. El estudio del mtADN puede realizarse en sangre mediante NGS utilizando técnicas especialmente diseñadas o en los tejidos más afectados mediante PCR.

Respecto al tratamiento, el recibido por la paciente coincide con los estándares establecidos en el año 2006. Analizando las opciones terapéuticas que podría variar actualmente, como se puede ver en 7 CASO CLÍNICO, se empleó dicloroacetato. Este fármaco se utilizaba en aquel momento para disminuir el ácido láctico, pero ya no se utiliza actualmente porque, a pesar de la reducción de los niveles de lactato, no se objetiva mejoría clínica.

El uso de la carnitina (usado como tratamiento en nuestra paciente) está descrito en el apartado 8.1.6 PRONÓSTICO Y TRATAMIENTO. Sigue empleándose actualmente como tratamiento para estas enfermedades. En ese mismo apartado se describen otros tratamientos que podrían utilizarse hoy en día. Como resumen de lo expuesto, se podrían utilizar coenzima Q10, idebenona, riboflavina y tiamina para mejorar la función de la cadena de transporte de electrones. La creatina puede ser útil para mejorar la obtención de energía de forma anaerobia. Además, se podrían emplear antioxidantes como la vitamina C y E, el ácido lipoico y EPI-743 para evitar el efecto tóxico de los ROS. La EPI-743, en determinadas patologías, parece funcionar más allá del efecto antioxidante y aportar mejoras pronósticas. También se podría utilizar epicatequina para estimular la biogénesis mitocondrial y así mejorar la obtención energética.

A pesar de los tratamientos disponibles actualmente, ninguno de los fármacos es curativo y con gran probabilidad no habrían evitado el desenlace acontecido según los conocimientos disponibles actualmente. A pesar del gran avance diagnóstico que ha habido, las opciones terapéuticas continúan siendo limitadas, por ello se requieren más estudios y ensayos de los que puedan beneficiarse estos pacientes.

Respecto al diagnóstico prenatal, en el caso de las mutaciones del nADN, es posible su realización siempre y cuando estén identificadas las variantes patogénicas en el caso índice. Por eso en el caso de nuestra paciente sería posible la realización de un diagnóstico prenatal y un asesoramiento genético a esta familia respecto a las opciones reproductivas, que englobarían el estudio en biopsia corial o amniocentesis de un feto tras un embarazo espontáneo al diagnóstico preimplantacional y selección de embrión mediante técnicas de fecundación *in vitro*.

10 CONCLUSIONES

Las enfermedades mitocondriales son un grupo muy común de trastornos metabólicos hereditarios y se encuentran entre las formas más comunes de trastornos neurológicos hereditarios. No dejan de ser enfermedades raras, especialmente miradas individualmente.

La prevalencia de las enfermedades mitocondriales es extremadamente complicada de establecer, pero se estima que puede la prevalencia puede situarse alrededor de 1 persona afectada de enfermedad mitocondrial por cada 10.000 habitantes.

Uno de los desafíos de las enfermedades mitocondriales es el diagnóstico, dado que la marcada variabilidad clínica de estas enfermedades puede retrasar el diagnóstico.

Los avances en las técnicas de secuenciación masiva han mejorado sustancialmente el diagnóstico, particularmente en niños.

El estudio anatomopatológico e histoquímico del tejido queda desplazado, en ocasiones, a la investigación o como apoyo en caso de duda diagnóstica.

En cada paciente se debe evaluar el grado de afectación de los diferentes órganos.

Se debe contemplar el asesoramiento genético en parejas que han tenido un hijo afecto de una enfermedad mitocondrial para ofrecer la mejor opción reproductiva en cada caso.

Están disponibles diferentes estudios prenatales para facilitar la toma de decisiones reproductivas claves para prevenir este tipo de enfermedades.

El diagnóstico precoz de las enfermedades mitocondriales es esencial para diagnosticar alguna de las patologías con tratamiento específico que mejora el pronóstico, supervivencia y calidad de vida.

Se están desarrollando ensayos clínicos para obtener nuevos biomarcadores y nuevas opciones terapéuticas.

El tratamiento de pacientes con enfermedades mitocondriales sigue siendo un desafío. En su mayor parte el tratamiento es sintomático o mejora un poco el pronóstico.

