



Universidad
Zaragoza

SÍNDROME DE LEIGH: MUTACIÓN M.13513G>A

Leigh syndrome: mutation m.13513G>A

TRABAJO FIN DE GRADO DE MEDICINA, 2019-2020
DEPARTAMENTO DE ANATOMÍA E HISTOLOGÍA HUMANAS

Autor: JIMÉNEZ MURO, Marta

Director: Blanca Conde Guerri

Grado de Medicina, 6º Curso

Año académico 2019-2020

ÍNDICE

RESUMEN.....	2
PALABRAS CLAVE	2
Summary.....	3
Key words	3
ABREVIATURAS.....	4
OBJETIVOS	5
INTRODUCCIÓN.....	6
Fosforilación oxidativa	8
Historia y definición del síndrome de Leigh.....	9
MATERIAL Y MÉTODOS.....	10
RESULTADOS.....	10
Genética del síndrome del Leigh	10
Déficits en el complejo I de la cadena transportadora de electrones.....	11
Clínica.....	12
Clínica por aparatos	13
Relación genotipo-fenotipo	18
Diagnóstico.....	19
Curso clínico y pronóstico	21
Estrategias terapéuticas	22
Caso 1 o índice	29
Caso 2	31
Caso 3	32
DISCUSIÓN.....	33
CONCLUSIONES.....	34
BIBLIOGRAFÍA.....	35

RESUMEN

Las enfermedades mitocondriales engloban un grupo de patologías muy heterogéneo y en muchos casos devastador, en el que los pacientes ven enormemente mermada tanto su calidad de vida como en muchas ocasiones, su supervivencia. Las enfermedades mitocondriales tienen, de manera habitual, un curso muy sombrío, porque la mitocondria es la encargada de suministrar la mayor parte de la energía que el cuerpo necesita para su correcto funcionamiento. Para ello, se realiza la fosforilación oxidativa en la membrana mitocondrial interna de dichos orgánulos intracitoplasmáticos. El síndrome de Leigh concretamente es la enfermedad mitocondrial de diagnóstico pediátrico más frecuente.

El objetivo de este trabajo ha sido realizar un estudio sobre la mutación m.13513G>A (que afecta a MT-ND5, gen mitocondrial codificante de la proteína ND5, que es una de las subunidades de la NADH deshidrogenasa que forma parte del complejo I de la cadena respiratoria mitocondrial).

El trabajo se ha centrado en el estudio de este gen en concreto porque para su desarrollo hemos abordado un caso del Centro Aragonés de Enfermedades Raras (CIBERER- Área de Patología Mitocondrial). Como ocurre en muchas otras enfermedades mitocondriales, una misma mutación puede producir síndromes distintos e igualmente un mismo síndrome puede estar causado por genes diferentes. A raíz de dicho caso, hemos realizado una búsqueda bibliográfica de casos con la misma mutación y que presentaran si no una clínica semejante, una clínica que fuera interesante comentar. Igualmente, el trabajo se ha centrado en explicar qué es el síndrome de Leigh, por qué es tan importante el complejo I de la cadena respiratoria mitocondrial, las presentaciones clínicas más comunes, las formas de diagnóstico de enfermedades mitocondriales más relevantes y las formas de tratamiento que si a día de hoy no son muy prometedoras, en un futuro podrían llegar a serlo.

PALABRAS CLAVE

Mitocondria – enfermedad mitocondrial – ADN mitocondrial – complejo I mitocondrial – m.13513G>A – síndrome de Leigh – afectación oftalmológica – epilepsia – fenotipo – genotipo – diagnóstico – tratamiento – fármacos.

Summary

Mitochondrial diseases include a group of very heterogeneous pathologies that in many cases are really devastating, in which the patients have their quality of life and even their survivor enormously depleted. Mitochondrial diseases have a very somber course on a regular basis, because the mitochondria is responsible for supplying most of the energy that the body needs for proper functioning. For this function, oxidative phosphorylation is performed in the internal mitochondrial membrane of said intracytoplasmic organelles. Leigh syndrome is specifically the most frequent mitochondrial disease diagnosed in the pediatric population.

The objective of this work has been to conduct a study on the m.13513G>A mutation (which affects MT-ND5, a mitochondrial gene encoding the ND5 protein, which is one of the subunits of the NADH dehydrogenase that is part of complex I of the mitochondrial respiratory chain).

This work has been focused on the study of this particular gene because we have used a case of the Aragonese Center of Rare Diseases (CIBERER- Mitochondrial Pathology Area) for its development. As in many other mitochondrial diseases, the same mutation can produce different syndromes and also the same syndrome can be caused by different genes. As a result of this case, we have carried out a bibliographic search of cases with the same mutation that would present either a similar clinic, or a clinic that would be interesting to comment. Likewise, the work has focused on explaining what Leigh syndrome is, why complex I of the mitochondrial respiratory chain is so important, the most common clinical presentations, the most relevant forms of diagnosis of mitochondrial diseases and the forms of treatment that if today are not very promising, in the future they could become promising.

Key words

Mitochondria – mitochondrial disease – mtDNA – mitochondrial complex I – m.13513G>A – Leigh syndrome – ophtalmological manifestations – epilepsy – phenotype – genotype – diagnosis – treatment – drugs.

ABREVIATURAS

- Acetil-CoA: acetil coenzima A
- ADNmt: ADN mitocondrial
- ADNn: ADN nuclear
- ARNmt: ARN mitocondrial
- ArrayCGH: array de hibridación genómica comparada
- ATP: adenosin trifosfato
- bp: base pairs, pares de bases
- BZF: bezafibrato
- CI: complejo I de la fosforilación oxidativa
- CO: monóxido de carbono
- CoQ10: coenzima Q10
- EEG: electroencefalograma
- Escala motora GMFM-88: método de la función motora gruesa de 88 ítems
- FADH₂: flavín adenina dinucleótido
- FDA: agencia estatal de medicamentos de Estados Unidos
- FRAXA: prueba para el diagnóstico del síndrome de la X frágil
- LHON: neuropatía óptica de Leber
- LS: síndrome de Leigh
- MELAS: encefalomiopatía, acidosis láctica y episodios tipo apoplejía
- MERF: mioclonía, epilepsia y fibras rojo rasgadas
- MPS: Massively Parallel Sequencing: secuenciado masivo en paralelo
- mTOR: diana de rapamicina en células de mamíferos
- NAD⁺/NADH: nicotinamida adenina dinucleótido en forma oxidada y reducida
- NGS: Next Generation Sequencing: secuenciado de nueva generación
- OXPHOS: fosforilación oxidativa
- PCR-RFLP: reacción de la polimerasa en cadena de polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción
- PDHc: complejo piruvato deshidrogenasa
- PET: tomografía de emisión de positrones
- PGC-1: co-activadores transcripcionales tipo 1
- PPAR γ : proliferadores de peroxisomas activados del receptor gamma
- Ratón KO: ratón transgénico en el que se ha insertado un gen que no se expresa o es nulo
- RMN: resonancia magnética nuclear
- ROS: especies reactivas de oxígeno
- SHED: células madre provenientes de dientes de leche humanos
- SIADH: síndrome de secreción inadecuada de la hormona antidiurética
- TC: tomografía computerizada
- vHL-PHD-HIF: factor de von Hippel Lindau- prolil hidroxilasa- factor inducible de la hipoxia
- WPW: Wolff-Parkinson-White
- WT: wild-type: forma más común de un genotipo o alelo específico en una población

OBJETIVOS

El principal objetivo de este trabajo y a partir del caso concreto de una niña con el síndrome de Leigh, ha sido realizar un estudio en profundidad de lo que supone padecer este tipo de enfermedades. El síndrome de Leigh es una de las enfermedades mitocondriales más frecuentes en la edad pediátrica. Para poder llevar a cabo dicho objetivo, se han revisado una serie de artículos, metaanálisis y estudios de casos publicados, centrándonos tanto en el síndrome de Leigh en general como en la mutación específica causante del síndrome en nuestro caso a estudio.

Otros objetivos derivados del anterior han sido investigar las posibles formas de presentación de las enfermedades mitocondriales que son muy extensas como ya sabemos, las formas de diagnóstico actuales más valiosas y las opciones terapéuticas de las enfermedades mitocondriales, que aunque amplias tienen baja efectividad.

Así mismo, es importante resaltar que los ensayos sobre formas de tratamiento de las enfermedades mitocondriales también están resultando una forma de estudio de la etiopatogenia o patogenética de este tipo de enfermedades muchas veces no bien conocida.

También es relevante mencionar que este tipo de enfermedades son catalogadas como “raras” por su baja prevalencia y esto supone muchas veces un retraso en el diagnóstico y tratamiento de las mismas lo que lleva en ocasiones a un perjuicio para los pacientes que las padecen.

De manera más concreta, los objetivos de este trabajo han sido:

- Definir las enfermedades mitocondriales y centrarnos en el síndrome de Leigh.
- En el síndrome de Leigh, explicar la mutación m.13513G>A, que afecta al caso a estudio.
- Desarrollar la clínica, diagnóstico y tratamiento del síndrome de Leigh.
- Describir un caso real en Aragón y varios publicados a nivel mundial con una forma de presentación y curso semejante o interesante.
- Remarcar la importancia de la investigación y las vías de tratamiento para estas patologías.

INTRODUCCIÓN

Las mitocondrias son orgánulos intracelulares derivados de la endosimbiosis de una alfa-proteobacteria en una célula ancestral que contenía un núcleo. A lo largo de la evolución, la mayoría de los genes que contenía la bacteria se han ido transfiriendo a dicho núcleo, pero unos pocos permanecen aún en la mitocondria, es lo que se conoce como ADN mitocondrial (ADNmt). Dicho genoma se encarga junto con la ayuda del genoma nuclear, de la síntesis de energía en forma de ATP, que ocurre dentro de la mitocondria gracias al sistema de fosforilación oxidativa (OXPHOS)⁽¹⁾.

Las enfermedades mitocondriales tienen una serie de características especiales (su alta heterogeneidad intra e intersindrómica, su herencia...) que diferencian a la genética mitocondrial de la nuclear y que expondremos a continuación.

