



**Universidad**  
Zaragoza



## Síndrome MELAS: relación entre el porcentaje de ADN mitocondrial mutado y fenotipo

MELAS Syndrome: association between the percentage of mutated mitochondrial DNA and phenotype

Autora: Gema Martínez Gabaldón  
Directora: Eva Barrio Ollero  
Codirectora: Ester López Gallardo

Curso 2016/2017

# Índice

Abreviaturas.....	3
I. Resumen.....	4
II. Introducción.....	6
a. La mitocondria.....	6
b. Genoma mitocondrial.....	7
c. Genética mitocondrial.....	9
d. Enfermedades mitocondriales.....	10
i. <i>Síndrome de Kearns–Sayre</i> .....	11
ii. <i>Síndrome de oftalmoplegía externa progresiva crónica</i> .....	12
iii. <i>Síndrome de Pearson</i> .....	12
iv. <i>Síndrome de epilepsia mioclónica con fibras rojo-rasgadas (MERF)</i> .....	12
v. <i>Neuropatía, ataxia y retinopatía pigmentaria</i> .....	13
vi. <i>Síndrome de Leigh de herencia materna</i> .....	13
vii. <i>Diabetes de herencia materna con sordera</i> .....	13
viii. <i>Neuropatía óptica hereditaria de Leber</i> .....	13
e. El síndrome MELAS.....	14
III. Objetivos.....	18
IV. Material y métodos.....	19
a. Casos clínicos.....	19
i. <i>Familia 1</i> .....	19
ii. <i>Familia 2</i> .....	20
iii. <i>Familia 3</i> .....	21
iv. <i>Familia 4</i> .....	22
v. <i>Familia 5</i> .....	23
vi. <i>Familia 6</i> .....	24
vii. <i>Familia 7</i> .....	25
viii. <i>Familia 8</i> .....	26
V. Resultados.....	29

VI. Discusión.....	36
VII. Conclusiones.....	39
VIII. Bibliografía.....	41

## Abreviaturas

A: adenina

ATP: adenosín trifosfato

EEG: electroencefalograma

EMG: electromiograma

G: guanina

HIC: hipertensión intracraneal

ID: indetectable

KSS: síndrome de Kearns-Sayre

LHON: neuropatía óptica hereditaria de Leber

MELAS: encefalomiopatía mitocondrial, acidosis láctica y episodios similares a apoplejía

MERF: Síndrome de epilepsia mioclónica con fibras rojo-rasgadas

MIDD: diabetes de herencia materna con sordera

MILS: Síndrome de Leigh de herencia materna

mtDNA: DNA mitocondrial

NARP: Neuropatía, ataxia y retinopatía pigmentaria

nDNA: DNA nuclear

NE: no estudiado

OXPPOS:

RMN: resonancia magnética nuclear

tRNA: RNA de transferencia

TC: tomografía computerizada.

## Resumen

Las enfermedades mitocondriales son patologías causadas por mutaciones producidas en la cadena respiratoria, la cual se encuentra situada en la mitocondria. Esto se traduce en un déficit en la síntesis de energía en forma de ATP y, por tanto, en enfermedades de carácter multisistémico pudiendo aparecer desde la infancia hasta la edad adulta, en una población aparentemente sana. Este trabajo se ha centrado en el síndrome MELAS (miopatía mitocondrial, acidosis láctica y episodios similares a apoplejía), la cual es la patología más frecuente dentro de estas “enfermedades raras”. Este síndrome está causado en un 80% de los casos por una transición de los nucleótidos A a G producida por una mutación puntual en la posición 3243 del DNA mitocondrial que codifica el gen tRNA de Leucina. Clínicamente se caracteriza por manifestaciones neurológicas incluyendo convulsiones, encefalopatía y episodios similares a apoplejía además de otras manifestaciones secundarias también frecuentes, como baja talla, migraña, sordera, diabetes, intolerancia al ejercicio o patología psiquiátrica.

Debido a la heterogeneidad que muestra este síndrome, se ha explicado las características genéticas presentes en las mitocondrias, teniendo en cuenta el tipo de herencia y los conceptos de poliplasmia, segregación mitótica, heteroplasmia y efecto umbral para así poder entender de forma más precisa el porqué de los patrones tan complicados que sigue esta enfermedad.

Se han estudiado 8 familias recogiendo los síntomas o ausencia de ellos que presentan sus miembros. Con ello, se ha querido buscar una relación entre el fenotipo patológico de estos pacientes y la existencia de mayor gravedad en sus síntomas relacionado con el porcentaje de DNA mitocondrial mutado.

**Palabras clave:** enfermedades mitocondriales; síndrome MELAS; m.3243<sup>a</sup> > G; miopatía mitocondrial; acidosis láctica; episodios similares a apoplejía; enfermedad metabólica.

## Summary

Mitochondrial diseases are pathologies caused by mutations that are produced in the respiratory chain, which is located in the mitochondria. This means that there is a shortfall in the synthesis of energy in form of ATP and, therefore, in diseases of a multisystem nature. This can appear from childhood to adulthood, in an apparently healthy population.

This paper focuses on the MELAS syndrome (mitochondrial myopathy, lactic acidosis and stroke-like episodes), which is the most frequent pathology within these "rare diseases". This syndrome is caused, in 80% of cases, by an A-to-G point mutation at position 3243 in the tRNA Leucine gene of mitochondrial DNA. Clinically it is characterized by neurological manifestations including seizures, encephalopathy and similar to episodes of apoplexy, in addition to other frequent secondary symptoms, such as low stature, migraine, deafness, diabetes, exercise intolerance, psychiatric pathology. Due to the heterogeneity of this syndrome, the genetic features of the mitochondria will be explained. In order to do this, the type of inheritance and the following concepts will be taken into account: polyplasm, mitotic segregation, heteroplasm and threshold. This will allow us to understand more precisely the different patterns that are embedded into this disease.

Eight families have been studied in order to check whether their members have or lack these symptoms. The aim of this study is to find the relationship between not only the pathological phenotype of these patients and the mitochondrial mutated DNA, but also the existence of greater severity in their symptoms with its percentage.

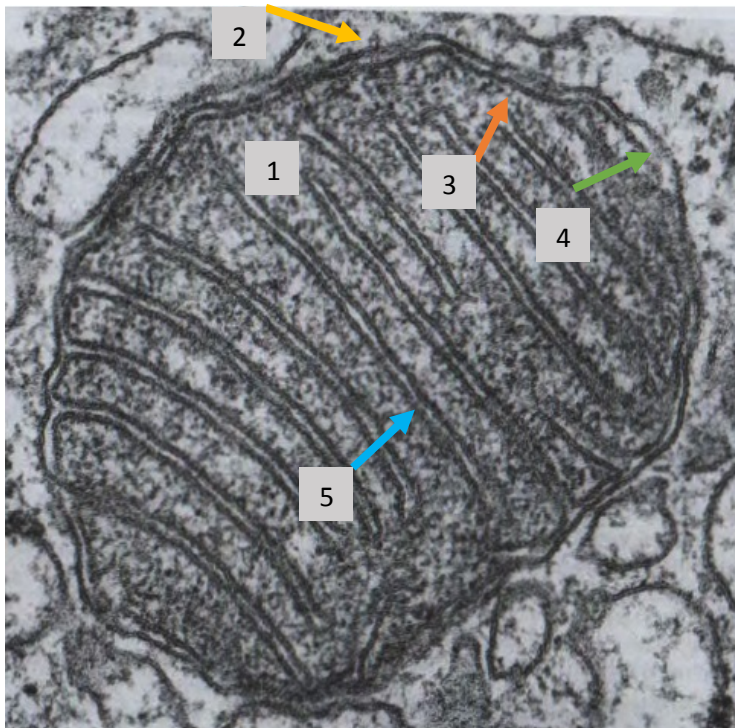
**Key words:** mitochondrial disease; MELAS syndrome; m.3243<sup>a</sup> > G; mitochondrial miopathy; lactic acidosis; stroke-like episodes; metabolic disease

# 1. Introducción

## 1.1. La mitocondria

La mitocondria es un orgánulo citoplasmático de las células eucariotas cuya función principal es la obtención de energía en forma de ATP mediante el sistema de fosforilación oxidativa.

Estructuralmente, está compuesta por dos membranas (interna y externa) que delimitan dos compartimentos diferentes: matriz interna y espacio intermembrana. La membrana externa marca el límite entre el orgánulo y el citoplasma celular. Su alto contenido en una proteína formadora de canales (porinas) permite el paso de iones y pequeñas moléculas. Por el contrario, la membrana interna es prácticamente impermeable a iones y forma una serie de dobleces dirigidos hacia la matriz, denominadas crestas, que aumentan su superficie total. Es aquí donde encontramos los complejos enzimáticos del sistema de fosforilación oxidativa (OXPHOS) <sup>(1)</sup>.



**Figura 1.- Mitocondria vista en microscopio electrónico <sup>(1)</sup>. 1: Matriz mitocondrial; 2: Membrana externa; 3: membrana interna; 4: espacio intermembrana; 5: crestas mitocondriales.**

La matriz mitocondrial tiene una gran concentración de enzimas, necesarias para la oxidación del piruvato, la oxidación de los ácidos grasos y el ciclo de Krebs, así como genoma mitocondrial, varias enzimas responsables de su expresión y ribosomas mitocondriales.

El número de mitocondrias presentes en una célula humana es de 25 a 100000 mitocondrias, dependiendo de la demanda energética de los diferentes tejidos, siendo el sistema nervioso central, el músculo cardíaco y esquelético, los riñones y el sistema endocrino los que más energía requieren <sup>(1)</sup>.