BIBLIOGRAFÍA

1. Tuppen HAL, Blakely EL, Turnbull DM, Taylor RW. Mitochondrial DNA mutations and human disease. *Biochim Biophys Acta - Bioenerg* [Internet]. 2010;1797(2):113–28. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbabi.2009.09.005>
2. El-Hattab AW, Zarante AM, Almannai M, Scaglia F. Therapies for mitochondrial diseases and current clinical trials. Vol. 122, *Molecular Genetics and Metabolism*. Academic Press Inc.; 2017. p. 1–9.
3. Craven L, Alston CL, Taylor RW, Turnbull DM. Recent Advances in Mitochondrial Disease. *Annu Rev Genomics Hum Genet*. 2017;18(1):257–75.
4. Feillet F, Schmitt E, Gherardi R, Bonnemains C. Enfermedades mitocondriales. EMC - Pediatría [Internet]. 2014 Jun 1 [cited 2020 May 28];49(2):1–12. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1245178914672711>
5. Haas R, Parikh S, Falk M. Enfermedad mitocondrial: abordaje práctico para los médicos de atención primaria. *Pediatrics*. 2007;64(6):321–8.
6. Nalini Chandar SV. *Biología molecular*. 2ª. Barcelona: wolters kluwer; 2018.
7. Gorman GS, Chinnery PF, DiMauro S, Hirano M, Koga Y, McFarland R, et al. Mitochondrial diseases. *Nat Rev Dis Prim* [Internet]. 2016;2:1–23. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nrdp.2016.80>
8. Dard L, Blanchard W, Hubert C, Lacombe D, Rossignol R. Mitochondrial functions and rare diseases. *Mol Aspects Med* [Internet]. 2020;71(October 2019):100842. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.mam.2019.100842>
9. Wong HS, Dighe PA, Mezera V, Monternier PA, Brand MD. Production of superoxide and hydrogen peroxide from specific mitochondrial sites under different bioenergetic conditions. Vol. 292, *Journal of Biological Chemistry*. American Society for Biochemistry and Molecular Biology Inc.; 2017. p. 16804–9.
10. Amber Appleton OV. *Lo esencial de metabolismo y nutrición*. 4ª. Elsevier; 2013.
11. Laffel L. Ketone bodies: a review of physiology, pathophysiology and application of monitoring to diabetes. *Diabetes Metab Res Rev*. 1999;15(6):412–26.
12. Tejedor C. *metabolismo del piruvato*. Alcalá;
13. *Pancrat. Fermentation lactique* [Internet]. Available from: <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=25144938>
14. Alberts B, Bray D, Karen H, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter tr GL. Generación de energía en mitocondrias y cloroplastos. In: *Introducción a la biología celular*. 3ª. México: Editorial médica panamericana; 2011. p. 453–71.
15. Chen JQ, Cammarata PR, Baines CP, Yager JD. Regulation of mitochondrial respiratory chain biogenesis by estrogens/estrogen receptors and physiological, pathological and pharmacological implications. Vol. 1793, *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Cell Research*. Elsevier; 2009. p. 1540–70.
16. Gómez Márquez JJ. Transporte electrónico en mitocondrias (TEM) y bacterias [Internet]. 2012. Available from: <http://bioquimica2usc.blogspot.com/2013/05/tema-6-transporte-electronico-en.html>