El ADNmt, es una doble cadena circular de ADN que contiene 16.569 bp en humanos. También existe el ARNmt. La maduración de este ARNmt es necesaria para la correcta traducción de los genes que codifica el ADNmt (Figura 1). Sin embargo, la mayor parte del proceso de traducción mitocondrial depende de proteínas codificadas por ADNn, por lo que las mutaciones en ADNn, como ya sabemos, pueden causar también enfermedades mitocondriales⁽²⁾.

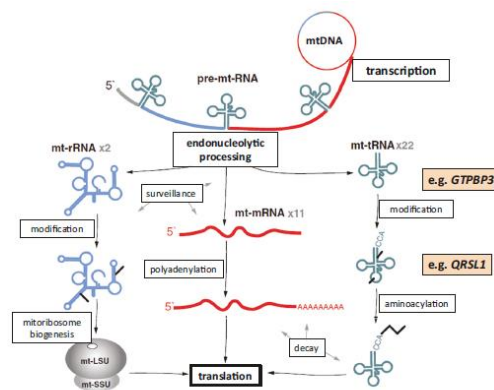


Figura 1. Síntesis del ARNmt. A partir de ADNmt se transcribe pre-ARNmt dentro de la mitocondria, a continuación sale de ella para ser procesado y modificado a través de factores dependientes de ADNn, hasta convertirse en ARNmt⁽²⁾.

El fenómeno de heteroplasmia es el proceso por el cual las mitocondrias de la célula madre se transmiten a la descendencia en porcentajes indeterminados. Es decir, en el caso del genoma nuclear, cada célula hija recibe la mitad de la información de la célula madre, pero en el caso del genoma mitocondrial una célula hija puede recibir diferentes porcentajes de ADNmt. Eso explica que pueda haber niños con enfermedad mitocondrial con hermanos y padres no afectados.

Además, las mitocondrias pueden contener diferente cantidad de copias de ADNmt y puede haber diferente cantidad de mitocondrias dentro de una misma célula y/o tejido. Como consecuencia de esto, el ADNmt mutado y el wild-type, pueden estar presentes en diferentes porcentajes en diferentes células o tejidos dentro de un mismo individuo⁽³⁾.

Este fenómeno marca igualmente que no se pueda realizar consejo genético en la mayoría de los casos, porque no es previsible conocer cómo se va a repartir el ADNmt en la descendencia. Tampoco el diagnóstico prenatal se podría realizar dado que el porcentaje de heteroplasmia varía a través de la gestación^(3,4).

Un estudio reciente, ha demostrado que 1 de cada 200 personas de la población general, son portadores de mutaciones en el ADNmt en un porcentaje que se supone muy bajo como para ocasionar clínica alguna, lo cual es una posible explicación de cómo se transmiten estas enfermedades de padres no afectados a hijos que acaban padeciéndolas⁽³⁾.

Kopinski et al. han demostrado que el nivel de heteroplasmia en el ADNmt altera la epigenómica nuclear a través de sus metabolitos. Así, el nivel de modificación de las histonas está modulado por la cantidad de acetil-CoA y alfa-ketoglutarato generado por las mitocondrias. Además, han visto que esta relación está correlacionada con la cantidad de dichos metabolitos. Por lo que las enfermedades mitocondriales tienen una afectación mucho más extensa de lo que se podía pensar hace algunos años⁽⁵⁾.

También han demostrado que el nivel de heteroplasmia del ADNmt afecta al ratio de NAD⁺/NADH mitocondrial, que se relaciona además con la acetilación de histonas y éste a su vez con cambios en la transcripción de ADNn y ADNmt. Todo ello puede explicar la diferencia de los fenotipos que se ven a través de las distintas enfermedades mitocondriales⁽⁵⁾.

En la segregación mitótica, por el proceso de heteroplasmia, sabemos que el ADNmt se reparte al azar entre las células hijas, generando tres posibles genotipos: homoplásmico no mutado, homoplásmico mutado, y heteroplásmico con porcentaje variable de ADNmt mutado. Lo más típico es que el wild-type sea homoplásmico normal o heteroplásmico, pero con un porcentaje mínimo de heteroplasmia que no suele producir clínica.

El efecto umbral es la cantidad de ADNmt mutado que necesitan las células para expresar fenotípicamente una clínica. Este varía mucho dentro de los diferentes tejidos e incluso entre las células dentro de un determinado tejido. De hecho, muchos casos con síndrome de Leigh son pacientes con heteroplasmia con ADNmt mutado >90%, pero hay otras mutaciones del mismo síndrome como la m.13513G>A del gen MT-ND5 del complejo I, en la que niveles de 30-50% de mutación pueden producir clínica muy grave^(6,7).

Patrón de herencia materna. Sabemos que durante la fecundación del óvulo, la parte del espermatozoide que se introduce es la cabeza, el flagelo (parte más móvil y por tanto con mayor cantidad de mitocondrias) se desprende y no se transmite a la descendencia. Pero actualmente esto es objeto de debate por la posible aparición de casos de enfermedad mitocondrial con herencia paterna. Pese a ello, aún no hay suficiente base científica como para comentarlo más en profundidad.

Hay muchos pacientes que presentan mutaciones que no cuentan con historia familiar sugestiva de enfermedad mitocondrial. Esto puede ser por la heteroplasmia que distribuye de manera aleatoria e impredecible la carga mitocondrial unido, como ya hemos comentado, al hecho de que en la madre o bien en sus familiares directos, la carga mutagénica se sitúe por debajo del umbral requerido para desarrollar clínica.

Otra posible explicación sería la presencia de mutaciones de novo en el ADNmt que suelen ser frecuentes ya que los defectos en la síntesis del ADNmt tienen menos mecanismos de corrección que los del ADNn⁽⁷⁾.

Fosforilación oxidativa

Es importante recordar que la cadena transportadora de electrones tiene un origen bigenómico, lo que quiere decir que tanto el ADN nuclear como el mitocondrial están involucrados en su correcto funcionamiento. La cadena transportadora de electrones está formada por cinco complejos proteicos que se encargan de realizar la fosforilación oxidativa, que tiene lugar en la membrana interna mitocondrial^(3,7).

Por parte del ADNmt, se conocen 13 subunidades así como la maquinaria necesaria para su traducción. Por parte del ADNn, las subunidades son estructurales o factores de ensamblaje de proteínas involucradas en la replicación, mantenimiento y transcripción del ADNmt⁽³⁾.

Nos vamos a centrar en explicar el complejo I, dado que es el que está relacionado con la mutación causante del caso a estudio. El complejo I, NADH o ubiquinona oxidoreductasa, es el complejo más grande del sistema de fosforilación oxidativa. Tiene forma de L (Figura 2), y está formado por 44 subunidades (37 codificadas en el núcleo y 7 en la mitocondria) que se pueden dividir en 3 módulos funcionales: Q (reducción de la ubiquinona) y N (NADH deshidrogenasa) forman el brazo de la matriz mitocondrial, y P (bombeo de protones), es el brazo transmembrana del complejo⁽⁸⁾.

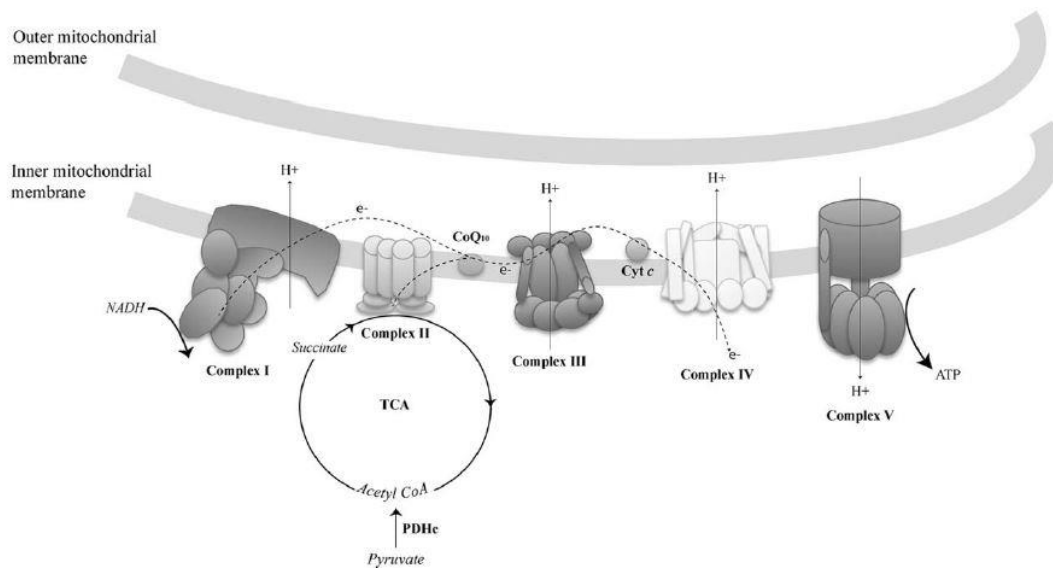


Figura 2. Esquema de los complejos encargados de la fosforilación oxidativa⁽⁷⁾.

Historia y definición del síndrome de Leigh

El primero en describir el síndrome de Leigh fue el neuropatólogo y psiquiatra británico Archibald Denis Leigh en 1951. Este médico definió la entidad como un desorden neurodegenerativo devastador consistente en una encefalomiopatía necrotizante subaguda (NES en inglés) y que posteriormente pasaría a llamarse síndrome de Leigh⁽³⁾.

El paciente índice fue un niño de 6 meses con desarrollo normal hasta que empezó con dicha edad a no llorar, tener posturas de rigidez y bajo nivel de interacción con el medio. Igualmente, presentaba atrofia óptica bilateral, sordera y espasticidad bilateral. El estado del niño empeoró muy rápidamente y murió en pocos días por una encefalopatía⁽³⁾.

Durante la necropsia, se tomaron muestras y se objetivó una degeneración neuronal del tálamo, mesencéfalo, protuberancia y médula, con alteración en la mielina del nervio óptico además de lesiones necróticas en la sustancia gris que daban el nombre al síndrome⁽³⁾.

A lo largo de los años, hubo diferentes descubrimientos que apuntaban a que el síndrome de Leigh podría tratarse de una enfermedad mitocondrial, hasta que en 1992, se identificó una de las mutaciones mitocondriales más prevalentes causantes del síndrome, m.8993T>G (Figura 3)⁽³⁾.