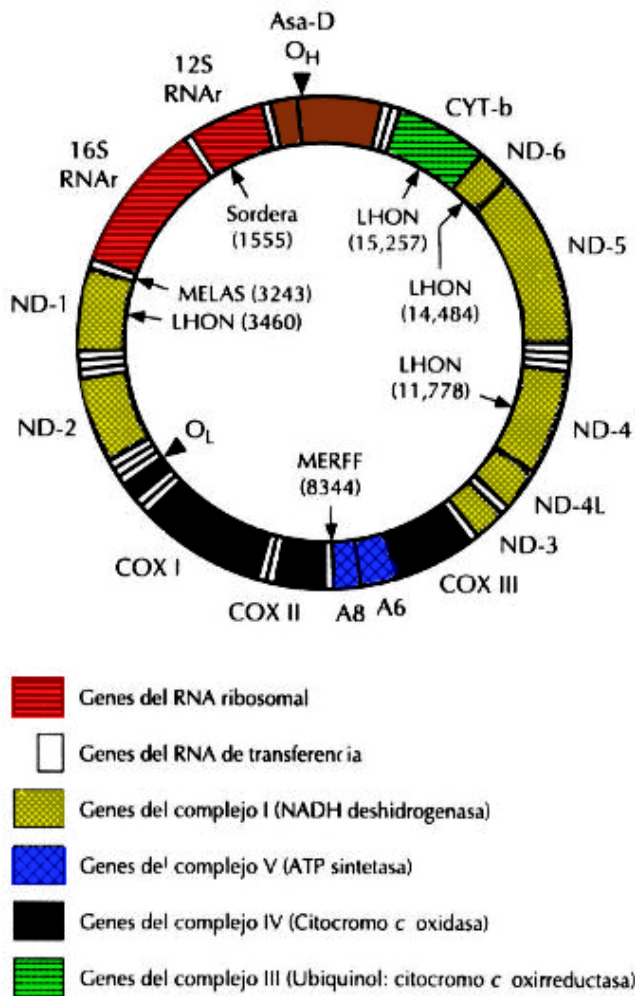
## 1.2. Genoma mitocondrial

Dentro de las células humanas se pueden encontrar dos tipos de sistemas genéticos diferentes: el DNA nuclear (nDNA) y el propio de las mitocondrias (mtDNA). Este orgánulo, sin contar el núcleo, es el único de la célula que posee su propio genoma y, además, este se replica y transcribe en la matriz mitocondrial. Aun así, la mitocondria es muy dependiente del nDNA para procesos como la biogénesis mitocondrial, ya que para su correcto funcionamiento se requiere la expresión coordinada de los dos sistemas genéticos celulares <sup>(2)</sup>.

El mtDNA es una molécula circular, de doble hebra y cerrada de 16569 pares de bases que codifica 37 genes. Estos codifican 2 RNAs ribosómicos (12S y 16 S), 22 RNA de transferencia (tRNA), encargados ambos tipos de la traducción del mtDNA, y 13 polipéptidos que forman parte de cuatro de los cinco complejos multienzimáticos del sistema OXPHOS: ND 1, 2, 3, 4, 4L, 5, 6 son componentes del complejo I o NADH; cyt b pertenece al complejo III o ubiquinol: citocromo c oxidoreductasa; COI, II, III al complejo IV o citocromo c oxidasa; y A6 y A8 al complejo V o ATP sintasa <sup>(2-4,9)</sup>. Por otra parte, en el DNA nuclear, se encuentran codificados la totalidad del complejo II y el resto de los polipéptidos que componen el sistema OXPHOS.



Estos genes se encuentran repartidos entre las dos cadenas que lo componen: la cadena H (pesada o “heavy chain”), donde se encuentran 2 RNAs ribosómicos, 14 tRNAs y 12 polipéptidos, y la cadena L (ligera o “light chain”)



donde están 8 tRNAs y un polipéptido (ND6)<sup>(3)</sup>.

**Figura 2.- Mapa genético del DNA mitocondrial humano**<sup>(5)</sup>. El círculo externo muestra los distintos genes y su posición dentro del genoma mitocondrial. En el círculo interno están los puntos de mutación en los genes estructurales y codificantes de proteínas, con la indicación de los fenotipos clínicos y la posición de las mutaciones de los nucleótidos mostradas entre paréntesis (ND: subunidades de NADH deshidrogenasa; cyt b: apocitocromo b; CO: subunidades de citocromo C oxidasa; A: subunidades de ATP sintetasa).

La única zona del DNA que no codifica ningún gen se localiza alrededor del origen de replicación de una de las cadenas, que incluye el bucle de desplazamiento (bucle D), representa sólo un 7% del total del mtDNA <sup>(3)</sup>.

El mtDNA tiene un número elevado de moléculas de este DNA en las células humanas, entre 1000 y 10000 copias dependiendo de los tejidos, pudiendo ir de 2 a 10 moléculas de DNA por mitocondria <sup>(3)</sup>.

Una de las características del mtDNA a destacar es la organización tan compacta que presenta, ya que todos estos genes carecen de intrones. En la cadena H no encontramos tramos no codificantes entre los genes, disponiéndose estos uno a continuación del otro <sup>(4)</sup>.

### 1.3. Genética mitocondrial

El mtDNA presenta ciertas características propias que lo diferencia del nDNA:

**Herencia:** a diferencia del nDNA, el mtDNA se hereda exclusivamente por vía materna <sup>(6)</sup> debido a que los óvulos contienen un elevado número de copias de mtADN y a que las mitocondrias del espermatozoide se eliminan por un proceso activo en los primeros estadios de división celular <sup>(7)</sup>. Por ello, este orgánulo es aportado de forma exclusiva por el gameto femenino, lo que posibilita que todos sus descendientes lo hereden pero sólo las mujeres lo transmitirán de nuevo a la siguiente generación.

**Poliplasmia:** en los tejidos de un individuo normal, todas las moléculas de mtDNA son idénticas (homoplasmia). Sin embargo, si se presentan mutaciones en parte de dichas moléculas, existirá una proporción del genoma mitocondrial mutado presente en la célula, lo que dará lugar a dos poblaciones de mtDNA coexistentes, una normal y otra mutada (heteroplasmia) <sup>(2)</sup>.

**Segregación mitótica:** si se da la situación descrita anteriormente, y debido a que el mtDNA se segrega al azar entre las células hijas, que se produzca una disfunción mitocondrial o no dependerá del porcentaje del mtDNA mutado que contenga dicha célula, requiriéndose un número mínimo del mismo para alterar

su función normal (efecto umbral). Como consecuencia se podrán dar tres posibles genotipos: homoplásmico normal, homoplásmico mutante y heteroplásmico con porcentajes variables de mtDNA mutado <sup>(2)</sup>.

**Efecto umbral:** para que un tejido funcione adecuadamente, este necesita un porcentaje de mtDNA normal para así producir el ATP suficiente para su función. Sin embargo, cuando el mtDNA mutado sobrepasa un nivel determinado, esta producción de ATP se verá afectada, dando lugar a una producción deficiente de este ATP y así se producirán los síntomas relacionados con la falta de energía.

**Alto porcentaje de mutación:** el mtDNA presenta una elevada tasa de mutación espontánea, muy superior a la que presenta el nDNA. Esto podría deberse a la cercanía a la cadena de transporte de electrones (localizada en la membrana interna), la principal fuente productora de especies reactivas de oxígeno, que serían las encargadas de inducir la producción de mutaciones. También estaría facilitado por la ausencia de histonas en este genoma mitocondrial, así como la presencia de unos mecanismos de reparación no tan abundantes como los presentes en el nDNA <sup>(6,8)</sup>.

#### 1.4. Enfermedades mitocondriales

Las enfermedades mitocondriales son trastornos producidos en alguna de las rutas metabólicas mitocondriales, aunque suele emplearse este término para las enfermedades originadas por defectos en el sistema OXPHOS <sup>(9)</sup>. Estos defectos suelen encontrarse en el mtDNA pero también pueden surgir de trastornos genéticos nucleares <sup>(9,10)</sup>. Esto es así puesto que la mayoría de las proteínas implicadas en el metabolismo mitocondrial y todas aquellas involucradas en el mantenimiento del mtDNA son codificadas en el núcleo. Todas tienen en común el estar producidas por un fracaso en la producción de ATP, lo que es la principal causa de la fisiopatología de este tipo de enfermedades.

Al estar estos orgánulos en todos los tipos celulares (aunque en diferente cantidad), la afectación será multisistémica, siendo ésta mayor en aquellos órganos o estructuras que requieran una mayor cantidad de ATP. Su curso es progresivo y su gravedad variable. Por todo esto, en algunos casos se puede asignar una serie de síntomas o síndromes determinados pero, en general, no se puede delimitar con precisión debido a la variedad de fenotipos y porque es muy frecuente que se solapen los síntomas <sup>(10)</sup>. Cuando las mutaciones se producen en el nDNA pueden imitar las características observadas en pacientes con defectos de mtDNA, y de hecho algunos trastornos genéticos nucleares dan como resultado anomalías secundarias del genoma mitocondrial, por lo que tendrían herencia mendeliana <sup>(2,10)</sup>.

Los defectos genéticos del genoma mitocondrial humano se describieron por primera vez en 1988 y surgieron de la investigación de dos síndromes - síndrome de Kearns-Sayre (KSS) y Neuropatía óptica hereditaria de Leber (LHON) <sup>(12,13)</sup>. Desde 1988, han sido identificadas varias mutaciones del genoma mitocondrial y asociadas a enfermedad. De entre todas ellas, destacaremos aquellas más frecuentes y, por tanto, más conocidas.

#### *1.4.1. Síndrome de Kearns–Sayre (KSS)*

Producido por la presencia de grandes deleciones únicas en el mtDNA que aparecen de forma esporádica. Se caracteriza clínicamente por: síndrome de oftalmoplegía externa progresiva crónica, retinopatía pigmentaria, y bloqueo de la conducción cardíaca, que aparece antes de los 20 años de edad, y que va acompañado además de alguno de los siguientes síntomas: ataxia, miopatía mitocondrial, elevados niveles de proteína CSF, sordera, demencia, fallos endocrinos y renales. La biopsia muscular muestra fibras rojo-rasgadas y COX negativas. Los individuos que padecen esta enfermedad suelen morir antes de los 40 años <sup>(12)</sup>.

#### *1.4.2. Síndrome de oftalmoplegía externa progresiva crónica*

Esta enfermedad se ha asociado fundamentalmente a deleciones grandes y únicas en mtADN que aparecen de forma espontánea sin historia familiar (como ocurría en el caso anterior). Aun así, también se ha relacionado con deleciones múltiples de herencia autosómica recesiva o dominante y a mutaciones puntuales de herencia materna incluida la mutación A3243G causante de MELAS <sup>(2)</sup>. Está caracterizado por oftalmoplegía, ptosis bilateral de los párpados y miopatía. Además, suele ir acompañado de intolerancia al ejercicio y debilidad de las extremidades. En general, es una enfermedad benigna que suele aparecer en la adolescencia o en adultos jóvenes <sup>(2)</sup>.

#### *1.4.3. Síndrome de Pearson*

Este síndrome está causado por deleciones grandes únicas del mtADN de aparición esporádica. Se caracteriza por un síndrome de anemia sideroblástica refractaria en la infancia con vacuolización de precursores medulares y disfunción pancreática exocrina. La anemia macrocítica severa, dependiente de transfusiones, comienza en la primera infancia y se asocia con un grado variable de neutropenia y trombopenia <sup>(13)</sup>. Los niños que la padecen suelen morir antes de los 3 años <sup>(2)</sup>.

#### *1.1.4. Síndrome de epilepsia mioclónica con fibras rojo-rasgadas (MERRF)*

La mayoría de los casos de MERRF (80%) están causados por la mutación A8344G localizada en el gen del tARN<sup>Lys</sup>, pero también se han encontrado otras mutaciones más minoritarias en el mismo gen. Todas las mutaciones están en forma heteroplásmica y el porcentaje de mtADN dañado varía entre individuos.