17. Zschocke J, Hoffmann GF. vademecum metabolicum: Fatty acid oxidation [Internet]. Available from: <http://evm.health2media.com/#/detail-view/disorder/0/2>
18. cristina Tejedor. Tema 14: Catabolismo de aminoácidos. Destino del grupo amino: ciclo de la urea. Reacciones y regulación . Destino del esqueleto carbonado.
19. Puñal JE, Lado CG, Blanco Barca MO, Castro-Gago M. INTRODUCCIÓN Y ASPECTOS GENERALES Enfermedades mitocondriales. 2008;(3). Available from: www.aeped.es/protocolos/
20. Anderson S, Bankier AT, Barrell BG, De Bruijn MHL, Coulson AR, Drouin J, et al. Sequence and organization of the human mitochondrial genome. Nature [Internet]. 1981 [cited 2020 Feb 20];290(5806):457–65. Available from: <https://sci-hub.tw/10.1038/290457a0>
21. Mayordomo E. Temas actuales : genética mitocondrial Dos tipos de DNA. Available from: is.unizar.es/asignaturas/Bio/wp-content/uploads/2015/05/160311mtDNA.pdf
22. Montoya J. Biogénesis y patología mitocondrial. Rev Real Academia de Ciencias [Internet]. 2005; Available from: <https://www.academiadefarmaciadearagon.es/docs/Documentos/Documento20.pdf>
23. Ortiz G, Mireles-Ramírez M, Gonzalez-Usigli H, Macías-Islas M, Bitzer Quintero O, Torres-Sánchez E, et al. Mitochondrial Aging and Metabolism: The Importance of a Good Relationship in the Central Nervous System. In 2018. p. 8.
24. Chinopoulos C. Quantification of mitochondrial DNA from peripheral tissues: Limitations in predicting the severity of neurometabolic disorders and proposal of a novel diagnostic test. Mol Aspects Med [Internet]. 2019;71(November 2019):100834. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.mam.2019.11.004>
25. Yabuuchi A, Beyhan Z, Kagawa N, Mori C, Ezoe K, Kato K, et al. Prevention of mitochondrial disease inheritance by assisted reproductive technologies: Prospects and challenges. Vol. 1820, Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects. Elsevier; 2012. p. 637–42.
26. Almannai M, El-Hattab AW, Scaglia F. Mitochondrial DNA replication: Clinical syndromes. Essays Biochem. 2018;62(3):297–308.
27. Albaladejo Méndez J, Jiménez Pascual M. Tema 11. Respiración Interna. In: Albaladejo Méndez J, editor. VOLVIENDO A LO BÁSICO, versión electrónica [Internet]. Cartagena: Cartagena; 2012. Available from: http://www.ffis.es/volviendoalobasico/7enfermedades_mitocondriales.html
28. Caballero Cala V, zapata Boluda RM. Educación y salud en grupos vulnerables. Caballero Cala V, zapata Boluda RM, editors. Universidad de Almería; 2019.
29. enfermedades mitocondriales [Internet]. Available from: <https://metabolicas.sjdhospitalbarcelona.org/ecm/enfermedades-mitocondriales/info/ocurre-caso-nino-a-nace-enfermedad-mitocondrial>
30. El-Hattab AW, Craigen WJ, Scaglia F. Mitochondrial DNA maintenance defects. Biochim Biophys Acta - Mol Basis Dis [Internet]. 2017;1863(6):1539–55. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbadis.2017.02.017>
31. Perrine Susan. DNA REPLICATION. Bone [Internet]. 2005;23(1):1–7. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3624763/pdf/nihms412728.pdf>
32. El-Hattab AW, Scaglia F. Mitochondrial cytopathies. Vol. 60, Cell Calcium. Elsevier Ltd; 2016. p. 199–206.
33. Ylikallio E, Suomalainen A. Mechanisms of mitochondrial diseases. Ann Med. 2012