Hay que recalcar que la incidencia estimada del síndrome es de 1:40.000 niños nacidos, por lo que es la enfermedad mitocondrial más frecuente en el primer año de vida. De hecho, la incidencia llega a ser de 1:2.000 niños nacidos en zonas como las Islas Feroe o la zona de Quebec, esta última dando nombre a un subtipo específico de dicho síndrome⁽³⁾.

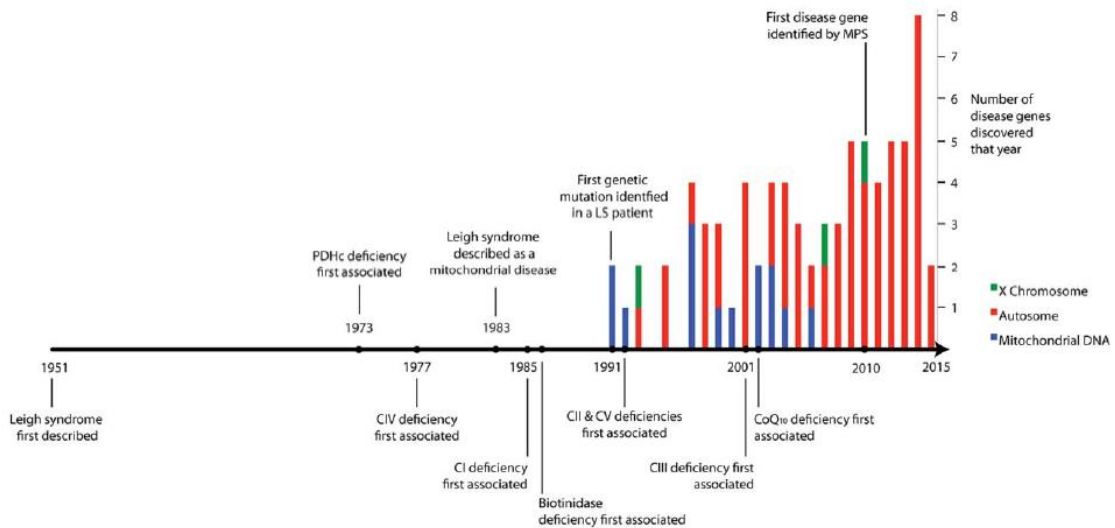


Figura 3. Línea temporal con los descubrimientos sobre el síndrome de Leigh. El gráfico refleja el número de nuevos genes que se han identificado con LS a lo largo de los años⁽⁷⁾.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se dispone de un informe sobre una paciente afecta del síndrome de Leigh proporcionado por el CIBERER. Igualmente se han incluido artículos sobre conocimientos básicos acerca de la mitocondria o del diagnóstico de enfermedades mitocondriales en muestras de orina de los que ya disponía de años previos de la carrera.

Por otro lado, se ha realizado una búsqueda en PubMed con la palabra clave Leigh syndrome, apareciendo un total 3021 resultados, que filtrados por actualización y eligiendo los publicados en los últimos 5 años, hacen un total de 794 resultados, de los cuales se han terminado seleccionando 16 artículos para este trabajo. Al utilizar "Leigh syndrome" and "m.13513G>A" aparecieron 14 resultados de los que al final se usaron 3. Al utilizar m.13513G>A en los últimos 5 años aparecieron un total de 16 artículos de los que se han incluido 2 en este trabajo.

RESULTADOS

Genética del síndrome del Leigh

El síndrome de Leigh es la forma de presentación más frecuente de enfermedad mitocondrial en la infancia. La etiología genética se confirma solo en un 50% de los pacientes con síndrome de Leigh. Sabemos que hay más de 75 mutaciones identificadas en ADNn y ADNmt, siendo este último, responsable del 10-30% de los casos. Todo esto demuestra que este síndrome tiene una gran heterogeneidad y que aún hay muchas mutaciones por descubrir. De hecho, las nuevas técnicas de secuenciación permiten el estudio de todo el exoma o de todo el genoma en periodos de tiempo relativamente cortos, lo que ha acelerado el descubrimiento de nuevos genes y vías para el estudio de nuevas mutaciones en muy poco tiempo^(3,4,7).

La mayoría de las mutaciones afectan a factores de ensamblaje o subunidades de la cadena respiratoria mitocondrial, pero también se han observado mutaciones en la replicación, transcripción y traducción de genes involucrados en el ADNmt⁽³⁾.

Una de las mutaciones más frecuentes es la del gen para la ATPasa6 (MT ATP6) que codifica para una subunidad del Complejo V de la cadena respiratoria, con la forma de transversión 8993T>G. Como dato interesante, se ha relacionado a la hipocitrulinemia <12 micromol/l como un hallazgo analítico muy típico de esta mutación y que puede orientar hacia la búsqueda específica de la misma en pacientes con clínica y pruebas de laboratorio compatibles^(3,4).

Pero el síndrome de Leigh no solo puede afectar a complejos por separado, también lo puede hacer de manera colectiva. Se ha publicado información al respecto y sabemos que las deficiencias en el complejo II, III y CoQ10 son causas infrecuentes del síndrome de Leigh y de manera colectiva suponen <10% del total de casos, igualmente sabemos que las deficiencias en el complejo IV suponen <15% del total de casos, siendo la forma más frecuente de mutación de este complejo la del gen SURF1 y por último se ha publicado que las deficiencias combinadas de complejos codificadas en ADNmt suponen entre 10-20% de los casos de Leigh^(3,7).

Sabemos que 13 de los 37 genes codificados en ADNmt que se han descrito causantes de Leigh codifican en su mayoría para las subunidades del complejo I o V, o para ARNmt. De manera más específica, las formas de presentación más frecuentes son las causadas por las mutaciones MTND3 y MTND5 del complejo I y por la MTATP6 del complejo V⁽⁷⁾.

Déficits en el complejo I de la cadena transportadora de electrones

Pese a que la mutación más frecuente del síndrome de Leigh es la que afecta al complejo de la cadena respiratoria número V, nos vamos a centrar de ahora en adelante en el complejo I, dado que es el que está mutado en el caso presentado en este trabajo. Igualmente, aproximadamente un tercio de los pacientes con Leigh tienen afectados genes que codifican parte del complejo I, por lo que este complejo es de igual forma muy relevante para el estudio del síndrome⁽⁷⁾.

De entre todos los pacientes que presentan mutaciones en el complejo I, el 35-50% presentan síndrome de Leigh. Sabemos que el complejo I se encarga de catalizar la transferencia de electrones desde el NADH hasta la ubiquinona, gracias a la ubiquinona oxidoreductasa. Este proceso se acompaña de la translocación de protones para mantener el gradiente electroquímico a través de la membrana mitocondrial interna. El complejo I además, es el más grande de todos los descritos y está formado por 45 subunidades de las cuales 7 forman el núcleo catalítico del mismo: NDUFS1, NDUFS2, NDUFS3, NDUSF7, NDUSF8, NDUFV1 y NDUFV2 (Tabla I)⁽³⁾.

Primary role specific to OXPHOS biogenesis											Secondary impact on OXPHOS					
OXPHOS Subunits					Electron Carriers	mtDNA Homeostasis	mt-rNA Biogenesis/ Aminoacylation				Fe-S clusters	Co-Factors	Protein Quality Control	Protein Import/ Processing	Morphology	
Ci	Cii	Ciii	Civ	Cv	CoQ	Cyt. c	DNA2	MT-TA	GTPBP3	AARS2	ABC87	COASY	AFG3L2	AGK	CHCHD10	
MT-ND1	NDUF83	SDHA	MT-CYB	MT-CO1	MT-ATP6	COQ2	CYCS	MGME1	MT-TC	MTFMT	CARS2	BOLA3	FLAD1	CLPB	AIFM1	CI19orf70
MT-ND2	NDUF89	SDHB	CYC1	MT-CO2	MT-ATP8	COQ4	HCCS	POLG	MT-TD	MTO1	DARS2	FDX1L	LIAS	CLPP	DNAJC19	DNM1L
MT-ND3	NDUF810	SDHD	UQCRCB	COX4I1	ATP5A1	COQ5	POLG2	MT-TE	NSUN3	EARS2	FDXR	LIPT1	HSPD1	GFER	GDAP1	
MT-ND4	NDUF811		UQCRC2	COX4I2	ATP5E	COQ6	RNASEH1	MT-TF	PUS1	FARS2	FXN	LIPT2	LONP1	MIPEP	MFF	
MT-ND4L	NDUFS1		UQCRCQ	COX5A		COQ7	TFAM	MT-TG	QRSL1	GARS	GLRX5	PANK2	SPG7	PMPCA	MFN2	
MT-ND5	NDUFS2		COX6A1			COQ8A	TFWNK	MT-TH	TRIT1	HARS2	IBAS7	TPK1	YME1L1	TIMM8A	MSTO1	
MT-ND6	NDUFS3		COX6B2			COQ8B	TOP3A	MT-TI	TRMT5	IARS2	ISCA2			TIMM50	OPA1	
NDUFA1	NDUFS4		COX7B			COQ9		MT-TK	TRMU	KARS	ISCU	Lipid Modification/ Homeostasis			SACS	
NDUFA2	NDUFS6		COX8A			PDS51	Nucleotide Pools	MT-TL1	TRNT1	LARS2	LYRM4	ATAD3A	PNPLA8		SLC25A46	
NDUFA9	NDUFS7		NDUFA4			PDS52	ABAT	SUCLA2	MT-TL2	MARS2	NFS1	CHKB	SERAC1		STAT2	
NDUFA10	NDUFS8						DGUOK	SUCLG1	MT-TM	NARS2	NFU1	PLA2G6	TAZ		TRAK1	
NDUFA11	NDUFV1						MPV17	TK2	MT-TN	PARS2		PNPLA4				
NDUFA12	NDUFV2						RRM2B	TYMP	MT-TP	RARS2		Metabolite Transport	TCA cycle	Metabolism of Toxic Compounds		
NDUFA13							SAMHD1		MT-TQ	SARS2	SLC19A2	ACO2	MDH2	D2HGDH		
									MT-TR	TARS2	SLC19A3	ALDH18A1	MECR	ECHS1		
									MT-TS1	VAR2	SLC25A1	DLAT	NADK2	ETHE1		
									MT-TS2	WARS2	SLC25A3	DLD	PDHA1	HIBCH		
									MT-TT	YARS2	SLC25A4	FH	PDHB	L2HGDH		
									MT-TV		SLC25A12	HAOO	PDHX	NAXE		
									MT-TW		SLC25A19	IDH3A	PKD3	TXN2		
									MT-TY		SLC25A24	IDH3B	PDP1			
											C12orf65	SLC25A26	KYNU	PPA2		
											GFM1	SLC25A32				
											GFM2	SLC25A42		Apoptosis/ Autophagy	Unclear Function	
											RMND1	SLC39A8	CEP89	RTN4IP1		
											TACO1	MICU1		C19orf12	SFXN4	
											TSFM	MICU2		CIQB	TMEM65	
											TUFM	MPC1		FBXL4	IARS	