Entre sus síntomas se encuentran: debilidad muscular, epilepsia mioclónica, convulsiones generalizadas, ataxia, y miopatía mitocondrial con presencia de fibras rojo-rasgadas.

#### *1.1.5. Neuropatía, ataxia y retinopatía pigmentaria (NARP)*

Esta enfermedad está causada por una mutación puntual T8993G/C en el gen codificante de la subunidad 6 de la ATP sintetasa (ATP6) <sup>(2)</sup>. Se caracteriza por un síndrome neurológico variable que comprende retinopatía pigmentaria típica, ataxia, convulsiones, demencia, debilidad muscular neurogénica proximal, neuropatía sensorial y retraso del desarrollo <sup>(15)</sup>.

#### *1.1.6. Síndrome de Leigh de herencia materna (MILS)*

Esta enfermedad está causada por una mutación puntual T8993G/C en el gen codificante de la subunidad 6 de la ATP sintetasa (ATP6), igual que en el caso anterior. El síndrome de Leigh, es una enfermedad neurodegenerativa multisistémica muy grave, cuyas manifestaciones clínicas más evidentes son: disfunciones del tallo cerebral y de los ganglios de la base, desmielinización, regresión psicomotora, retraso en el desarrollo, convulsiones, ataxia, neuropatía periférica, etc. Esta patología suele aparecer en el primer año de vida <sup>(2)</sup>.

#### *1.1.7. Diabetes de herencia materna con sordera (MIDD)*

En este caso de diabetes, encontramos la mutación A3243G en el gen del tARN<sup>Leu</sup>(UUR) (la misma está descrita en el Síndrome MELAS). Clínicamente se caracteriza por diagnóstico de diabetes antes de los 40 años, antecedentes familiares maternos de diabetes, asociación a sordera neurosensorial y evolución a la insulinopenia <sup>(16)</sup>.

#### *1.1.8. Neuropatía óptica hereditaria de Leber (LHON)*

Las responsables más frecuentes de esta patología son tres mutaciones, G3460A, G11778A y T14484C, en genes localizados en el complejo I del sistema OXPHOS. Se caracteriza por neuropatía óptica bilateral aguda o subaguda con atrofia óptica, pérdida repentina de la visión central, edema del disco óptico, microangiopatía y un defecto del visual central campo (17,18).

## 1.5. El Síndrome MELAS

El síndrome MELAS (encefalopatía mitocondrial, acidosis láctica y episodios similares a apoplejía) es un síndrome multisistémico que se caracteriza por episodios de accidentes cerebrovasculares, típicos antes de los 40 años, encefalopatía caracterizada por crisis epilépticas focales o generalizadas, acidosis láctica y/o fibras rojo rasgadas. Además, han de presentar dos de los siguientes: baja estatura, demencia, cefaleas recurrentes, desarrollo normal psicomotor y vómitos <sup>(19)</sup>.

La variante patógena más común, presente en alrededor de un 80% de los individuos con hallazgos clínicos típicos, es una transición de A-G en el nucleótido 3243 (m.3243A>G) del gen tRNA de leucina.

<i>Gen</i>	<i>Proporción de MELAS atribuido</i>	<i>Variante patogénica detectada</i>
<i>MT-TL1</i>	~80%	m.3243A>G
<i>MT-TL1</i>	~7.5%	m.3271T>C
<i>MT-TL1</i>	<5%	m.3252A>G
<i>MT-ND5</i>	<15%	m.13513G>A

***Tabla 1.- Proporción de las variantes patogénicas causantes de síndrome de MELAS <sup>(19)</sup>.***  
*Se muestran las variantes más frecuentes, las que afectan al gen MT-TL1 (tRNA de Leucina 1). También, por presentar una frecuencia superior al resto, la mutación que afecta al MT-ND5 (subunidad 5 del complejo I), ha sido reportada con frecuencia creciente en individuos con MELAS aislados o con síndromes de superposición. Existen múltiples mutaciones que, por su rareza, no se han incluido en esta tabla.*

Aunque la incidencia en las enfermedades mitocondriales varía dependiendo de la metodología, la geografía y el grupo de sujetos, podemos encontrar estudios que describen una prevalencia total de enfermedad mitocondrial de 12,48 por 100.000 en Inglaterra <sup>(20)</sup>

Un estudio localizado en Finlandia estimó que la prevalencia de la variante patogénica m.3243A>G era mayor o igual a 18.4 de cada 100.000 <sup>(21)</sup>.

Los síntomas están definidos por los tres criterios invariables de MELAS: episodios similares a apoplejía antes de los 40 años, encefalopatía caracterizada por convulsiones, demencia o ambas y acidosis láctica, fibras rojas rasgadas o ambas. La acidosis láctica, medida en suero o en líquido cefalorraquídeo, aparece en un 94% de los casos, siendo casi un hallazgo universal, así como las convulsiones, dándose en un 96% de los casos, y los episodios similares a apoplejía (99% de los casos) <sup>(22)</sup>.

La edad de comienzo de los síntomas fue descrita inicialmente en un rango que va desde los 2 años hasta los 60. A pesar de ello, casi un 70% de los pacientes presentan los síntomas iniciales entre los 2 y los 20 años de edad <sup>(25)</sup>.

Cuando hablamos de episodios similares a apoplejía, clínicamente se caracterizan por episodios de afasia, al menos parcialmente reversible, hemianopsia y ceguera cortical que, eventualmente, se acumularán de forma progresiva, resultando en déficits neurológicos y demencia. En MELAS estos eventos son a menudo reversibles, aunque típicamente habrá una acumulación gradual visible en radiología de la carga de la enfermedad a través del tiempo. La afectación cortical puede ser de cualquier tamaño o gravedad aparente, pero típicamente se presenta en un patrón asimétrico que afecta predominantemente a los lóbulos temporal, parietal y occipital <sup>(18,19)</sup> y, a menudo, se limita a la corteza.

Los signos más sutiles de la enfermedad pueden pasar desapercibidos antes de la aparición de un deterioro neurológico evidente debido a los episodios similares a apoplejía.

<b><i>Tipo de presentación</i></b>	<b><i>Incidencia (%)</i></b>
<b><u>Neurológica/neuropsiquiátrica</u></b>	
<i>Dolor de cabeza</i>	91
<i>Pérdida sensorial</i>	48
<i>Depresión</i>	32



<i>Problemas de memoria</i>	71
<b><u>Visceral</u></b>	
<i>Intolerancia al ejercicio</i>	93
<i>Pérdida auditiva</i>	77
<i>Baja estatura</i>	33
<i>Retraso del crecimiento</i>	52
<i>Diabetes</i>	33
<i>Enfermedad cardíaca</i>	21
<i>Alteración gastrointestinal</i>	64

**Tabla 2.- Incidencia de síntomas presentes en el síndrome de MELAS** <sup>(23)</sup>.

Aunque menos específicas, la pérdida auditiva neurosensorial, las cefaleas migrañosas, la neuropatía periférica, la depresión y otros trastornos psiquiátricos, se ven comúnmente en MELAS, no sólo en pacientes plenamente sintomáticos, sino también en los miembros de la familia oligosintomáticos que no manifiestan el fenotipo completo <sup>(19)</sup>.

La demencia, proveniente tanto de la acumulación de lesiones corticales como de la disfunción neuronal subyacente, es una característica importante y común de este síndrome. Las deficiencias cognitivas, incluyendo las del lenguaje, la percepción y la memoria, han sido ampliamente reconocidas como complicaciones de las enfermedades mitocondriales desde las primeras descripciones de las mismas.

Una de las manifestaciones sistémicas más comunes de MELAS es la diabetes mellitus. La asociación entre la diabetes mellitus y la mutación mitocondrial m.3243A>G, la más frecuente en el síndrome MELAS, ha sido reconocida desde la descripción inicial del síndrome <sup>(24)</sup>. Muchos informes durante las décadas siguientes han establecido firmemente la asociación entre MELAS, la mutación m.3243A>G y la diabetes mellitus.

La diabetes mellitus también puede ser una manifestación aislada de la enfermedad mitocondrial debido a la mutación m.3243A> G o parte de una presentación oligosintomática de esta mutación.

Otra manifestación sistémica ampliamente reconocida de MELAS es el retraso del crecimiento. Los individuos con MELAS son típicamente más bajos en relación con otros miembros de la familia no afectados. Esto es a menudo, junto con la deficiencia auditiva neurosensorial, migrañas, dificultades de aprendizaje y la intolerancia al ejercicio, la manifestación clínica inicial de la enfermedad<sup>(19)</sup>.

Debido a los altos requerimientos energéticos del músculo cardíaco, la enfermedad cardíaca también se encuentra entre los síntomas de MELAS. Tanto las cardiomiopatías dilatadas como las hipertróficas se han descrito frecuentemente en asociación con el síndrome de MELAS, aunque la patología más comúnmente descrita es una hipertrofia concéntrica no obstructiva.

La miopatía se ha reconocido durante mucho tiempo como una característica principal y común de las enfermedades mitocondriales y ha sido bien descrita en el contexto de MELAS. La intolerancia al ejercicio es una queja frecuentemente referida por pacientes con la mutación m.3243A> G, ya se encuentren oligosintomáticos o presenten la sintomatología típica de MELAS<sup>(19)</sup>.

Los individuos afectados y sus familiares en riesgo deben ser seguidos a intervalos regulares para monitorizar la progresión y la aparición de nuevos síntomas. Se recomiendan evaluaciones oftalmológicas, cardiológicas (electrocardiograma y ecocardiograma) y endocrinológicas (glucemia en ayunas y TSH) anuales<sup>(19)</sup>.

El síndrome MELAS no tiene tratamiento específico, siendo su manejo puramente sintomático: la pérdida auditiva neurosensorial se ha tratado con implante coclear; las convulsiones responden a la terapia anticonvulsiva tradicional; la diabetes mellitus se controla mediante modificaciones en la dieta, hipoglucemiantes orales o terapia con insulina. La migraña y las manifestaciones cardíacas se tratan igual que en la población general<sup>(19)</sup>.

## 2. Objetivos

El objetivo principal de este trabajo es buscar una correlación entre el fenotipo expresado y el porcentaje de mtDNA mutado hallado en pacientes diagnosticados de síndrome de MELAS. Con ello, se busca demostrar que a mayor gravedad en el fenotipo de estos pacientes, mayor será el porcentaje de mutación que presentan.