- Feb;44(1):41–59.
34. Papandreou A, Rahman S, Fratter C, Ng J, Meyer E, Carr LJ, et al. Spectrum of movement disorders and neurotransmitter abnormalities in paediatric POLG disease. *J Inher Metab Dis*. 2018;41(6):1275–83.
 35. Wong L-JC, Naviaux RK, Brunetti-Pierri N, Zhang Q, Schmitt ES, Truong C, et al. Molecular and clinical genetics of mitochondrial diseases due to POLG mutations. *Hum Mutat*. 2008;29(9):E150–72.
 36. Parikh S, Goldstein A, Koenig MK, Scaglia F, Enns GM, Saneto R, et al. Diagnosis and management of mitochondrial disease: A consensus statement from the Mitochondrial Medicine Society. *Genet Med*. 2015;17(9):689–701.
 37. Cohen BH, Naviaux RK. The clinical diagnosis of POLG disease and other mitochondrial DNA depletion disorders. *Methods* [Internet]. 2010;51(4):364–73. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ymeth.2010.05.008>
 38. Tchikviladzé M, Gilleron M, Maissonobe T, Galanaud D, Laforêt P, Durr A, et al. A diagnostic flow chart for POLG-related diseases based on signs sensitivity and specificity. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* [Internet]. 2015 Jun 1 [cited 2020 Feb 23];86(6):646–54. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25118206>
 39. Santander N, Rebellon D, Bernal B. Dichloroacetate: Orphan drug with a possible use in oncology. 2014 Jan;7.
 40. Parikh S, Goldstein A, Karaa A, Koenig MK, Anselm I, Brunel-Guitton C, et al. Patient care standards for primary mitochondrial disease: A consensus statement from the mitochondrial medicine society. Vol. 19, *Genetics in Medicine*. Nature Publishing Group; 2017. p. 1–18.
 41. Zschocke J, Hoffmann GF. vademecum metabolicum: Long chain hidroxyacyl-CoA deshidrogensae deficiency. Available from: <http://evm.health2media.com/#/detail-view/disorder/2/98>
 42. James L Bennington WBSC. *Diccionario enciclopédico del laboratorio clínico*. Madrid: Editorial Médica Panamericana; 1991.
 43. Zschocke J, Hoffmann GF. vademecum metabolicum: Zellweger syndrom [Internet]. Available from: <http://evm.health2media.com/#/detail-view/disorder/2/203>
 44. Dimmock D, Tang LY, Schmitt ES, Wong LJC. Quantitative evaluation of the mitochondrial DNA depletion syndrome. *Clin Chem*. 2010;56(7):1119–27.
 45. Mancuso M, Orsucci D, LoGerfo A, Rocchi A, Petrozzi L, Nesti C, et al. Oxidative stress biomarkers in mitochondrial myopathies, basally and after cysteine donor supplementation. *J Neurol*. 2010 May 4;257(5):774–81.
 46. Zschocke J, Hoffmann GF. vademecum metabolicum: Elevated lactate [Internet]. Available from: <http://evm.health2media.com/#/detail-view/generalsitu/0/4>
 47. Chinopoulos C. Quantification of mitochondrial DNA from peripheral tissues: Limitations in predicting the severity of neurometabolic disorders and proposal of a novel diagnostic test. Vol. 71, *Molecular Aspects of Medicine*. Elsevier Ltd; 2019. p. 100834.
 48. Haas RH, Parikh S, Falk MJ, Saneto RP, Wolf NI, Darin N, et al. The in-depth evaluation of suspected mitochondrial disease. *Mol Genet Metab*. 2008 May;94(1):16–37.
 49. El-Hattab AW, Scaglia F. Mitochondrial DNA Depletion Syndromes: Review and Updates of