OXPHOS Assembly Factors						
Ci	Cii	Ciii	Civ	Cv	mtRNA Expression/ Processing	Mitochondrial Biogenesis
ACAD9	SDHAF1	BCS1L	COA3	COX20	ATPAF2	
FOXRED1		LYRM7	COA5	PET100	TMEM70	ELAC2
NDUFAF1		TTC19	COA6	PET117		FASTKD2
NDUFAF2		UQC2	COA7	SCO1		HSD17B10
NDUFAF3		UQC3	COX10	SCO2		LRPPRC
NDUFAF4			COX14	SURF1		MRM2
NDUFAF5			COX15			MTPAP
NDUFAF6						PNPT1
NUBPL						TRMT10C
TIMMDC1						
TMEM126B						

Blue fonts indicate genes which we reported

256 nuclear encoded
35 mtDNA encoded

Tabla I. Relación de genes relacionados con desórdenes de producción mitocondrial de energía⁽²⁾.

Nuestro conocimiento actual de las bases genéticas del síndrome de Leigh apoya que la base patogénica de la enfermedad son los problemas en la generación de energía por parte de las mitocondrias. Sin embargo, parece que la enzima específica o el proceso alterado no son tan relevantes como antaño se creía, dado el gran rango de defectos moleculares que puede causar el síndrome de Leigh⁽⁷⁾.

Igualmente se nos plantean nuevas preguntas sobre la patogénesis de la enfermedad, dado que se han identificado varios genes que no codifican para proteínas con un rol directo sobre la OXPHOS. Sí que, de manera indirecta, se han descubierto defectos en la actividad del complejo piruvato deshidrogenasa (PDHc) por nombrar un ejemplo concreto y esto podría explicar la gran variabilidad fenotípica entre los pacientes⁽⁷⁾.

En el estudio realizado por Danhelovska et al., sobre las mutaciones en el ADNmt que afectaban a subunidades estructurales del complejo I (CI), la mutación más frecuente era la MT-ND5 suponiendo un 69% de todas las mutaciones estudiadas. De los familiares de los pacientes, las madres en su mayoría eran portadoras de la mutación pero en porcentajes en los que no les producía ningún tipo de clínica y en otro pequeño porcentaje estaban ausentes⁽⁵⁾.

Dichos autores refieren que el gen MT-ND5 es un punto caliente muy susceptible de mutación causante de enfermedad, y dentro del mismo, la mutación tipo m.13513G>A es una de las más comunes. Pese a que el MT-ND5 es uno de los genes más largos que codifican para el CI con un total de 1812bp, esto de manera aislada no explica la cantidad tan elevada de mutaciones en este gen comparado con el resto de genes mitocondriales⁽⁵⁾.

La primera vez que se descubrió la mutación del gen MT-ND5 en m.13513G>A fue en un adulto con MELAS, luego en un niño con MELAS/LHON y luego en varios pacientes con Leigh, por lo que sabemos que varias mutaciones relacionadas con la subunidad I, se asocian con varios síndromes mitocondriales diferentes^(7,9).

En este contexto, algunos de los fenotipos que produce la mutación en MT-ND5 varían desde intolerancia al ejercicio físico que supone la afectación solo del músculo esquelético, LHON, hasta fallo renal y miopatía, LS, MELAS, LS/MELAS, MELAS/MERF, LHON/MELAS y LS/MELAS/LHON⁽¹⁰⁾.

Clínica

Pese a ser una enfermedad con una marcada heterogeneidad clínica y genética, la mayoría de pacientes presentan alteraciones en las pruebas de imagen muy similares. El inicio de la sintomatología suele ocurrir entre los 3-12 meses de edad, muchas veces desencadenado por alguna infección aguda típicamente viral, por alguna vacunación o por algún otro tipo de estrés metabólico (cirugías, ayunos prolongados, etc...). La presentación tardía de la enfermedad abarca no solo las formas de aparición en la adolescencia o edad adulta, sino también las que se dan a partir de los 2 años de edad. De hecho el 83% de los casos se dan en niños a partir de 2 años⁽³⁾.

Previamente se pensaba que no existía la forma congénita de la enfermedad, pero se ha registrado hasta en un 22% de los casos la sintomatología del síndrome desde el nacimiento del individuo afecto⁽³⁾.

A nivel prenatal

Lo más frecuente es el retraso del crecimiento intrauterino, igualmente podemos hablar de oligoamnios, cardiomegalia y la presencia de contracturas congénitas como características típicas de esta presentación. A nivel neurológico, se pueden observar microcefalia, ventrículos incrementados de tamaño y pseudoquistes intracraneales, entre otros. Todos estos signos son inespecíficos y pueden ser causados por una gran variedad de cuadros distintos, pero las enfermedades mitocondriales tendrían que tenerse en cuenta igualmente como diagnóstico diferencial en recién nacidos con varios signos que no obedecen a una enfermedad o síndrome específico⁽³⁾.

A nivel infantil

Pese a ser la presentación clínica más frecuente, ocurre que, como en la presentación prenatal, casi todos los signos son inespecíficos. Por nombrar algunos, podemos citar: retraso en el desarrollo psicomotor normal, vómitos persistentes, hipotonía (con bajo control cefálico para su edad). También aparecen en torno a los 2-3 años: dificultad para andar, distonía o disartria. De todos los nombrados previamente, el retraso en el desarrollo o la pérdida del desarrollo adquirido hasta el momento son claves para sospechar esta enfermedad mitocondrial⁽³⁾.

Como ya se ha comentado, estos episodios se precipitan por situaciones de estrés metabólico. Con la desaparición de dichas condiciones, muchas veces la clínica mejora, pero nunca se vuelve al estado basal o pre-crisis. Así, la evolución de la enfermedad se da de manera escalonada, marcada por episodios y periodos intercrisis en los que el niño puede estar estable⁽³⁾.

A nivel infancia-tardía o adolescencia

La clínica predominante es ataxia y fenómenos extrapiramidales como distonía o rigidez. Aquí la sintomatología progresa mucho más lentamente y los pacientes pueden estar estables durante años⁽³⁾.

A nivel adulto

Pese a que pueden presentar la clínica típica del síndrome, lo más común es la forma atípica, en la que los pacientes presentan dolores de cabeza, pérdida de memoria, alucinaciones visuales o problemas intelectuales, vómitos, disnea, incluso coma o episodios tipo esclerosis múltiple con oftalmoplejía internuclear. Siendo lo más típico de lo anteriormente comentado la ataxia, espasticidad, disartria y alteraciones oculares⁽³⁾.

Clínica por aparatos

El síndrome de Leigh produce una disfunción en un área restrictiva pero vital del metabolismo mitocondrial, la OXPHOS. Cualquier órgano se puede ver afectado, pero los más afectados suelen ser aquellos con las mayores necesidades de oxígeno, como el músculo esquelético, corazón o sistema nervioso. De ahí que las principales manifestaciones clínicas del síndrome de Leigh sean las siguientes (por nombrar las más importantes)⁽⁴⁾:

Manifestaciones neurológicas^(3,4)

- Retraso en el desarrollo psicomotor
- Debilidad muscular
- Hipotonía
- Distonía, corea, hemibalismos
- Espasticidad
- Epilepsia: crisis generalizadas y focales, mioclónicas, tónico-clónicas
- Ataxia
- Temblor intencional
- Oftalmología: nistagmus, oftalmoparesia, atrofia óptica, retinitis pigmentosa, ptosis
- Disfagia
- Problemas respiratorios
- Sordera
- Parálisis de nervios craneales periféricos
- Polineuropatía
- Alteraciones del troncoencéfalo que se traducen en problemas respiratorios (apneas, hipo o hiperventilación), alteraciones en la deglución, vómitos persistentes, alteraciones en la termorregulación (hipo o hipertermia)

Es importante comentar que la afectación neurológica se relaciona en parte con la disfunción del propio tejido neural y en parte con una disfunción vascular que afecta al mismo. Sin embargo, las áreas afectas muchas veces no siguen una distribución vascular clásica y no se pueden llamar por tanto apoplejías sino lesiones tipo apoplejía como también ocurre en el síndrome de MELAS. Esto se corrobora porque al realizar estudios con PET, no se observa un incremento de captación de glucosa por parte de los ganglios basales y del troncoencéfalo, poniendo de manifiesto que no son zonas con una marcada necesidad energética en comparación con otras similares^(5,7).

Igualmente la disfunción neuronal se puede relacionar con la citotoxicidad que sufren tanto las neuronas como la glía por privación crítica de energía. Esta citotoxicidad lleva a lesiones permanentes o no, según de qué cantidad de energía se ven privadas⁽⁵⁾.

Se desconoce el porqué de la preferencia por regiones subcorticales del síndrome de Leigh, pero en el artículo de Gerards et al., se proponía como responsable la mayor vulnerabilidad de la red vascular de la zona, que corre a cargo de las arteriolas penetrantes que son más sensibles a la acidosis láctica⁽³⁾.

Además sabemos que esta citotoxicidad y alteración mitocondrial produce mitocondrias anormales que están en el endotelio y que pueden producir disfunciones en la barrera hematoencefálica, dando alteraciones en la homeostasia, hiperexcitabilidad y produciendo actividad epiléptica focal⁽⁵⁾.

Es muy interesante comentar, que se ha comprobado que la sustancia gris consume aproximadamente 2,5 veces más de ATP que la blanca, por eso no es de sorprender que la primera se vea más afectada en este tipo de enfermedades⁽⁵⁾.