Como objetivo secundario proponemos buscar una correlación entre los síntomas, la gravedad de la enfermedad y el umbral de heteroplasmia

## 3. Material y métodos

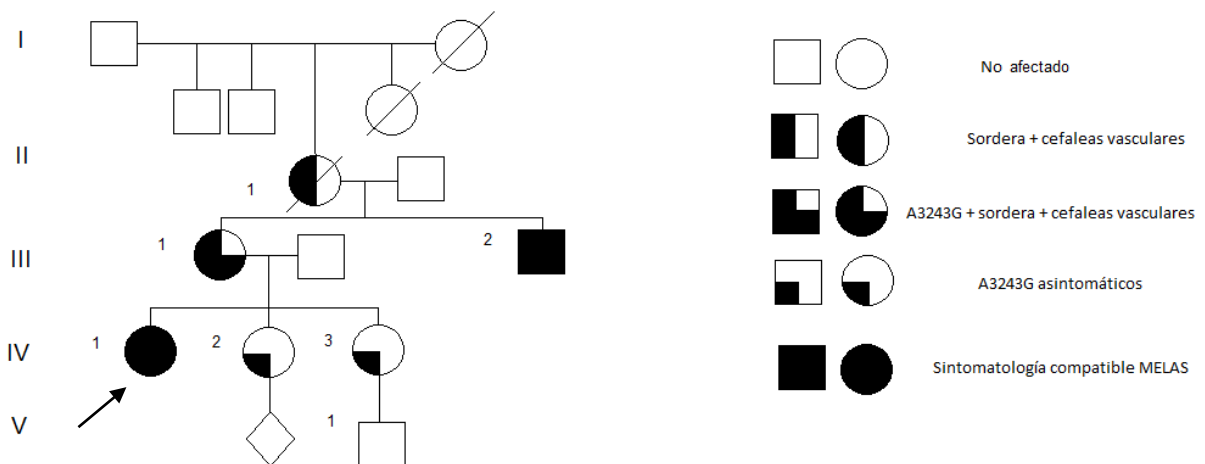
Para llevar a cabo lo anteriormente nombrado, se ha revisado el árbol genealógico de 8 familias con uno o varios miembros afectados por la enfermedad y se ha descrito la clínica también que manifiestan. También se ha comparado el fenotipo presentado entre los distintos pacientes dentro de una misma familia y con los de las demás familias. Todas ellas presentan la mutación más frecuentemente encontrada en este síndrome: m.3243A> G.

La información obtenida acerca de estas 8 familias se encuentra registrada en los archivos del Departamento de Bioquímica, Biología molecular y celular de la facultad de Veterinaria de Zaragoza. En principio se incluyeron 14 familias, siendo descartadas 4 por falta de datos de carácter clínico. Otras 2 fueron descartadas cuando, al revisar la información disponible sobre ellas, se encontró que el diagnóstico definitivo fue de MIDD y no de MELAS.

No existe ninguna relación de consanguinidad entre los pacientes estudiados en este trabajo.

### 3.1. Casos clínicos

#### Familia 1:



**I.1.** Frecuentes cefaleas vasculares, sordera que refiere inicio hace más de 10 años. Probable diabetes.

**II.1.** Probable sordera (pendiente de potenciales evocados para su objetivación). Cefaleas vasculares. Alteración vesícula biliar.

**II.2.** Probable anoxia neonatal, tres accidentes de tráfico, epilepsia mioclónica (tonicoclónicas parciales y generalizadas) desde los 18 años, sordera neurosensorial progresiva determinante de cofosis bilateral, deterioro progresivo de las funciones cognitivas.

**III.1.** Cefaleas vasculares desde los 11 años. El 8 de Marzo de 1994 presenta parestesias y pérdida de fuerza en extremidad superior derecha y trastorno del lenguaje, apreciándose en la RMN imagen cortico-subcortical compatible con infarto sin distribución vascular. Acidosis láctica confirmada en sangre y líquido cefalorraquídeo. Poliosis derecha y vitíligo de predominio apendicular y facial.

Muestra analizada: sangre. En IV.1 biopsia coriónica, análisis de mtDNA.

	Porcentaje de mutación
II.1	5-10%
II.2	20-25%
III.1	45-50%
III.2	10%
III.3	10%
IV.1	ID

### Familia 2:



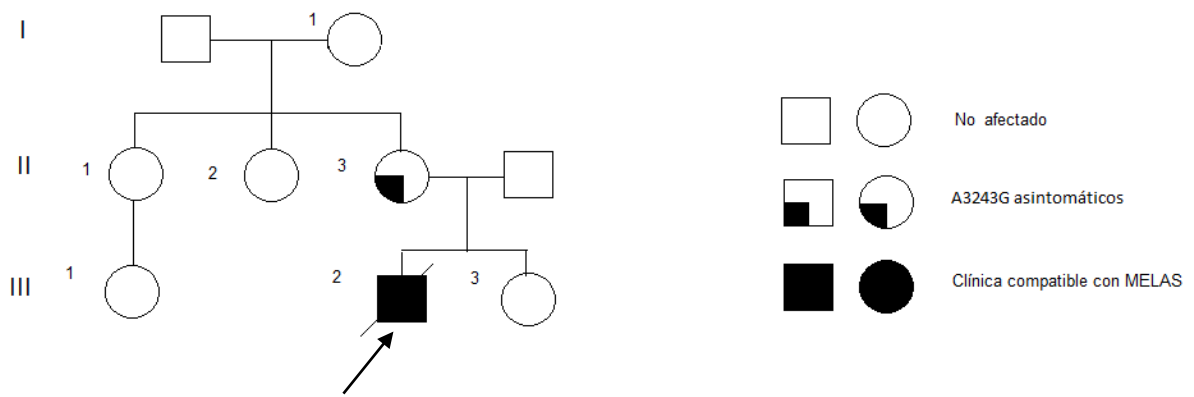
**I.1.** Epilepsia de aparición en el adulto, rebelde al tratamiento, tiene diabetes mellitus y ha sufrido un accidente cerebrovascular con 40 años de edad. Ha sido diagnosticada de enfermedad mitocondrial.

**II.1.** Desde la infancia, peso exageradamente bajo para su talla. Sin otra clínica hasta 1996, cuando sufrió un episodio consistente en hemianopsia derecha con fotopsia luminosa circular en la misma área, intermitente, con una duración mayor de 24 horas. Ante la respuesta a tratamiento antiepiléptico y la normalidad de las pruebas de imagen, se interpretó como crisis parcial occipital. Repitió un segundo episodio similar poco después. Además, refiere ocasionalmente perder el hilo de la conversación, quedándose con la mirada fija. A lo largo del último año, le notan globalmente más torpe y ha presentado ptosis progresiva. Se ha detectado un nivel alto de ácido láctico en sangre. En la exploración física amiotrofia global, con facies miopática, ptosis palpebral bilateral y abolición de reflejos en extremidades superiores.

Muestra analizada: sangre

	Porcentaje de mutación
I.1	28%
II.1	24%
II.2	25%

Familia 3:

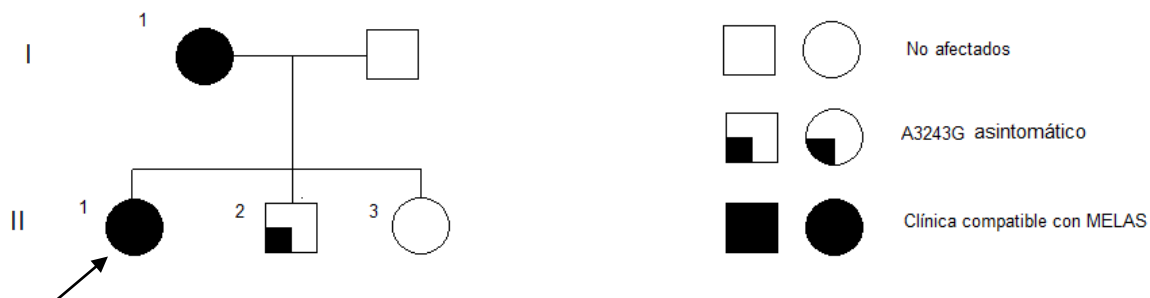


**III.2.** Epilepsia de foco occipital, crisis de migraña, pérdida de visión en ojo izquierdo. Ácido láctico elevado en sangre y líquido cefalorraquídeo. RMN con imagen típica de MELAS en este episodio.

Muestra analizada: sangre. III.3 músculo, orina, mucosa bucal.

	Sangre	Músculo	Orina	Mucosa bucal
I.1	ID			
II.1	ID			
II.2	ID			
II.3	4%			
III.1	ID			
III.2	23%	53%		
III.3	ID	ID	ID	ID

Familia 4:



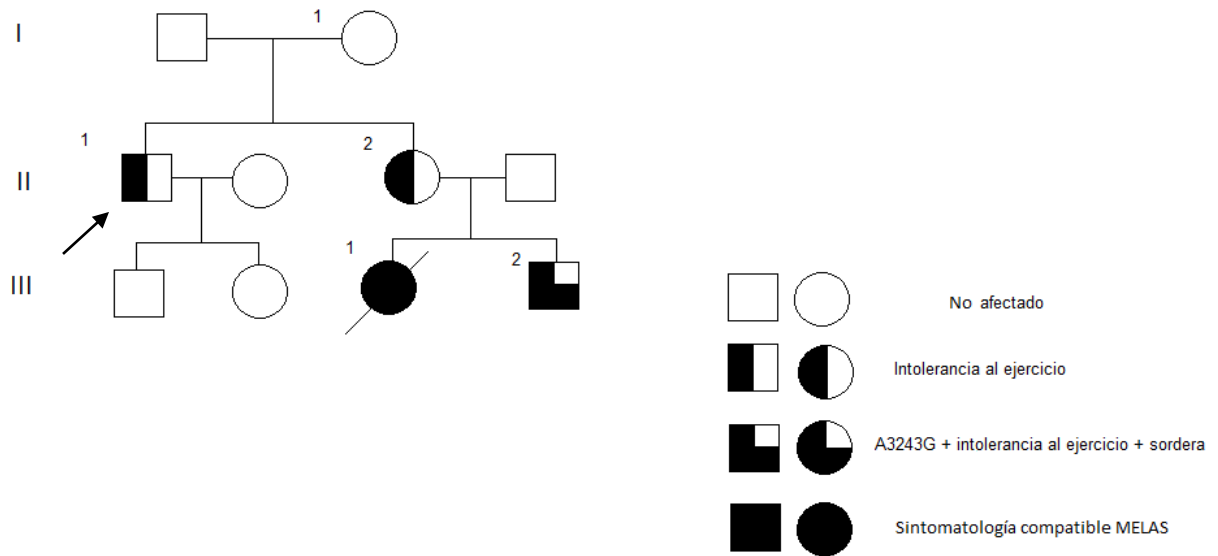
**I.1.** Ptosis palpebral bilateral, mialgias al ejercicio y patrón miopático en Electromiograma.

**II.1.** Dos episodios similares a apoplejía. Un episodio de convulsiones generalizadas, hipoacusia leve bilateral y patrón miopático en EMG.