- Genetic Basis, Manifestations, and Therapeutic Options. *Neurotherapeutics*. 2013;10(2):186–98.
50. Wortmann SB, Rodenburg RJT, Jonckheere A, de Vries MC, Huizing M, Heldt K, et al. Biochemical and genetic analysis of 3-methylglutaconic aciduria type IV: a diagnostic strategy. *Brain* [Internet]. 2009 Jan [cited 2020 Mar 1];132(Pt 1):136–46. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19015156>
 51. Osorio JH, Pourfarzam M. Determinación de valores normales de acilcarnitinas en una población infantil sana como herramienta diagnóstica de errores hereditarios de la β -oxidación mitocondrial de los ácidos grasos. *An Pediatría*. 2007 Dec 1;67(6):548–52.
 52. García Bartolomé A, Cristina D, Bilbao U. IDENTIFICACIÓN DE LA GELSOLINA COMO POSIBLE BIOMARCADOR DE LAS ENFERMEDADES MITOCONDRIALES DEL SISTEMA OXPHOS Memoria presentada por el Licenciado en Biotecnología.
 53. Molnar MJ, Kovacs GG. Mitochondrial diseases [Internet]. 1st ed. Vol. 145, *Handbook of Clinical Neurology*. Elsevier B.V.; 2018. 147–155 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-802395-2.00010-9>
 54. Craven L, Alston CL, Taylor RW, Turnbull DM. Recent Advances in Mitochondrial Disease. *Annu Rev Genomics Hum Genet* [Internet]. 2017 Aug 31 [cited 2020 Feb 18];18(1):257–75. Available from: <http://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev-genom-091416-035426>
 55. McDonnell MT, Schaefer AM, Blakely EL, McFarland R, Chinnery PF, Turnbull DM, et al. Noninvasive diagnosis of the 3243A > G mitochondrial DNA mutation using urinary epithelial cells. *Eur J Hum Genet*. 2004 Sep;12(9):778–81.
 56. Alston CL, Rocha MC, Lax NZ, Turnbull DM, Taylor RW. The genetics and pathology of mitochondrial disease. Vol. 241, *Journal of Pathology*. John Wiley and Sons Ltd; 2017. p. 236–50.
 57. Murayama K, Shimura M, Liu Z, Okazaki Y, Ohtake A. Recent topics: the diagnosis, molecular genesis, and treatment of mitochondrial diseases. *J Hum Genet* [Internet]. 2019;64(2):113–25. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s10038-018-0528-6>
 58. Nesbitt V, Alston CL, Blakely EL, Fratter C, Feeney CL, Poulton J, et al. A national perspective on prenatal testing for mitochondrial disease. *Eur J Hum Genet* [Internet]. 2014 Nov 5 [cited 2020 Mar 1];22(11):1255–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24642831>
 59. España. Ley 14/2006, de 26 de mayo, sobre técnicas de reproducción humana asistida. *Boletín Oficial del Estado*. «BOE» núm. 126, de 27/05/2006. Disponible: <https://www.boe.es/buscar/pdf/2006/BOE-A-2006-9292-consolidado.pdf>.
 60. Sallevelt SCEH, Dreesen JCFM, Drüsedau M, Spierts S, Coonen E, van Tienen FHJ, et al. Preimplantation genetic diagnosis in mitochondrial DNA disorders: Challenge and success. *J Med Genet* [Internet]. 2013 Feb [cited 2020 Mar 1];50(2):125–32. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23339111>
 61. Murayama K, Shimura M, Liu Z, Okazaki Y, Ohtake A. Recent topics: the diagnosis, molecular genesis, and treatment of mitochondrial diseases. Vol. 64, *Journal of Human Genetics*. Nature Publishing Group; 2019. p. 113–25.
 62. Enns GM, Kinsman SL, Perlman SL, Spicer KM, Abdenur JE, Cohen BH, et al. Initial experience in the treatment of inherited mitochondrial disease with EPI-743. *Mol Genet Metab*. 2012 Jan 1;105(1):91–102.

63. Martinelli D, Catteruccia M, Piemonte F, Pastore A, Tozzi G, Dionisi-Vici C, et al. EPI-743 reverses the progression of the pediatric mitochondrial disease-Genetically defined Leigh Syndrome. *Mol Genet Metab*. 2012 Nov 1;107(3):383–8.
64. Sadun AA, Chicani CF, Ross-Cisneros FN, Barboni P, Thoolen M, Shrader WD, et al. Effect of EPI-743 on the clinical course of the mitochondrial disease leber hereditary optic neuropathy. *Arch Neurol*. 2012 Mar;69(3):331–8.
65. Long-Term Safety and Efficacy Evaluation of EPI-743 in Children With Leigh Syndrome - Full Text View - ClinicalTrials.gov [Internet]. [cited 2020 Feb 24]. Available from: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02352896>
66. EPI-743 for Metabolism or Mitochondrial Disorders - Full Text View - ClinicalTrials.gov [Internet]. [cited 2020 Feb 24]. Available from: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01642056>
67. Rodriguez MC, MacDonald JR, Mahoney DJ, Parise G, Beal MF, Tarnopolsky MA. Beneficial effects of creatine, CoQ10, and lipoic acid in mitochondrial disorders. *Muscle and Nerve* [Internet]. 2007 Feb 1 [cited 2020 Feb 24];35(2):235–42. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/mus.20688>
68. Stealth BioTherapeutics Inc. Safety, Tolerability, and Efficacy of MTP-131 for the Treatment of Mitochondrial Myopathy [Internet]. [cited 2020 Feb 24]. Available from: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02367014>
69. Hasselmann O, Blau N, Ramaekers VT, Quadros E V, Sequeira JM, Weissert M. Cerebral folate deficiency and CNS inflammatory markers in Alpers disease. *Mol Genet Metab* [Internet]. 2010 Jan [cited 2020 Mar 10];99(1):58–61. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19766516>
70. El-Hattab AW, Emrick LT, Hsu JW, Chanprasert S, Almannai M, Craigen WJ, et al. Impaired nitric oxide production in children with MELAS syndrome and the effect of arginine and citrulline supplementation. *Mol Genet Metab*. 2016 Apr 1;117(4):407–12.
71. Tengan CH, Kiyomoto BH, Godinho RO, Gamba J, Neves AC, Schmidt B, et al. The role of nitric oxide in muscle fibers with oxidative phosphorylation defects. *Biochem Biophys Res Commun*. 2007 Aug 3;359(3):771–7.
72. Saudubray JM, Van Den Berghe G, Walter JH. Inborn metabolic diseases diagnosis and treatment. *Inborn Metab Dis Diagnosis Treat*. 2012;1–657.
73. El-Hattab AW, Scaglia F. Mitochondrial DNA Depletion Syndromes: Review and Updates of Genetic Basis, Manifestations, and Therapeutic Options. Vol. 10, *Neurotherapeutics*. Springer; 2013. p. 186–98.
74. Saada A. Insights into deoxyribonucleoside therapy for mitochondrial TK2 deficient mtDNA depletion [Internet]. Vol. 47, *EBioMedicine*. Elsevier B.V.; 2019 [cited 2020 Feb 20]. p. 14–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31402231>
75. Noe N, Dillon L, Lellek V, Diaz F, Hida A, Moraes CT, et al. Bezafibrate improves mitochondrial function in the CNS of a mouse model of mitochondrial encephalopathy. *Mitochondrion*. 2013 Sep 1;13(5):417–26.
76. Dillon LM, Hida A, Garcia S, Prolla TA, Moraes CT. Long-Term Bezafibrate Treatment Improves Skin and Spleen Phenotypes of the mtDNA Mutator Mouse. Bai Y, editor. *PLoS One* [Internet]. 2012 Sep 4 [cited 2020 Feb 24];7(9):e44335. Available from: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0044335>