Característica clínica-analítica	Porcentaje de pacientes afectados
Lactato alto	72%
Retraso en el desarrollo	57%
Hipotonía	42%
Disfunción respiratoria	34%
Ataques epilépticos	33%
Problemas en la alimentación	29%
Debilidad	27%
Nistagmo	14%
Ptosis	12%
Oftalmoplejía	9%

Tabla II. Características más frecuentes que encontraron Chang et al. al realizar un metaanálisis sobre el síndrome de Leigh⁽¹¹⁾.

La Tabla II muestra las características más frecuentes actualizadas a 2020 según Chang et al. Con relación a dicha clínica, son muy interesantes las investigaciones de Sofou et al., quienes realizaron el seguimiento a pacientes con síndrome de Leigh durante una media de 9.6 años. De los pacientes, un 56,9% tuvieron al menos una exacerbación aguda que necesitó hospitalización, las causas de la misma fueron: infección (60,8%), complicaciones respiratorias (13,5%), episodios tipo apoplejía (4%), y/o problemas nutricionales o deshidratación (4%). Se relacionó las recaídas con signos patológicos desde el nacimiento e historia de ataques epilépticos. También describen como las principales causas de muerte: complicaciones respiratorias (51%), progresión de la enfermedad (17,6%) o infección (17,6%)⁽¹¹⁾.

Me parece relevante señalar que se han publicado estudios que se centran en aspectos concretos de la clínica de Leigh, muchas veces para intentar encontrar una relación genotipo-fenotipo que ayude a diagnosticar esta enfermedad mitocondrial de manera más precoz. De todos ellos, se han escogido las manifestaciones oftalmológicas y la epilepsia como dos ejemplos de las mismas.

En cuanto a la clínica oftalmológica Han et al., describen la ptosis como un signo inicial del síndrome de Leigh. Comentan que muchas veces dentro de la población asiática, este hallazgo es incorrectamente diagnosticado como miastenia gravis juvenil, dado que en esta población la prevalencia de esta enfermedad no es baja. Igualmente sabemos que la ptosis también se puede relacionar con traumatismos y enfermedades neurológicas o sistémicas, lo que como en la mayoría de hallazgos iniciales de enfermedades mitocondriales es inespecífico de las mismas. Los signos más frecuentes que estos autores encontraron fueron (Tabla III): ptosis, nistagmo, oftalmoparesia, atrofia óptica, estrabismo y retinitis pigmentosa⁽⁹⁾.

En el estudio también se analiza si hay signos oftalmológicos que marquen un mejor o peor pronóstico de la enfermedad, pero no hay ninguno estadísticamente significativo (Tabla IV). Sí existe una correlación fenotipo-genotipo en algunas mutaciones específicas, como por ejemplo⁽⁹⁾:

- La m.3242A>G se relaciona con distrofia de retina pero no con atrofia óptica.
- La c.372delG en el gen SURF1 y la m.13513G>A en el gen MT-ND5 se relacionan con atrofia óptica.

- La m.1019T>C en el gen MT-ND3 y la m.8993T>G o la m.8993T>C en el gen ATPase6 se relacionan con retinitis pigmentosa.

Table 1 Baseline characteristics and ophthalmologic manifestations in patients with LS

	LS total (n=44)	LS with MRC I deficiency (n=24)	LS with MRC IV deficiency (n=12)	LS with MRC I+IV deficiency (n=8)
Age at onset (years)	1.46±1.78	1.25±1.35	1.25±1.35	1.60±1.57
Age* (years)	5.65±3.88	6.39±3.80	5.44±4.82	3.78±1.56
Sex (female:male)	29:15	15:9	10:2	4:4
Strabismus, n (%)	18 (40.9)	11 (45.8)	3 (25.0)	4 (50.0)
Nystagmus, n (%)	6 (13.6)	2 (8.3)	2 (16.7)	2 (25.0)
Ptosis, n (%)	7 (15.9)	3 (12.5)	2 (16.7)	2 (25.0)
Optic atrophy†, n (%)	9 (22.5)	6 (30.0)	2 (16.7)	1 (12.5)
Pigmentary retinopathy†, n (%)	9 (22.5)	3 (15.8)	3 (25.0)	3 (37.5)

*Age at last visit to ophthalmology department.
†Optic atrophy and pigmentary retinopathy were assessed in 40 patients who had dilated fundus examination.
LS, Leigh syndrome; MRC, mitochondrial respiratory chain complex.

Tabla III. Relación de las alteraciones en los complejos mitocondriales y las manifestaciones oftalmológicas observadas en el síndrome de Leigh⁽⁹⁾.

Table 3 Patient demographics and ophthalmological manifestations according to prognosis group

	Good prognosis group (N=15)	Poor prognosis group (N=29)	p Value
Age at onset	2.47±2.06	0.92±0.98	0.002
Sex (M:F)	10:5	19:10	0.939
Serum lactate (mmol/L)	3.23±1.36	4.54±2.31	0.051
Lactate peak in MRS	5 (33%)	9 (31%)	0.568
MRI findings			
Diffuse brain atrophy	4 (27%)	20 (69%)	0.009
Brain stem	4 (27%)	10 (34%)	0.432
Cerebellum	3 (20%)	9 (31%)	0.343
Basal ganglia	15 (100%)	29 (100%)	–
Thalamus	8 (53%)	13 (45%)	0.414
Ophthalmologic phenotypes			
Ptosis	4 (27%)	3 (10%)	0.166
Strabismus	4 (27%)	14 (48%)	0.145
Nystagmus	1 (7%)	5 (17%)	0.320
Optic atrophy	3 (21%)	6 (23%)	0.617
Pigmentary retinopathy	3 (21%)	6 (23%)	0.617

MRS, magnetic resonance spectroscopy.

Tabla IV. Características clínicas y manifestaciones oftalmológicas que se relacionan con un mejor o peor pronóstico en el síndrome de Leigh, sin que ninguna de éstas sea estadísticamente significativa⁽⁹⁾.

En cuanto a la epilepsia y el síndrome de Leigh, podemos comentar que en el artículo de Lee et al., se realizó la secuenciación genética a 125 pacientes con sospecha clínica de Leigh. De todos ellos, se encontró una mutación en el ADNmt a 24 pacientes. De estos 24, 14 tuvieron episodios de ataques epilépticos (56%), siendo las crisis focales las más frecuentes (6/14, 42,8%) y las segundas más frecuentes las generalizadas (5/14, 35,7%). Dentro de las focales, las parciales complejas fueron las más frecuentes (3/14, 21,4%). Dentro de las generalizadas, las mioclónicas, tónicas y tónico-clónicas tuvieron una prevalencia más o menos semejante en todos los pacientes de esta cohorte⁽¹²⁾.

Todos los pacientes presentaban un patrón lentificado y desorganizado de actividad neuronal en el EEG, mientras que ocho tuvieron descargas epileptógenas en sus EEGs (35,7%), ya fueran estas, puntos focales de actividad u ondas picudas. Ningún paciente presentó estatus epileptógeno⁽¹²⁾.

El 85,7%, es decir, 12 de los 14 pacientes estaban tomando medicación anticonvulsionante en el momento del estudio. De estos, 8 estaban tomando solo un fármaco (57,1%) y 4 pacientes no controlaron los síntomas pese al tratamiento con un solo fármaco y tuvieron que introducir dos o más fármacos para el control de sus crisis⁽¹²⁾.

Tras el inicio con el tratamiento antiepiléptico, seis pacientes no tuvieron más crisis y tres pacientes vieron disminuidos el número de las mismas. Dos pacientes no tuvieron mejoría pese al tratamiento y uno incluso tuvo un mayor número de crisis que antes de iniciar el tratamiento. Pero, tras todo el periodo de seguimiento (unos 5 años), 8 de los 14 pacientes estuvieron libres de crisis epilépticas⁽¹²⁾.

De manera significativa ($p=0,042$), el 50% de los pacientes de Leigh con epilepsia vs 9,1% de los pacientes con Leigh que no tenía epilepsia, presentaban más síntomas gastrointestinales. También presentaban más atrofia cerebral difusa (64,3% vs 18,2%, $p=0,042$) y más alteraciones en las señales corticales (57,1% vs 9,1%, $p=0,033$). Sin embargo, las señales anómalas en otras áreas cerebrales y los niveles de lactato no mostraban diferencias significativas en los grupos con y sin epilepsia⁽¹²⁾.

La dismotilidad intestinal puede estar causada por un descenso en la proliferación mitocondrial y esto puede llevar a una marcada atrofia de la capa externa de la muscular propia. Igualmente puede estar provocada por una neuropatía central o periférica. Además, estas disfunciones gastrointestinales en pacientes con Leigh pueden ser debidas a problemas de malabsorción que pueden derivar en deficiencias de micronutrientes como el calcio, magnesio y sodio entre otros, alterando la neuroexcitabilidad y relacionarse así con un mayor número de crisis epilépticas. O también por problemas de malnutrición que exacerban las inmunodeficiencias e incrementan el riesgo de infecciones al alterar el sistema fagocítico y la vía del complemento, lo que colectivamente incrementa el riesgo de epilepsia⁽¹²⁾.

En este estudio se concluye que pese a que hay muchas afectaciones del sistema nervioso central en el síndrome de Leigh, la prevalencia de epilepsia en los mismos no es especialmente alta y que igualmente ésta no se da de manera equitativa entre todas las enfermedades mitocondriales⁽¹²⁾.

Pese a que lo más frecuente en el síndrome de Leigh es la afectación neurológica de los ganglios basales y troncoencéfalo, en este estudio se vio que también los pacientes con Leigh podían presentar alteraciones corticales y que estas marcaban el desarrollo de clínica epileptógena. Además, la presencia de epilepsia en estos pacientes se podría utilizar como un marcador de progresión de la enfermedad, dado que los pacientes con epilepsia y Leigh tienden a tener más atrofia difusa cerebral^(7,12).

Manifestaciones no-neurológicas^(3,4)

- Apariencia dismórfica sobre todo en la mutación SURF1.
- Alteraciones endocrinas: baja estatura, diabetes mellitus, hipertricosis (este último presente en la mutación SURF1).
- Alteraciones renales: tubulopatías o alteraciones glomérulo-quísticas.