Muestras analizadas: sangre en todos, músculo en I.1 y II.1. Piel y grasa en II.1

	Sangre	Músculo	Piel	Grasa
I.1	10%	11%		
II.1	20%	70%	25%	70%
II.2	26%			
II.3	ID			

Familia 5:



**I.1.** Migraña, alteraciones retinianas (posible asociación a la edad).

**II.1.** Cansancio en los brazos durante el trabajo y cierta fatiga en el deporte.

**II.2.** Fatiga, mialgias e intolerancia al ejercicio. Niveles de ácido láctico elevados, discreta debilidad muscular en musculatura proximal de extremidades inferiores, posible retinopatía.

**III.1.** Fallecida a los 11 años en Suiza. Refieren que presentó “lesiones cerebrales”. Biopsia muscular diagnóstica de MELAS.

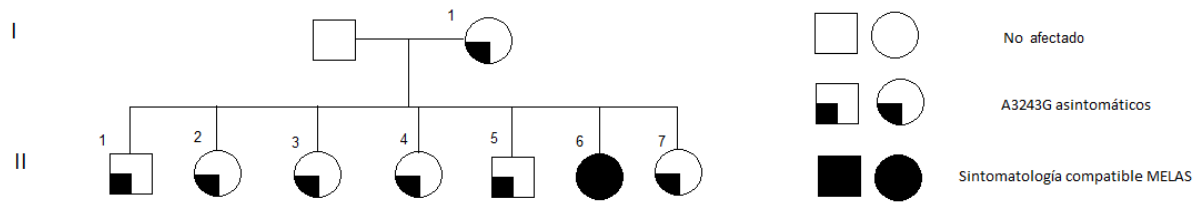
**III.2.** Sordera neurosensorial. Cierta intolerancia al ejercicio.

Muestra analizada: sangre

	Porcentaje de mutación
I.1	ID
II.1	ID
II.2	ID
III.2	20%



## Familia 6:

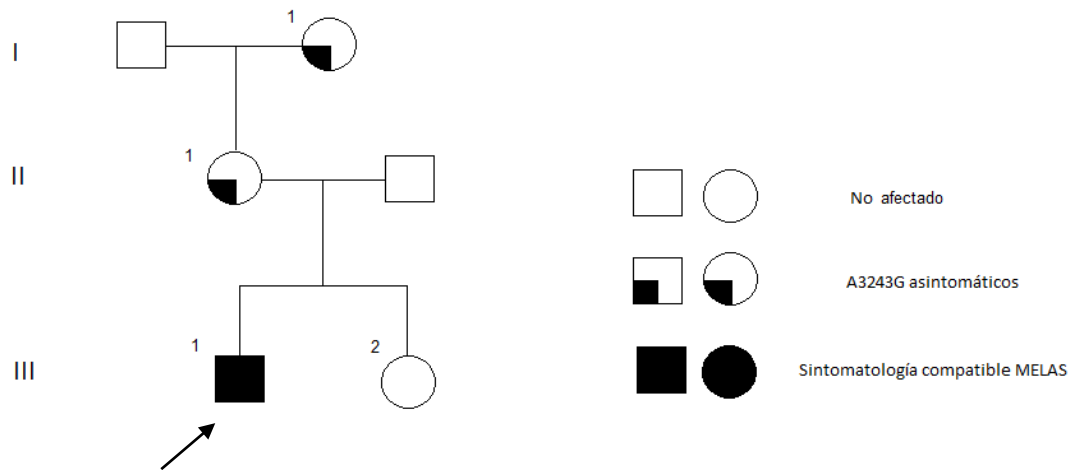


**II.6:** Antecedentes de crisis convulsivas (controladas durante 8 meses). Tras ello, empezó con crisis cada mes y medio, varias veces al día. Se le trató con Difenhidantoína. Se le hizo TC de resultado normal y un electroencefalograma (EEG) en el que se observó actividad epileptogénica en región temporal derecha. Su primer ingreso fue por hipertensión intracraneal (HIC) manifestada por vómitos, somnolencia, crisis convulsivas, cefalea y visión borrosa. En TC: área de infarto parietooccipital izquierda. No afectación cardiológica ni hematológica. 4 meses después presenta nuevos síntomas de HIC. En TC: infarto en zona temporoparietal derecha. Ácido láctico en sangre es de 24,9 mm/dL (valores normales: 3 – 12 mm/dL). Se hace biopsia muscular, resultando compatible con MELAS. Posteriormente se le hicieron: dos RMN que fueron normales; campimetría donde se objetivó hemianopsia en ojo derecho, potenciales evocados visuales con patología desmielinizante bilateral, potenciales evocados auditivos con hipoacusia media bilateral; medición de ácido láctico: 5.5 mmol/L (valor normal 0,4 – 2 mmol/L). Evolución: constantes ingresos por vómitos persistentes, bajada ponderal importante e hiponatremia persistente. Gastritis crónica considerada manifestación de lactoacidosis.

Muestra analizada: sangre

	Porcentaje de mutación
I.1	1%
II.1	3%
II.2	3%
II.3	5%
II.4	6.5%
II.5	16%
II.6	31%
II.7	22.5%

Familia 7:



**III.1.** Niño de 8 años que acude por debilidad y fatigabilidad muscular que los padres refieren desde los 3 años. Embarazo, parto y periodo neonatal normal. Desarrollo psicomotor normal, con marcha autónoma desde los 14 meses; inicio del lenguaje pronto. Desde los 3 años los padres refieren que el niño está más vago, cansado, mal comedor.

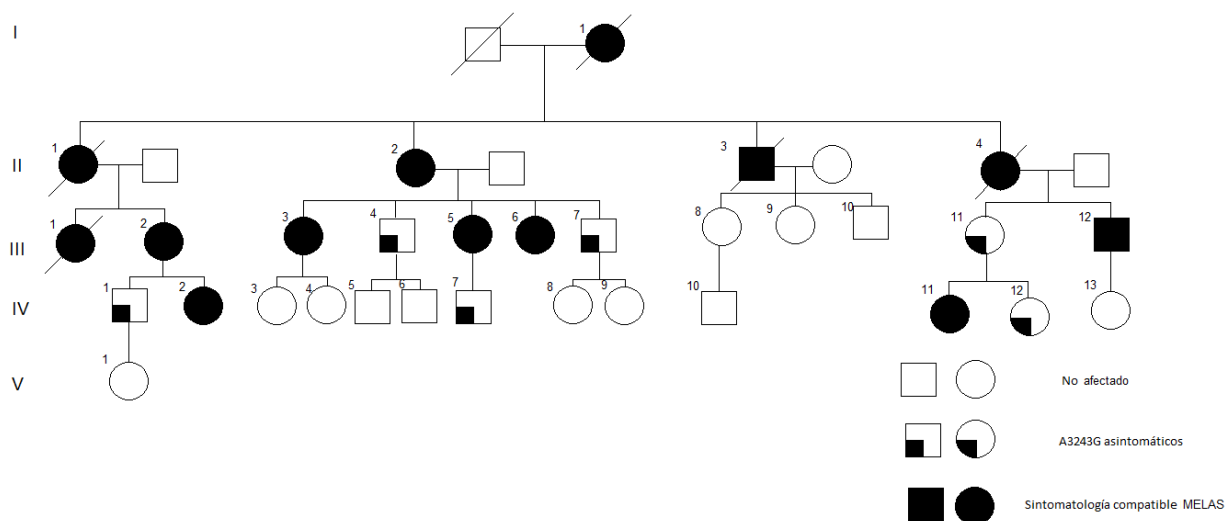
En el momento del estudio: no corre, sube y baja escaleras con dificultad, se cansa tras caminar 300 metros, debilidad en brazos. Escolarización normal para su edad. En la exploración física se objetiva leve hipomimia facial, debilidad muscular proximal. Reflejos osteotendinosos presentes. Signo de Gowers +. No hepatoesplenomegalia.

En pruebas complementarias: elevación del ácido láctico (43) y CK (409).

Muestras analizadas: III.1 músculo; I.1, II.1, III.3 sangre, mucosa bucal, pelo, orina

	Sangre	Mucosa bucal	Pelo	Orina	Músculo
I.1	ID	<1%	<1%	<5%	
II.1	10%	5-10%	10%	35%	
III.1					70%
III.2	ID	ID	ID	ID	

## Familia 8:



**I.1.** Migraña y sordera desde los 30 años. Murió a los 90 años.

**II.1.** Muerta a los 54 años, probablemente a causa del síndrome MELAS (episodio similar a apoplejía). Presentaba migraña, sordera, insuficiencia renal e hipertensión arterial.

**II.2.** Clínica de migraña, intolerancia al ejercicio, fatiga, retinopatía, sordera, diabetes y bypass coronario.

**II.3.** Murió de cáncer de páncreas. Tenía migraña, sordera, hipertensión arterial, diabetes, fatiga, episodios similares a apoplejías y polineuropatía. Usuario de silla de ruedas. Biopsia muscular diagnóstica de MELAS.

**II.4.** Muerta a los 60 años debido al síndrome MELAS. Presentaba migraña, sordera, hipertensión arterial, diabetes, insuficiencia cardíaca con hipertrofia ventricular izquierda con función sistólica conservada e hipertensión pulmonar asociada, trastorno de conducta de numerosos años de evolución, atribuida a un trastorno conversivo, miopatía mitocondrial (diagnosticada mediante biopsia muscular), ataxia, retinopatía. Durante un deterioro progresivo de las funciones superiores se le realizó un estudio. Se objetivó una afectación global de todas

las funciones cognitivas, compatible con deterioro generalizado cortico-subcortical difuso. Se le realizó un electroencefalograma (EEG) que mostró un enlentecimiento del ritmo de base, actividad epileptiforme bilateral de predominio parietal derecho y actividad mioclónica. Todo esto era sugestivo de epilepsia generalizada con disfunción cerebral difusa. Se le realizó también una RMN donde se vio una dilatación de los 4 ventrículos, sugestivo de atrofia cerebral global y calcificación de los ganglios de la base. También presentaba insuficiencia renal rápidamente progresiva.

Con 60 años ingresó en el Hospital Clínic de Barcelona por pérdida brusca del nivel de conexión con el medio. En la exploración física se encontró un estado de conciencia fluctuante, desorientada en tiempo y espacio, durante las fases de mejora, estado de consciencia estuporoso episódicamente. No había focalidad neurológica. Globo vesical que requiere la colocación de una sonda urinaria. Se le realizó un TC craneal que mostró una hemorragia parietal derecha con efecto masa. Debido a ello y al deterioro que la paciente presentaba por su enfermedad mitocondrial, se decidió poner tratamiento sintomático.

**III.1.** Muerta a los 39 años por síndrome MELAS (diagnóstico post mortem). Presentaba migraña, fatiga, hipertensión arterial, sordera, diabetes, ataxia, epilepsia, episodios similares a apoplejía.