77. Chinnery PF. A Feasibility Study of Bezafibrate in Mitochondrial Myopathy [Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US); 2017. Identifier NCT02398201. Available from: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02398201>
78. Madsen KL, Buch AE, Cohen BH, Falk MJ, Goldsberry A, Goldstein A, et al. Safety and efficacy of omaveloxolone in patients with mitochondrial myopathy (MOTOR trial). *Neurology*. 2020 Jan 2;10.1212/WNL.0000000000008861.
79. Nogueira L, Ramirez-Sanchez I, Perkins GA, Murphy A, Taub PR, Ceballos G, et al. (-)-Epicatechin enhances fatigue resistance and oxidative capacity in mouse muscle. *J Physiol* [Internet]. 2011 Sep 1 [cited 2020 Feb 24];589(18):4615–31. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1113/jphysiol.2011.209924>
80. Ralitza Gavrilova MC. (+) Epicatechin to Treat Friedreich’s Ataxia [Internet]. United States, Minnesota: Bethesda (MD): National Library of Medicine (US); 2018. Identifier NCT02660112. Available from: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02660112>
81. Pineda M, Artuch R, García MT. Tratamiento de las enfermedades mitocondriales. In: Sanjurjo Pablo BA, editor. *Enfermedades metabólicas hereditarias*. 4th ed. Madrid: Ergon; 2014. p. 837–47.
82. Pérez-Cerdá DC, Girós DM, Serrano DM, Dueñas Perez B. Trastornos de la glicosilacion. *Aecom*. 2015;13–27.

ANEXO ABREVIATURAS

OXPPOS: fosforilación oxidativa

nADN: ADN nuclear

mtADN: ADN mitocondrial

OXPPOS: fosforilación oxidativa

CTE: cadena de transporte de electrones

MDMD: defectos del mantenimiento del ADN mitocondrial

NGS: Next Generation Sequencing

VN: valor normal

BHB: B-hidroxiacetato

AGL: Ácidos grasos libres

AGL/KB: Cociente entre ácidos grasos y cuerpos

LCR: líquido cefalorraquídeo

dGK : deoxiguanosina quinasa mitocondrial

MELAS: encefalomiopatía mitocondrial, acidosis láctica y episodios tipo ictus

Gen POLG: Gen que codifica para la ADN polimerasa Gamma

3-MG: ácido 3-metilglutacónico

Cit C: citocromo C

CoQ10: Coenzima Q10