- Alteraciones cardíacas: miocardiopatía hipertrófica principalmente pero también hay casos de dilatada, arritmias o defectos en la conducción con casos de WPW.
- Alteraciones gastrointestinales: diarrea, vómitos, estreñimiento, gastritis, megacolon.
- Alteraciones hepáticas: con incremento de las transaminasas, hepatomegalia...

En cuanto a la afectación cardíaca, Sofou et al. han demostrado que tanto la miocardiopatía hipertrófica como la dilatada en todos los pacientes con ADNmt, no aparecía en el momento del diagnóstico sino que se desarrollaba más adelante⁽¹³⁾.

De manera más específica, en los pacientes con Leigh que presenten la mutación m.13513G>A, en los que la aparición de miocardiopatía hipertrófica con o sin síndrome de WPW no es infrecuente, sería adecuado realizar estudios cardíacos⁽⁵⁾.

Relación genotipo-fenotipo

Sofou et al. describen que los genes MT-ND y NDUF del complejo I comparten características fenotípicas (Tabla V) y que el 25% de su cohorte desarrollaron precozmente clínica en el sistema nervioso central, así como manifestaciones cardíacas (p=0,001) y oftalmológicas (p=0,023), comparativamente con mutaciones en otros genes. Otros ejemplos de genes que tienen descrito un fenotipo claro son: SURF1, SUCLA2, SLC19A3⁽¹³⁾.

Forma especial en Quebec

La mutación en el gen LRPPRC se aisló originariamente en la zona franco-canadiense de Quebec. Este tipo de mutación además tiene una presentación clínica propia y caracterizada por dismorfia facial ligera, hepatopatías y un curso clínico con episodios agudos de descompensación metabólica que contribuyen a su importante mortalidad. De los 56 casos con esta mutación descritos en el artículo, 55 eran homocigotos p.A354V de LRPPRC, lo que supone una incidencia en Quebec de 1/2000 niños vivos⁽⁷⁾.

Gene	MT-ATP6	MT-ND	NDUF	SURF1	SLC19A3	SUCLA2	
CLINICAL	Dyskinesia Ophthalmoplegia Ataxia m.8993T>C Basal ganglia	Dystonia Spasticity Heart disease Renal dysfunction	Dystonia Ataxia Epilepsy	Failure to thrive Ataxia Epilepsy	Dystonia Spasticity Central hypoventilation	Sensorineural hearing loss Hyperhidrosis	
NEUROIMAGING	Basal ganglia Cerebellum	Basal ganglia Thalamus Brainstem	Basal ganglia Cerebral cortex	Basal ganglia	Basal ganglia Thalamus Brainstem Cerebellum	Basal ganglia	
LABORATORY	Variable complex deficiencies High 3-methylglutaconic acid in urine	CV deficiency CI deficiency	CIV deficiency COX deficiency on muscle histochemistry	CIV deficiency	Respiratory chain enzyme activities usually normal	Variable complex deficiencies High methylmalonic acid in urine	
Gene	SERAC1	MT-ATP6	MT-ND	NDUF	SURF1	SLC19A3	SUCLA2

Tabla V. Representación de las características fenotípicas y cómo éstas se superponen en siete de los genes más frecuentemente afectados de síndrome de Leigh⁽¹³⁾.

Diagnóstico

Criterios de Rahman et al. de 1996⁽³⁾

- Enfermedad neurológica de carácter progresivo con retraso en el desarrollo motor e intelectual.
- Signos y síntomas de alteraciones a nivel troncoencefálico y/o ganglios basales.
- Niveles altos de lactato en sangre y/o líquido cefalorraquídeo. Esta elevación está presente en la mayoría de pacientes, pero su presencia no es obligatoria e igualmente su ausencia no descarta el cuadro. También es importante comentar, que se relacionan los niveles altos de lactato con: un curso clínico más severo, un inicio de la clínica anterior a los 6 meses de vida, el hecho de que los pacientes presenten muchas exacerbaciones o que haya un mayor compromiso del troncoencéfalo.
- Alteraciones características en pruebas de neuroimagen o a nivel post mortem en muestras neuropatológicas.

En los criterios más novedosos se ha propuesto eliminar los niveles de lactato alto como criterio obligatorio como ya se ha comentado y se ha incluido la disfunción mitocondrial objetiva como nuevo criterio. El resto de los mismos, se mantienen sin cambios.

Todo aquel paciente que no cumple de manera completa, pero que tiene algunos de los criterios cae dentro de la clasificación de síndrome-tipo-Leigh⁽³⁾.

Pruebas de neuroimagen

Ante la sospecha clínica y analítica, se debe realizar un RMN cerebral, con especial hincapié en la fase T2, que suele cursar con aparición de lesiones focales, bilaterales, simétricas, hiperintensas de localización preferente en ganglios de la base (sobre todo putamen) y/o troncoencéfalo⁽³⁾.

Es capital señalar que el carácter de estas lesiones es casi siempre simétrico y que en muy pocas ocasiones se han publicado casos de síndrome de Leigh con lesiones asimétricas en la neuroimagen⁽³⁾.

En caso de realizar TC, las lesiones serían igualmente simétricas y bilaterales pero hipodensas. De la misma manera, en la RMN en fase T1, las lesiones son hipointensas⁽³⁾.

También se pueden afectar pero en menor medida: tálamo, sustancia negra, núcleo rojo, cerebelo, sustancia blanca y médula espinal. Dichas lesiones se relacionan con la depleción de ATP, aparición de acidosis láctica, congestión vascular, hipoxia y finalmente la necrosis del tejido afecto⁽³⁾.

Alteraciones en pruebas de laboratorio

Los pacientes pueden presentar un incremento de los niveles de lactato como ya se ha comentado, pero también un incremento en el ratio lactato/piruvato, incremento de los niveles de alanina, hipocitrulinemia (que se estipula como un posible marcador para la mutación m.8993T>G) y acúmulo de intermediarios del ciclo de Krebs. Estos

marcadores por desgracia no son biomarcadores útiles porque tienen baja sensibilidad y especificidad^(2,3).

Alteraciones en la biopsia muscular

Se suelen describir los siguientes hallazgos: acumulación lipídica con fibras COX-negativas y deficiencia de succinato deshidrogenasa o mitocondrias de configuración anormal. Estos suelen ser los hallazgos más habituales, pero las biopsias pueden también ser normales⁽³⁾.

Las fibras rojo rasgadas tan importantes en otras enfermedades mitocondriales (como el síndrome de MELAS o MERF), son una excepción en el síndrome de Leigh y por tanto, no deberían realizarse de manera sistémica por la baja rentabilidad y el bajo riesgo-beneficio⁽³⁾.

En el meta-análisis de Chang et al., se comprobó que en las biopsias musculares de 104 pacientes, 57 tenían alteraciones. Bajo el microscopio óptico no se mostró ninguna, mientras que bajo el microscopio electrónico de transmisión se mostró acumulación en el sarcoplasma de mitocondrias con aspecto tanto normal como anormal en un 46% o presencia de mitocondrias engrosadas con o sin crestas anormales en un 22%, y hasta un 20% no tenía cambios degenerativos específicos⁽¹¹⁾.

Alteraciones en los estudios genéticos

Puede considerarse que la principal prueba genética para el diagnóstico de alguna enfermedad mitocondrial es la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Hay varios tipos de PCR, pero el más efectivo actualmente es la PCR en tiempo real (RT-PCR), dado que estudia el genoma mitocondrial de diferentes tejidos entre los que podemos destacar: sangre, células de la mucosa bucal y/o células que podemos encontrar en muestras de orina en poco tiempo. Igualmente estos estudios pueden tener resultados totalmente normales según el tipo de tejido aislado y estudiado que puede no estar afecto por el fenómeno de heteroplasmia (Figura 4)⁽³⁾.

Entre las ventajas de esta técnica destacan que permite hacer una amplificación específica, tiene una metodología de un único paso, disminuye la manipulación de las muestras y es sencilla y rápida.

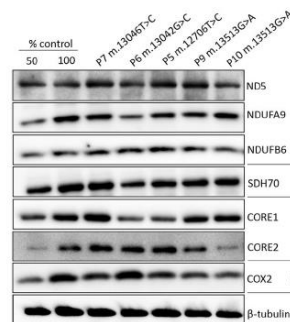


Figura 4. Comparación de los niveles de diferentes proteínas de OXPHOS de pacientes afectados con mutaciones heteroplásmicas del gen MT-ND5⁽⁵⁾.

En el estudio de O'Callaghan et al. del 2015, se vio que la carga de mutaciones era mayor en las células provenientes de las muestras de orina de los pacientes, por lo que postularon que podría ser útil para el diagnóstico y estudio de familiares con enfermedades de herencia mitocondrial el usar muestras de orina⁽¹⁴⁾.

Igualmente este tipo de análisis permite no tener que realizar una biopsia muscular a muchos pacientes con enfermedades mitocondriales, siendo esto una ventaja ya que es una prueba menos invasiva y, en el caso del síndrome de Leigh, una buena alternativa también, dado que muchas veces las biopsias musculares de estos pacientes son normales.

Tradicionalmente, una vez realizada la historia clínica y la exploración exhaustivas, se realizaba un estudio que medía la actividad enzimática de OXPHOS y PDHc en una biopsia muscular o en un cultivo celular de fibroblastos de la piel del paciente, lo que guiaba un poco un estudio gen a gen posterior. Aunque se pueden seguir realizando estos estudios enzimáticos, el paradigma actual son los MPS (Massively Parallel Sequencing), que es un sinónimo de NGS (Next Generation Sequencing), en el que podemos analizar una gran cantidad de genes en poco tiempo⁽⁷⁾.

Lo que con frecuencia se piden son estudios de “paneles de genes” o estudio de unos pocos cientos de genes, pero el incremento en el descubrimiento de nuevos y diferentes genes involucrados en las enfermedades genéticas puede hacer que este tipo de estudios quede en desuso de manera rápida⁽⁷⁾.

El secuenciado de todo el exoma puede potencialmente detectar mutaciones en cualquier gen nuclear pero no es muy sensible para los genes mitocondriales, por lo que debería ir acompañado en el estudio de enfermedades mitocondriales de un estudio aparte de las mutaciones en el ADN mitocondrial. Por otro lado, el secuenciado de todo el genoma puede detectar mutaciones en el ADN nuclear y mitocondrial pero no está disponible de manera tan amplia como el secuenciado del exoma⁽⁷⁾.