**III.2.** Clínica de migraña, debilidad muscular, sordera e hipertensión arterial.

**III.3.** Presencia de migrañas y calambres.

**III.5.** Clínica de migraña, calambres, sordera, diabetes, depresión, dolor abdominal, mioclonus.

**III.6.** Paciente con sordera, migraña, intolerancia al ejercicio, fatiga EMG anormal, ptosis, convulsiones, depresión, dolor abdominal, acidosis láctica, elevación de CK.

**III.12.** Sordera, calambres, fatiga, baja talla, trastornos psiquiátricos. EEG con respuesta paroxística.

**IV. 11.** Migraña, acidosis láctica. RMN cerebral: normal. 8 años en el momento del estudio.

**IV.12.** Asintomática. RMN cerebral: normal. 6 años en el momento del estudio

Se tomaron muestras de sangre, orina, saliva y mucosa bucal. En aquellos pacientes fallecidos, se les realizó biopsia muscular.

	Sangre	Orina	Saliva	Mucosa bucal
I.1	NE	NE	NE	NE
II.1	NE	NE	NE	NE
II.2	No detectable	16%		<5%
II.3	NE	NE	NE	NE
III.1	NE	NE	NE	NE
III.2	13%	4%	20%	13%
III.3	<5%	No detectable	No detectable	No detectable
III.4	<5%	9%		
III.5	21%	25%	14%	20%
III.6	<5%	54%	13%	17%
III.7	<5%	48%	<5%	No detectable
III.11	18%	23%	12%	5%
III.12	28%	65%	27%	32%
IV.1	<5%	21%	9%	15%
IV.2	10%	51%	17%	30%
IV.7	<5%	15%		<5%
IV.11	33%	75%	47%	31%
IV.12	47%	<5%	55%	32%

## 4. Resultados

Tras revisar los pedigrís de las 8 familias disponibles, se han encontrado un total de 48 pacientes que presentan distintos grados de heteroplasmia para la mutación m.3243A > G en el gen tRNA<sup>Leu</sup>, los cuales han sido recogidos en la siguiente tabla junto con las manifestaciones clínicas presentes.

<i>Familia</i>	<i>Individuo</i>	<i>% de mutación</i>	<i>Manifestaciones</i>
<i>F1</i>	1 I.1/F	NE	Cefalea, sordera, diabetes
	2 II.1/F	5-10%	Cefalea, sordera, alteración de vesícula biliar
	3 II.2/M	20-25%	Epilepsia mioclónica juvenil, sordera, progresivo deterioro de funciones cognitivas
	4 III.1/F	45-50%	Cefalea, parestesias, pérdida de fuerza, alteración del lenguaje, RMN compatible con infarto sin distribución vascular, acidosis láctica en sangre y LCR
	5 III.2/F	10%	Asintomática
	6 III.3/F	10%	Asintomática
<i>F2</i>	1 I.1/F		Epilepsia de aparición en adulto, diabetes mellitus, accidente cerebrovascular
	2 II.1/M		Talla baja, epilepsia, amiotrofia global, ptosis palpebral bilateral, acidosis láctica
	3 II.2/M	25%	Asintomático
<i>F3</i>	1 II.3/F	4%	Asintomática
	2 III.2/M	NE	Epilepsia de foco occipital, migraña, pérdida de visión, acidosis láctica
<i>F4</i>	1 I.1/F	11%	Ptosis palpebral bilateral, mialgias al ejercicio y miopatía
	2 II.1/F	70%	Episodios similares a apoplejía, episodio de convulsiones generalizadas, hipoacusia leve bilateral y miopatía
	3 II.2/M	26%	Asintomático
<i>F5</i>	1 I.1/F	ID	Migraña, alteración retiniana
	2 II.2./F	ID	Fatiga, mialgias e intolerancia al ejercicio, acidosis láctica, discreta debilidad muscular, posible retinopatía
	3 III.1/F	NE	Episodios similares a apoplejía, muerte a los 11 años por MELAS
	4 III.2/M	20%	Sordera, intolerancia al ejercicio
	1 I.1/F	1%	Asintomática

F6	2	II.1/M	3%	Asintomático
	3	II.2/F	3%	Asintomática
	4	II.3/F	5%	Asintomática
	5	II.4/F	6,5%	Asintomática
	6	II.5/M	16%	Asintomático
	7	II.6/F	31%	Epilepsia, episodios similares a apoplejía, baja talla, pérdida visual, sordera, acidosis láctica, gastritis crónica
	8	II.7/F	22.5%	Asintomática
	F7	1	I.1/F	< 5%
2		II.1/F	35%	Asintomática
3		III.1/M	70%	Debilidad y fatigabilidad muscular, acidosis láctica
F8	1	I.1/F	NE	Migraña y sordera desde los 30 años
	2	II.1/F	NE	Muerta a los 54 años, por síndrome MELAS (episodio similar a apoplejía). Migraña, sordera, insuficiencia renal e hipertensión arterial.
	3	II.2/F	ID	Migraña, intolerancia al ejercicio, fatiga, retinopatía, sordera, diabetes y bypass coronario.
	4	II.3/M	NE	Migraña, sordera, hipertensión arterial, diabetes, fatiga, episodios similares a apoplejías y polineuropatía. Usuario de silla de ruedas
	5	II.4/F	NE	Muerta por MELAS a los 60 años. Diabetes, migraña, hipertensión arterial, insuficiencia cardíaca, trastornos psiquiátricos, sordera, ataxia, retinopatía, miopatía, epilepsia, episodios similares a apoplejía.
	6	III.1/F	NE	Muerta a los 39 por MELAS. Migraña, sordera, debilidad muscular, diabetes, episodios similares a apoplejía, ataxia, hipertensión arterial.
	7	III.2/F	13%	Migraña, debilidad muscular, sordera e hipertensión arterial.
	8	III.3/F	<5%	Migraña y calambres musculares
	9	III.4/M	<5%	Asintomático
	10	III.5/F	21%	Migraña, calambres, sordera, diabetes, depresión, dolor abdominal, mioclonus
	11	III.6/M	<5%	Sordera, migraña, intolerancia al ejercicio, fatiga, EMG anormal, ptosis, convulsiones, depresión, dolor abdominal, acidosis láctica,

			elevación de CK
12	III.7/M	<5%	Asintomático
13	III.11/F	18%	Asintomática
14	III.12/M	28%	Sordera, calambres, fatiga, baja talla, trastornos psiquiátricos. EEG con respuesta paroxística
15	IV.1/M	<5%	Asintomático
16	IV.2/F	10%	Asintomática
17	IV.7/M	<5%	Asintomático
18	IV.11/F	33%	Migraña, acidosis láctica. RMN cerebral: normal. 8 años en el momento del estudio
19	IV.12/F	47%	Asintomática. RMN cerebral: normal. 6 años en el momento del estudio

**Tabla 3.- Pacientes con presencia de la mutación m.3243A > G.** Su clasificación se ha realizado en base a: caso, sexo, porcentaje de mutación hallado en sangre y signos y síntomas. NE: no estudiado, ID: indetectable. F: femenino. M: masculino.

Se han incluido tanto los individuos que presentaban la mutación como aquellos que presentaban clínica compatible con la enfermedad y no fueron estudiados, dado que la recurrencia o diagnóstico familiar es uno de los Criterios de enfermedad mitocondrial (MDC) de Morava <sup>(25)</sup>. Así mismo, a pesar de que el porcentaje de heteroplasmia en orina suele ser más elevado que el presente en sangre <sup>(26)</sup>, en muchos de los casos sólo se disponía de muestras de este último tejido, por lo que se ha usado éste en la tabla. Sin embargo, como se comentará más adelante, en muchos casos en los que los individuos estudiados presentaban clínica que podría deberse por la presencia de mtDNA mutado, no se detectó éste en los estudios de muestras sanguíneas. Por tanto, frente a la evidencia de que las muestras de orina presentan un porcentaje más elevado que el aparece en sangre, los resultados de este estudio serían más concluyentes si se tuviese disponibilidad de muestras de orina de todos los pacientes.

Partimos de un total de 54 individuos estudiados. De ellos, resultan positivos para la mutación m.3243A > G en el gen tRNA<sup>Leu</sup> 48 de ellos, 32 mujeres y 16 hombres. No existe consanguinidad en ninguna de estas familias.



En la primera familia se observa la distribución de la mutación en cuatro generaciones. Se puede ver que, a pesar de que la madre del caso índice presenta un porcentaje de mutación en sangre del 5 al 10%, su primera hija llega hasta 45 - 50%, mostrando clínica característica del síndrome MELAS desde edades tempranas. En contraposición, sus hermanas siguen una línea similar a la madre en cuanto a porcentaje de mutación, con un 10% cada una, pero a diferencia de ella, se encontraban asintomáticas en el momento del estudio. En la última generación hallamos el caso del hijo de la menor de las hermanas, el cual fue estudiado durante el embarazo con biopsia coriónica y tras el nacimiento, sin hallarse mtDNA mutado. La hermana mediana estaba embarazada pero sin embargo parece que no se realizó un estudio como en el caso IV.1. Por otro lado, el tío del caso índice es el otro miembro de la familia que presenta clínica característica de MELAS. Sin embargo, en este caso, el porcentaje de mutación encontrado no era tan alto en sangre (20-25%) comparándolo con el que presenta el caso índice.

En los casos de las familias 2 y 4 vemos árboles genealógicos compuestos sólo por dos generaciones, donde las madres están afectadas y los hijos presentan diferentes fenotipos, desde el patológico compatible con MELAS en ambos casos índice hasta uno de los hermanos asintomático y sin mutación detectable en sangre en la familia 4. Sin embargo, llama la atención el hecho de que en ambos casos índices, el porcentaje de mutación en sangre es menor del que presentan sus hermanos, estando estos últimos asintomáticos. No obstante, la diferencia entre el porcentaje que presenta el caso índice de la familia 4 en sangre y en orina es considerable, por lo que para saber si realmente el hermano tiene un mayor porcentaje de mutación, sería necesario una comparativa con muestras de orina.

En la familia 3 encontramos dos posibilidades: o bien que la madre del caso índice se trate de mutación de novo o bien que en ella y el resto de su familia el porcentaje en sangre sea indetectable, pero en otros tejidos sí podamos encontrarlo. En este caso, el único miembro de la familia que presenta sintomatología es el caso índice, el cual fallece a causa de MELAS. La madre presenta sólo un 4% de mutación en sangre y sin embargo, su hijo, a pesar de que no se dispone del porcentaje exacto, ha fallecido a corta edad por MELAS.

Esto se podría explicar por la característica que presenta el mtDNA de distribuirse de forma aleatoria entre las células hijas al dividirse. En el caso índice se podría haber acumulado una gran cantidad de la población mutante de mtDNA de la madre, aunque en ella sea una cantidad poco significativa.

En la familia 5 se encuentra que, tanto el caso índice como su hermana, presentan clínica que podría corresponder con MELAS, sobre todo en el caso de ella. Sin embargo, en sangre no se detecta mtDNA mutado ni en ellos ni en su madre. Se inició la investigación de MELAS a raíz del fallecimiento de la sobrina del caso índice en Suiza con 11 años. Por ello, la información disponible sobre su caso está basada en lo que la familia cuenta y, por tanto, es bastante limitada. De lo que sí existe certeza es que a la niña se le realizó una biopsia muscular que resultó positiva para MELAS. En el estudio que se le hizo posteriormente a su hermano, se encontró un 20% de la mutación en sangre, estando este asintomático en el momento que se realizó. A pesar de que no se encontrara mutación en el caso índice, su hermana y su madre, es muy probable que en otros tejidos sí se pudiese encontrar mutación. Además la madre de la niña fallecida presenta mayor cantidad de síntomas e incluso ácido láctico elevado en sangre, datos que apoyarían dicha hipótesis.

La familia 6 es un claro ejemplo de la forma heterogénea en la que se distribuye el mtDNA mutado. Se puede comparar la situación entre los hijos de una mujer con un 1% de mutación detectado en sangre. De siete hijos, sólo una de ellas presenta clínica característica de MELAS, estando el resto asintomáticos en el momento del estudio. Los primeros de ellos presentan un 3% de mutación, siendo los que menos, mientras que el caso índice alcanza un 31%. A pesar de que en principio parece que el porcentaje aumenta según van naciendo los hijos, esta tendencia no se cumple al tener la menor de las hijas un porcentaje por debajo del que presenta el caso índice.

Con respecto a la familia 7, se observa la distribución de la mutación en tres generaciones. A pesar de que se pudiera pensar en un principio que la heteroplasmia presente va aumentando con el paso de las generaciones, se puede ver que no se cumple al no detectarse mutación en ningún tejido

estudiado en la hermana del caso índice. Éste es el único miembro de la familia que presenta fenotipo patológico, con un comienzo en la infancia.

La familia 8 es la más interesante de todas, puesto que representa a una gran familia, con 19 miembros afectados por MELAS de los cuales 12 presentan síntomas y 7 están asintomáticos. De ellos, tres de las estudiadas murieron a causa del MELAS: II.1, II.4, III.1. Se encuentra además que la mayoría de los miembros sintomáticos (11/12) presentan sobre todo migraña y sordera (9/12). Además, por primera vez aparecen en este estudio síntomas psiquiátricos (4/12), en varios de sus miembros. Se cumple que las muestras en orina presentan mayor porcentaje de mutación exceptuando en 3 casos (III.2, III.3, IV.12) en los que fueron mayores en sangre.

Se puede observar como la primera mujer que presenta la mutación (I.1) la transmite a todos sus hijos, ocurriendo la misma situación con todas sus hijas. En casos donde hay tantos miembros es posible comprobar, como ya se sabía, que esta mutación es de herencia materna, pues ninguno de sus hijos afectados tiene descendencia afectada. Es en la tercera generación cuando aparece el primer caso de una mujer (III.3) que no transmite la mutación a ninguno de sus hijos. Así mismo, se evidencia que las mujeres muertas por MELAS con descendencia (II.1, II.4) sí que tienen al menos uno de sus hijos con altos porcentajes de mutación. Una de ellas, acabó muriendo (III.1) y el otro (III.12) con patología muy llamativa.

En general se podría decir que en numerosas ocasiones el porcentaje de mutación hallada en sangre no se correlacionaba con la sintomatología que presentaban los miembros estudiados. De hecho, en algunos casos con sintomatología e historia familiar muy sugerente de MELAS no se detectaba mutación en sangre. Sin embargo, sí que existía más relación con los porcentajes hallados en orina en aquellos casos en los que contábamos con la muestra de este tejido.

Por tanto, teniendo en cuenta el objetivo principal de este trabajo, se podría afirmar que a mayor grado de mutación presentada en orina, mayor gravedad clínica presentaban los pacientes.

Así mismo, se ha comparado los resultados sobre manifestaciones clínicas obtenidos con los de otro estudio (tabla 1) para ver si existía relación con los 45 pacientes que se examinaron en él. Los resultados fueron los siguientes:

<b><i>Tipo de presentación</i></b>	<b><i>Incidencia <sup>(23)</sup> (%)</i></b>	<b><i>Incidencia (%)</i></b>
<b><u>Neurológica/neuropsiquiátrica</u></b>		
<i>Dolor de cabeza</i>	91	70
<i>Pérdida sensorial</i>	48	37
<i>Depresión</i>	32	15
<i>Problemas de memoria</i>	71	4
<b><u>Visceral</u></b>		
<i>Intolerancia al ejercicio</i>	93	63
<i>Pérdida auditiva</i>	77	63
<i>Baja estatura</i>	33	15
<i>Retraso del crecimiento</i>	52	15
<i>Diabetes</i>	33	33
<i>Enfermedad cardíaca</i>	21	15
<i>Alteración gastrointestinal</i>	64	26

Como se puede observar, el fenotipo de los pacientes del estudio y el de los de este estudio coinciden en las patologías con mayor porcentaje de mutación. La única que no lo hace es la pérdida de memoria. Esto se podría deber a la diferencia entre las poblaciones estudiadas, ya que la de este estudio estaba compuesta principalmente por pacientes adultos y niños.

## 5. Discusión

A pesar de los avances recientes en este campo, el síndrome MELAS sigue siendo desconocido en muchos aspectos. Actualmente, con los medios disponibles, la mejor alternativa para mejorar la supervivencia y la calidad de vida de estos pacientes es el diagnóstico precoz y la prevención de eventos adversos (aquellos que requieren hospitalización de los pacientes y signifiquen un empeoramiento del estado basal de los mismos).

Para el diagnóstico temprano se han desarrollado una serie de cuestionarios que sirven como primer cribado para estos pacientes, siendo estos usados en muchos de los estudios que se han revisado en este trabajo. Para ello, los han puesto a disposición de los servicios de Neurología, tanto pediátrica como para adultos, y aquellos que han obtenido una puntuación por encima de lo normal han sido estudiados en busca de este síndrome <sup>(27)</sup>. En este estudio, así mismo, se ha llegado a la conclusión de que la mayor parte de pacientes con forma de aparición adulta pueden llevar una vida normal hasta el comienzo de los síntomas (normalmente a partir de los 40 años), a pesar de tener ciertos síntomas característicos de su enfermedad como intolerancia al ejercicio. Además, parece que la forma de aparición en adultos requiere más tiempo para que desarrollen síntomas significativos y para que la enfermedad empeore, no presentando un porcentaje de mortalidad a corto plazo tan alto como la forma pediátrica. Los adultos, además, según este estudio, parece que tienden más a tener patología como diabetes, sordera o migraña.

Sin embargo, debido a que los pacientes con la forma juvenil de este estudio tienen unos porcentajes mayores de mutación en los distintos tejidos que los de la forma adulta, pueden presentar complicaciones mucho más graves a edades tempranas, con una evolución más corta de la enfermedad, presentando un fenotipo patológico que no tarda en ser evidente.

Todo esto evidencia la necesidad de seguimiento de estos pacientes durante largos periodos de tiempo para poder así conocer mejor la historia natural de la

enfermedad y hacer un tratamiento sintomático acorde a las necesidades propias de cada paciente.

Así mismo, en algunos estudios se ha podido encontrar la misma heterogeneidad que vemos en este estudio, siendo que en Reino Unido <sup>(29)</sup> se demostró que en pacientes con la mutación presente, sólo la mitad de ellos tenían el fenotipo clásico de enfermedad mitocondrial. Con ello se confirmó que el diagnóstico podría no ser el adecuado en la otra mitad, si los profesionales implicados en ello consideraban el diagnóstico sólo en términos de “síndrome completo” (que presentasen todos los síntomas típicos de MELAS). En ese estudio, sólo el 10% de los pacientes tenían criterios diagnósticos de MELAS, debido a que muchos de ellos presentaban una superposición entre los fenotipos clásicos. Además, llegaron a la conclusión de que, no sólo en el síndrome MELAS, sino en todas las patologías mitocondriales asociadas a la mutación m.3242A > G, para su cribado habría sido suficiente tener en cuenta la presencia de:

- (1) MELAS, MIDD o un síndrome de superposición;
- (2) historia familiar materna de m.3243A > G;
- (3) 3 o más características clínicas: cardiomiopatía, sordera, retraso del crecimiento o disminución cognitiva, diabetes mellitus, epilepsia, trastornos gastrointestinales (estreñimiento y / o síndrome del intestino irritable), migraña, retinopatía. Con ello, todos los pacientes de su cohorte habrían sido diagnosticados con la mutación.

El hecho de que la gravedad de la enfermedad tenga relación con el porcentaje de mutación hallado, sobre todo, en muestras de orina, ayudaría a su estudio, puesto que es una prueba no invasiva y que su realización está al alcance en la mayoría de los centros.

Por otra parte, se ha demostrado mediante el análisis de múltiples variables que hay tres factores asociados a la ocurrencia de efectos adversos <sup>(28)</sup>: una carga de mutación en orina  $\geq 45\%$ , antecedentes personales de convulsiones e hipertrofia de ventrículo izquierdo. La combinación de estos parámetros, todos

relativamente simples de evaluar en la rutina clínica, se demostraron como suficientes para clasificar a las poblaciones con MELAS con respecto al riesgo de presentar eventos adversos a lo largo del tiempo, independientemente de las manifestaciones fenotípicas que presenten los pacientes. Este estudio, además, sugiere que la combinación de porcentaje de mutación en orina y sangre podría contribuir a la mejora en la estratificación del riesgo de desarrollar estos eventos y podría tener un valor pronóstico adicional. En concreto, en pacientes con  $\geq 45\%$  de mutación en orina y  $\geq 35\%$  de mutación en sangre en ese estudio tuvieron el mayor porcentaje del total de mortalidad y de incidencia de eventos neurológicos y cardíacos.

No existe tratamiento curativo para este síndrome, siendo actualmente paliativo. No obstante, estudios recientes <sup>(30, 31)</sup> parecen mostrar que los niños con MELAS tienen una menor producción de óxido nítrico (NO), flujo de arginina, concentración de arginina plasmática y flujo de citrulina. La suplementación con citrulina parece ser más eficaz que la suplementación con arginina, ya que la citrulina aumenta la tasa de producción de NO, los flujos y concentraciones de arginina y citrulina y la tasa de síntesis de novo de arginina. Este estudio evaluó el metabolismo del NO en niños con enfermedades mitocondriales, sugiriendo que el deterioro de la producción de NO se produce desde la infancia en el síndrome MELAS y, por tanto, el inicio del tratamiento precursor de NO puede ser beneficioso en etapas tempranas de la vida. La suplementación de citrulina puede tener un efecto terapéutico mejor que la de arginina, pero concluyen que se debería seguir estudiando en futuros ensayos clínicos para tener una mayor evidencia.