Ambos tipos de secuenciado tienen sus ventajas y desventajas pero Lake et al. han sido capaces de diagnosticar molecularmente >60% de los casos utilizando dichos métodos y con un diagnóstico de Leigh muy estricto (marcado por los criterios originales de Rahman et al.)⁽⁷⁾.

Curso clínico y pronóstico

Los datos extraídos de un estudio retrospectivo multicéntrico que incluía a 130 pacientes con el síndrome de Leigh son básicos para extrapolar los siguientes resultados.

En torno al 44% de los pacientes presentaron exacerbaciones agudas de la clínica y necesidad de hospitalización en el primer año de seguimiento, principalmente por infecciones (60,8%) o por complicaciones respiratorias (13,5%). Las complicaciones respiratorias se pueden relacionar con las alteraciones en el troncoencéfalo o con miopatías de los músculos respiratorios. Igualmente, se conoce que una de las principales causas de muerte en estos pacientes es el fallo respiratorio. Dichos episodios tenían una frecuencia mayor en pacientes que ya presentaban clínica en el

momento del nacimiento o en pacientes que presentaban ataques epilépticos desde el diagnóstico⁽³⁾.

De igual forma, hay resultados contradictorios con respecto al fallo cardíaco. Hay estudios que sí han encontrado que el fallo cardíaco es una causa de muerte en estos pacientes, mientras que otros, no encuentran relación entre la afectación cardíaca y una menor supervivencia⁽³⁾.

Sabemos que el metabolismo cerebral supone un 20-25% del gasto energético basal en adultos. Estos requerimientos son aún mayores durante la infancia, en la que las necesidades de consumo de glucosa por parte del cerebro suponen hasta un 66% del metabolismo basal. Por lo que no es de sorprender que los defectos en OXPHOS y en la generación de energía afecten mucho al cerebro y que la clínica de Leigh se centre muchas veces a nivel neurológico. Hay hipótesis que sostienen que las necesidades máximas de glucosa y de gasto metabólico se dan a la edad de 5 años, y que si los pacientes con Leigh sobreviven este periodo, se puede llegar a predecir una mayor supervivencia que en pacientes que no lo hagan⁽⁷⁾.

Esto se ha visto en una cohorte de pacientes con la mutación LRPPRC, en la que no se vieron crisis metabólicas en niños mayores de 7 años y se vio un incremento en la edad media de fallecimiento de los mismos⁽⁷⁾.

En otro estudio longitudinal, en el que se investigaron varios pacientes con mutaciones en el complejo I, se extrajeron los siguientes resultados.

De los pacientes que seguían vivos a lo largo del estudio, podemos nombrar en cuanto a sus problemas respiratorios que: 25 dependían de ventilación mecánica invasiva, 3 necesitaban dispositivos ventilatorios con presión positiva no invasivos y a 3 se les tuvo que realizar una traqueotomía por disfunción grave de su vía aérea. En cuanto a su discapacidad física, 61 perdieron o no llegaron a adquirir control postural de la cabeza, 13 sí que mantuvieron dicho control pero no podían mover la cabeza por sí solos por lo que básicamente vivían postrados, 30 pacientes sí que podían sentarse, darse la vuelta y permanecer de pie y 20 eran capaces de andar⁽¹⁵⁾.

En cuanto a supervivencia, los pacientes con ADNmt tienen una mortalidad similar a los de ADNn. Pero sí que es verdad, que los pacientes con defectos enzimáticos tienen una mayor mortalidad comparados con los que tienen una actividad del complejo enzimático normal ($p < 0,026$). Como ya se podía suponer, la mortalidad era mucho mayor en los pacientes que mostraban síntomas y signos antes de los 6 meses de edad ($p < 0,0001$)⁽¹⁵⁾.

Inicialmente Rahman et al. en 1996 hablaban de un 20% de supervivencia para los 20 años. Lee et al. en 2009 hablaban de que un 57% de sus 14 pacientes habían muerto a los 1,5 años de edad. En Europa, Sofou et al. en 2014, publicaron una mejor supervivencia en sus pacientes, del 60% para 10 años y del 40% para los 20⁽¹⁵⁾.

Estrategias terapéuticas

Como en la mayoría de enfermedades mitocondriales, los tratamientos se centran en mejorar los síntomas y la calidad de vida de los pacientes, es decir, son principalmente sintomáticos, dado que a día de hoy no hay ningún tratamiento curativo⁽³⁾.

Hay varios factores que hacen que los estudios clínicos de fármacos para enfermedades mitocondriales sean difíciles de realizar:

- 1) Al tratarse de enfermedades raras, la prevalencia de las mismas es de <5:10.000 habitantes, lo que hace que el reclutamiento de pacientes sea más difícil. Igualmente, el número bajo de casos no es atrayente para las grandes farmacéuticas y muchos fármacos se financian como fármacos huérfanos⁽³⁾.
- 2) Los resultados son igualmente difíciles de extrapolar porque hay varios genes y vías involucrados para un mismo síndrome, lo que hace que un mismo fármaco pueda tener una eficacia diferente en diferentes pacientes que presentan la misma enfermedad⁽³⁾.
- 3) El curso fluctuante con episodios de mejora espontánea o de estabilidad que pueden malinterpretarse como una respuesta positiva al fármaco a estudio⁽³⁾.
- 4) La corta expectativa de vida de muchos de estos pacientes.
- 5) La baja efectividad de los estudios publicados porque no son aleatorizados doble ciego.

Los resultados publicados relativos a la mayoría de suplementos para enfermedades mitocondriales son contradictorios, algunos sugieren una mejoría de la sintomatología y otros son nulos. Como todos los estudios señalan que no producen efectos secundarios podrían ser una medida a tener en cuenta, sobre la base de que dichos suplementos consiguieran mejorar la calidad de vida de pacientes concretos⁽³⁾.

Sí que se ha visto que para alteraciones genéticas que causan déficits de factores específicos, los tratamientos con repleción de dichos defectos mejoran la clínica de los pacientes. Como por ejemplo, el tratamiento con biotina y tiamina a altas dosis para la mutación SLC19A3⁽³⁾.

Coenzima Q10, Idebenona, Vatiquinona

Otro ejemplo sería el tratamiento con coenzima Q10 o CoQ10, con efectos de mejora de síntomas en síndromes con déficits primarios de su síntesis. También se ha visto un ligero grado de mejoría en otros trastornos, dado que la CoQ10 se encarga de transferir electrones del complejo I y II al III, además de funcionar como antioxidante en varios procesos intercelulares. Un ejemplo de esto es el tratamiento con idebenona, un derivado de CoQ10, que al atravesar la barrera hematoencefálica, es captado por las células más fácilmente y que se ha utilizado como tratamiento en pacientes con el síndrome de Leigh, con una estabilización de la función respiratoria de más de 4 años de evolución con el mismo⁽³⁾.

De manera más reciente, la quinona EPI-734 sintética (vatiquinona) o alfa-tocotrienol quinona, está siendo probada en ensayos clínicos de fase I y II, en distintos países tras su aprobación en 2011 por la FDA (Agencia Estatal de Medicamentos de EEUU). Se desarrolló para tener mejores propiedades terapéuticas que la CoQ10 o la idebenona, como se evidenció in vitro teniendo una potencia y eficacia mayor de 10^2 - 10^4 en comparación con la CoQ10 y la idebenona. Se han realizado varios estudios, con resultados variados, pero en todos ellos se registra la ausencia de efectos adversos graves relacionados con su administración. De hecho, uno de los artículos describe el uso caritativo que recibió una niña japonesa de 8 meses, que presentaba un curso muy sombrío del síndrome de Leigh (mutación T10158C en el gen ND3,

mutación relacionada con el complejo I y niveles de hetoplasma entorno al 90% en los tejidos estudiados), en el que con dicha edad, perdió hasta la capacidad espontánea respirar y se le tuvo que realizar una traqueotomía. El tratamiento se realizaba a través de sonda gástrica, dado el grado de postración de la paciente, con dosis de 30mg/kg. Tras el segundo día con el tratamiento, comenzó una mejoría clínica en la que la niña con el tiempo, pudo llegar a respirar voluntariamente sin traqueotomía y con 5 años en el momento de publicación del texto, está durante 4h/día libre del soporte ventilatorio mecánico. Sí que sigue teniendo unas 10 sacudidas tónicas al día. Pero incluso este estudio tuvo una respuesta de un lector, a través del formato “carta al editor”, en el que resaltaba los puntos débiles de estos tratamientos, algunos ya comentados. En este caso, sobre todo se centraba en que el autor del artículo no podía asegurar que la mejoría clínica se debiera simplemente al curso en crisis-remisión que llevan este tipo de enfermedades y no a la eficacia de la vatiquinona^(3,16,17).

Piruvato

El tratamiento con piruvato es otro ejemplo más de un posible tratamiento para el síndrome de Leigh. Se cree que estimula la vía glicolítica al reducir el ratio NADH/NAD, activar el PDHc, inhibir la piruvato kinasa y eliminar peróxidos de hidrógeno a través de reacciones no enzimáticas. Sí que se ha definido como efecto secundario la diarrea crónica^(2,3).

Vitaminas

Una revisión sistemática de Cochrane no demostró evidencia clara de la utilidad de estos cócteles vitamínicos compuestos de vitaminas B, C y E, a parte de la carnitina y CoQ10 ya comentados. Esto se basa en que la mayoría de la bibliografía proviene de estudios de casos, pero como no tienen muchos efectos secundarios, es razonable su uso siempre que haya una respuesta al mismo⁽²⁾.

Nutrición

El estado nutricional del paciente debe ser optimizado porque los déficits nutricionales pueden empeorar las disfunciones mitocondriales ya presentes. Una dieta rica en lípidos puede contribuir a la transferencia de electrones y protones al complejo II al favorecer la producción de FADH₂. Esto puede ser igualmente importante en déficits del complejo I, dado que la infusión de glucosa a altas concentraciones y la dieta rica en hidratos de carbono puede producir exceso de NADH, empeorando el equilibrio redox. Por tanto, las dietas ricas en lípidos y bajas en hidratos de carbono pueden considerarse como un tratamiento válido⁽²⁾.