Por tanto, a pesar de haber avanzado mucho en este tiempo sobre el síndrome MELAS, aún quedan muchos aspectos que necesitan ser estudiados para intentar reducir lo máximo posible la afectación que tiene la enfermedad en familias con la presencia de esta mutación.

## 6. Conclusiones

Las conclusiones que he obtenido a partir de los resultados son:

1. Existe una relación entre los porcentajes de mutación hallados en orina y la gravedad clínica que presentan los individuos estudiados.
2. Por otra parte, los niveles presentes en células sanguíneas parecen no estar tan relacionados con la sintomatología clínica. Esto se puede observar en casos de pacientes de la misma familia con porcentajes de mtDNA mutado muy similares en sangre. Sin embargo, uno de ellos se encuentra asintomático y el otro con clínica típica de MELAS.
3. La expresión fenotípica de la enfermedad, incluso producida por la misma mutación, es totalmente variable. No obstante, se puede encontrar cierta similitud clínica dentro de las mismas familias.
4. Debido a la forma característica de distribución del mtDNA entre células progenitoras y progenie, el consejo genético que se puede ofrecer a mujeres con esta patología es muy limitado. Se ha podido comprobar como madres asintomáticas con porcentaje bajo de mutación en sangre han tenido hijos con sintomatología típica de MELAS muy marcada.
5. Al tratarse el síndrome MELAS de una patología conocida como “rara” podemos ver que muchas veces se necesitan varios ingresos o la muerte de un familiar (con posterior necropsia diagnóstica de la enfermedad) para que se sospeche esta patología. Al no pensar en ella, el diagnóstico acaba siendo por descarte. El retraso en el mismo empeora la situación basal de los pacientes. Si este tiempo se acortase y se hiciese un seguimiento de estos individuos desde edad temprana, se evitarían complicaciones y eventos adversos.



6. La forma de presentación en la infancia es más grave que la forma del adulto. Varios de los niños de este estudio con manifestaciones en edad pediátrica han fallecido a edad temprana.
  
7. Parece existir un porcentaje de mutación a partir del cual el síndrome MELAS se expresa con clínica típica. Sin embargo, es difícil poner un valor concreto como nivel mínimo umbral puesto que, como se ha podido comprobar, la presencia del mismo porcentaje de mutación en dos individuos diferentes dará una clínica distinta en cada uno de ellos.

## Bibliografía

1. Montoya, J., López-Gallardo, E., Emperador, S., Ruiz-Pesini, E. Enfermedades del ADN mitocondrial. En: López Pérez M.J., Ortiz Melón J.M., Doadrio Villarejo A. Monografía XXXVI: Sistema mitocondrial: un reto en la medicina humana. Monografías de la Real Academia Nacional de Farmacia. 2012. P. 119-154.
2. López Pérez, M.J, Montoya, J. Sistema genético mitocondrial humano. En: López Pérez, M.J., Ortiz Melón, J.M., Doadrio Villarejo, A. Monografía XXXVI: Sistema mitocondrial: un reto en la medicina humana. Monografías de la Real Academia Nacional de Farmacia. 2012. P. 31-46.
3. Anderson, S., Bankier, A. T., Barrell, B. G., De Bruijn, M. H. L., Coulson, A. R., Drouin, J. et al. Sequence and organization of the human mitochondrial genome. *Nature*. 1981; 290: 457-465
4. Barrera-Ramírez, C. F., Barragán-Campos, H. M., Sánchez-Guerrero, J., García-Ramos, G., Vega Boada, F., Estañol, B. El otro genoma: El concepto clínico de las citopatías mitocondriales o enfermedades de la fosforilación oxidativa. *Rev Invest Clin*. 1999; 51(2): 121-134.
5. Giles, R.E., Blanc, H., Cann, H.M., Wallace, D.C. Maternal inheritance of human mitochondrial DNA. *Proc. Natl. Acad. Sci*, 1980; 77: 6715-6719.
6. Sutovsky, P., Neuber, E., Schatten, G. Ubiquitin-dependent sperm quality control mechanism recognizes spermatozoa with DNA defects as revealed by dual ubiquitin-TUNEL assay. *Mol Reprod Dev* 2002; 61: 406-413.
7. Montoya, J., López-Gallardo, E., Díez-Sánchez, C., López-Pérez, M. J., Ruiz-Pesini, E. 20 years of human mtDNA pathologic point mutations: carefully reading the pathogenicity criteria. *Biochim Biophys Acta*, 2009; 1787(5): 476-483.
8. Zeviani, M., Di Donato, S. Mitochondrial disorders. *Brain*, 2004; 127(10), 2153-2172.

9. Taylor, R. W., Turnbull, D. M. Mitochondrial DNA mutations in human disease. *Nature Reviews. Genetics*, 2005; 6(5): 389–402.
10. Sciacco, M., Bonilla, E., Schon, E.A., DiMauro, S., Moraes, C.T. Distribution of wild-type and common deletion forms of mtDNA in normal and respiration-deficient muscle fibers from patients with mitochondrial myopathy. *Hum Mol Genet*. 1994; 3:13–19.
11. Holt, I.J., Harding, A.E., Morgan-Hughes, J.A. Deletions of muscle mitochondrial DNA in patients with mitochondrial myopathies. *Nature*. 1988; 331:717–719.
13. Rotig, A., Cormier, V., Blanche, S., Bonnefont, J-P., Ledeist, F. Pearson's marrow pancreas syndrome. A multisystem mitochondrial disorder of infancy. *J Clin Invest*. 1990;86:1601–1608
14. Shoffner, J. M., Lott, M. T., Lezza, A. M., Seibel, P., Ballinger, S. W., Wallace, D. C. Myoclonic epilepsy and ragged-red fiber disease (MERRF) is associated with a mitochondrial DNA tRNA<sup>Lys</sup> mutation. *Cell*. 1990; 61:931–937.
15. Holt, I. J., Harding, A. E., Petty, R. K., & Morgan-Hughes, J. A. (1990). A new mitochondrial disease associated with mitochondrial DNA heteroplasmy. *American Journal of Human Genetics*, 1990; 46(3): 428–433.
16. Biarnés, J., Barrientos, A., Ricart, W., Nunes, V., Fernández-Castañer, M., Soler, J. (1999). Diabetes mellitus asociada a la mutación A3243G del ADN mitocondrial. A propósito de un caso *Medicina clinica*, 1999; 112(3): 99-101.
17. Howell, N., Bindoff, L. A., McCullough, D. A., Kubacka, I., Poulton, J., Mackey, D et al. Leber hereditary optic neuropathy: identification of the same mitochondrial ND1 mutation in six pedigrees. *Am J Hum Genet*. 1991; 49: 939–950.
18. Zeviani, M., Di Donato, S. Mitochondrial disorders. *Brain*, 2004; 127(10): 2153-2172.

19. DiMauro, S., Hirano, M. MELAS. 2001 Feb 27 [Updated 2013 Nov 21]. In: Pagon RA, Adam, M.P., Ardinger, H.H., et al., editors. GeneReviews® [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2017. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1233/>
20. Chinnery, P.F. & D.M. Turnbull. 2001. Epidemiology and treatment of mitochondrial disorders. *Am. J. Med. Genet.* 2001; 106: 94–101.
21. Uusimaa, J., Moilanen, J. S., Vainionpää, L., Tapanainen, P., Lindholm, P., Nuutinen, M., et al. Prevalence, segregation, and phenotype of the mitochondrial DNA 3243A> G mutation in children. *Annals of neurology*, 2007; 62(3): 278-287.
22. Hirano, M., Ricci, E., Koenigsberger, M. R., Defendini, R., Pavlakis, S. G., DeVivo, D. C., et al. MELAS: an original case and clinical criteria for diagnosis. *Neuromuscular Disorders*, 1992; 2(2): 125-135.
23. Sproule, D. M., & Kaufmann, P. Mitochondrial encephalopathy, lactic acidosis, and strokelike episodes. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 2008; 1142(1): 133-158.
24. Pavlakis, S. G., Phillips, P. C., DiMauro, S., De Vivo, D. C., & Rowland, L. P. Mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis, and strokelike episodes: a distinctive clinical syndrome. *Annals of neurology*, 1984; 16(4): 481-488.
25. Hirano, M., & Pavlakis, S. G. Topical review: mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis, and strokelike episodes (MELAS): current concepts. *Journal of child neurology*, 1994; 9(1): 4-13.
26. Morava, E., van den Heuvel, L., Hol, F., De Vries, M. C., Hogeveen, M., Rodenburg, R. J., & Smeitink, J. A. M. Mitochondrial disease criteria diagnostic applications in children. *Neurology*, 2006; 67(10): 1823-1826.

27. O'Callaghan, M. M., Emperador, S., Pineda, M., López-Gallardo, E., Montero, R., Yubero, D., et al. Mutation loads in different tissues from six pathogenic mtDNA point mutation. *Mitochondrion*, 2015; 22: 17-22.
28. Yatsuga, S., Povalko, N., Nishioka, J., Katayama, K., Kakimoto, N., Matsuishi, T., et al for MELAS Study Group in Japan. MELAS: a nationwide prospective cohort study of 96 patients in Japan. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 2012; 1820(5): 619-624.
29. Fayssoil, A., Laforêt, P., Bougouin, W., Jardel, C., Lombès, A., Bécane, H. M. Prediction of long-term prognosis by heteroplasmy levels of the m. 3243A> G mutation in patients with the mitochondrial encephalomyopathy, lactic acidosis and stroke-like episodes syndrome. *European journal of neurology*, 2017; 24(2): 255-261.
30. Nesbitt, V., Pitceathly, R. D., Turnbull, D. M., Taylor, R. W., Sweeney, M. G., Mudanohwo, E. E., et al. The UK MRC Mitochondrial Disease Patient Cohort Study: clinical phenotypes associated with the m. 3243A> G mutation—implications for diagnosis and management. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, 2013: jnnp-2012
31. El-Hattab, A. W., Emrick, L. T., Hsu, J. W., Chanprasert, S., Almannai, M., Craigen, W. J., et al. Impaired nitric oxide production in children with MELAS syndrome and the effect of arginine and citrulline supplementation. *Molecular genetics and metabolism*, 2016; 117(4): 407-412.
32. El-Hattab, A. W., Almannai, M., & Scaglia, F. (2017). Arginine and Citrulline for the Treatment of MELAS Syndrome. *Journal of Inborn Errors of Metabolism and Screening*, 2017; 5, 2326409817697399.