Tratamiento con inhibidores de mTOR

Es importante comentar que las vías responsables del registro y respuesta de la disponibilidad de nutrientes intracelulares incluyen la expresión y actividad de reguladores celulares de crecimiento como por el ejemplo, la vía de la mTORC1. Un descubrimiento de cómo este tipo de vía terapéutica podía ser útil para las enfermedades mitocondriales ofreció resultados aleatorios, dado que al tratar a un paciente trasplantado de riñón que sufría de MELAS, este mejoró clínicamente del síndrome mitocondrial con el uso de inhibidores de las mTOR^(7,18).

De cara a estudiar esta vía más en profundidad, se han realizado estudios con ratones KO (knockout) para el gen *NDUFS4*, implicado en el síndrome de Leigh y que afecta al complejo I. Al tratar con rapamicina a dichos animales, se vio una reducción de los metabolitos que se producen en la vía glicolítica, sugiriendo que este fármaco alivia la clínica que produce la acidosis láctica⁽⁷⁾.

La mutación en el citado gen *NDUFS4* daba problemas motores, retraso del crecimiento y pérdida de peso para los ratones KO y al tratarlos con rapamicina, se prolongó su vida de 50 a 114 días, mejoró su actividad y no desarrollaron activación astrocitaria o glial que sí se vio en los ratones KO no tratados⁽¹⁸⁾.

En otro estudio, se sugiere que la actividad de mTOR en los fibroblastos puede ser un posible biomarcador de la actividad de la enfermedad o un predictor de la respuesta al tratamiento. Por el contrario, los niveles de heteroplasma no lo deberían ser, dado que no se vieron alterados durante el tratamiento⁽⁵⁾.

En los posteriores estudios hechos con humanos, la rapamicina mejoraba la morfología mitocondrial, el potencial de membrana y la capacidad replicativa celular. Pese a la mejora clínica, la heteroplasma leucocitaria en estos pacientes no se vio alterada, como ya hemos comentado⁽¹⁸⁾.

El fármaco con el que más se está experimentando actualmente es el everolimus. El everolimus es un análogo de la rapamicina, un inhibidor de mTOR que fue aprobado por la FDA en 2010 para el tratamiento de astrocitomas en pacientes con esclerosis tuberosa. Se ha comprobado además, que el everolimus se tolera mejor por los pacientes que la rapamicina, de ahí que este se use más a día de hoy. Como efectos secundarios de esta familia de fármacos debemos comentar la inmunosupresión, hiperlipidemia y problemas en la cicatrización, pero todos estos ya se conocían, dado que estos fármacos se utilizan ampliamente como parte del tratamiento inmunosupresor de pacientes trasplantados⁽¹⁸⁾.

Por comentar un caso concreto, Sage-Schwaede et al., trataron a una niña con una mutación nuclear del síndrome de Leigh y a un niño con una mutación mitocondrial del síndrome MELAS con everolimus, teniendo resultados muy dispares en los dos casos.

El estudio se basó en la administración de everolimus vía oral o a través de gastrostomía, hasta alcanzar un nivel sanguíneo de 5-10ng/mL de dicho fármaco. Para medir la eficacia del tratamiento, se realizaron RMN para monitorizar el estado de la enfermedad y se usó una escala motora GMFM-88 (método de la función motora gruesa con un máximo de 88 ítems)⁽¹⁸⁾.

La niña que se trató con everolimus, tenía una mutación sinsentido de tipo homocigosis para *NDUFS4* (c.355G>C) causante del síndrome de Leigh. En el momento de empezar con el estudio, la niña tenía 2 años, ya no podía ponerse de pie ni gatear, necesitó una traqueotomía y una gastrostomía para poder seguir viviendo, su GMFM-88 era de 48,8%⁽¹⁸⁾.

Tras 6 meses de tratamiento, su RMN mostró una disminución de las lesiones hiperintensas bilaterales del tálamo y troncoencéfalo. Tras 19 meses de tratamiento, podía andar de manera independiente con un cierto componente atáxico en la marcha, podía articular frases enteras y no dependía de la traqueotomía ni gastrostomía. Con

44 meses de edad, tenía un GMFM-88 del 83,8%. Con 22 meses de tratamiento, las señales de la RMN mejoraron pero aparecieron nuevos focos de captación anormal en la médula⁽¹⁸⁾.

El niño tenía una mutación m.3243A>G causante del síndrome MELAS. En el momento de empezar con el estudio, el niño tenía 5,5 años, estaba hipotónico, letárgico, presentaba ataques epilépticos y necesitó una gastrostomía. Podía sentarse con una estabilidad muy pobre pero no podía ponerse de pie ni andar, su GMFM-88 era de 11,8%. En el seguimiento del tratamiento, se vio mediante RMN que su enfermedad no solo no mejoró, sino que continuó su curso, hasta el fallecimiento del niño con 6 años y medio⁽¹⁸⁾.

De este estudio se sugiere que algunos, pero no todos los pacientes con enfermedad mitocondrial se beneficiarían del tratamiento con inhibidores de mTOR. El hecho de que la paciente presentara una mutación en ADNn mientras que el paciente la presentara en el ADNmt sugiere que el tipo de ADN mutado puede que influya en la respuesta al tratamiento⁽¹⁸⁾.

Otros factores que pueden definir el grado de eficacia del fármaco son el género dado que las mujeres responden mejor a los inhibidores de las mTOR. También puede ser que el fármaco no sea enfermedad-dependiente, sino más bien dependiente del estadio, progresión y severidad de la enfermedad responsable⁽¹⁸⁾.

Bezafibrato (BZF)

Basándose en la biosíntesis mitocondrial y considerando a esta una vía de terapéutica en la que no se altere la genética mutada, pero en la que se mejore la afectación de la fosforilación oxidativa de las enfermedades mitocondriales, Hat et al., han realizado estudios con SHED (células madre provenientes de dientes de leche humanos).

Las SHED por tanto, son células madre mesenquimales presentes en la pulpa dental. Este tipo de tejido se puede recoger de manera no invasiva y pueden derivarse hacia neuronas, osteoblastos, hepatocitos y adipocitos. Dichos investigadores se han basado en este tipo concreto de tejido porque se conoce que la calidad del hueso óseo se ve afectada en las enfermedades mitocondriales, sin embargo no se conoce de manera clara el porqué de dicha alteración⁽¹⁹⁾.

Las SHED además tienen la ventaja de que se diferencian directamente en osteoblastos, lo que minimiza los factores de riesgo de introducir nuevas mutaciones en el ADNmt, como las que se asocian a la reprogramación celular. De ahí, que el modelo celular utilizado puede ser válido para extrapolar resultados in vivo de los resultados in vitro, sin verse estos afectados por los diferentes niveles de heteroplasma que pueden alterarse con la reprogramación⁽¹⁹⁾.

Los fármacos bezafibrato, resveratrol y 5-aminoimidazol-4-carboxamida ribonucleósido son posibles candidatos para el tratamiento de las enfermedades mitocondriales, dado que directa o indirectamente se dirigen a mejorar la PCG-1alfa y por tanto la OXPHOS mediante la biosíntesis mitocondrial⁽¹⁹⁾.

La familia de PGC-1, es un grupo de genes que regula la biogénesis y metabolismo mitocondrial. Esta familia son co-activadores transcripcionales que se identificaron

inicialmente como proliferadores de peroxisomas activados del receptor gamma (PPAR γ)⁽¹⁹⁾.

El estudio usó el bezafibrato por ser un agonista del PPAR γ y porque además regula el metabolismo óseo y la osteoporosis. Como parámetros de eficacia se decidieron medir los niveles de calcio mitocondrial, los potenciales de membrana mitocondrial y los niveles de ATP intracelular. Se obtuvo como resultado del tratamiento un efecto positivo del BZF en la osteogénesis in vitro de células de pacientes con síndrome de Leigh. De manera más específica podemos comentar⁽¹⁹⁾:

- Los osteoblastos de SHED se teñían con carmín de Alizarina de manera menos intensa en los pacientes con Leigh que en los pacientes sanos, igualmente se vio que tras el tratamiento con bezafibrato, la intensidad con la que se teñían las muestras era mayor en los pacientes con Leigh que en los pacientes sanos (Figura 5)⁽¹⁹⁾.
- Los niveles de ATP intracelular y los del calcio ascendieron en los pacientes de Leigh tratados con bezafibrato hasta niveles similares a la normalidad. Sin embargo, el bezafibrato no tuvo efecto sobre los potenciales de membrana mitocondrial⁽¹⁹⁾.
- En cuanto a la morfología mitocondrial, en las muestras de pacientes con Leigh, la cantidad de mitocondrias fragmentadas era mucho mayor que en los controles. Cuando les suplementaron con bezafibrato, el número de las mismas se redujo⁽¹⁹⁾.

Igualmente es importante comentar los puntos débiles del estudio, entre los que destacan:

- La administración in vivo de bezafibrato en ratones con defectos mitocondriales ha mostrado resultados variables al mismo. Estos resultados se ven modificados por el tipo de afectación genética, el órgano diana a tratar y la dosis de bezafibrato⁽¹⁹⁾.
- Los principales órganos afectados en Leigh son cerebro, corazón, hígado y riñón y el bezafibrato no va a poder tratar de manera efectiva todos estos, dado que el nivel de heteroplasmia y los factores involucrados en la biogénesis mitocondrial pueden variar de órgano a órgano y de paciente a paciente⁽¹⁹⁾.
- La formación in vivo del hueso y su metabolismo están regulados por osteoblastos y osteoclastos. Dado que el bezafibrato solo afecta a los osteoblastos es imposible saber si este efecto será suficiente para finalmente producir efectos terapéuticos in vivo⁽¹⁹⁾.

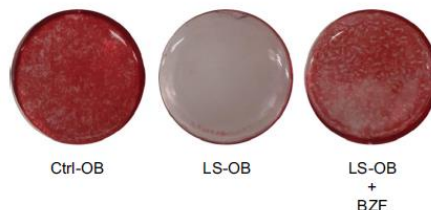


Figura 5. Muestras de osteoblastos (OB) teñidas con carmín de Alizarina. Se observa como la muestra del síndrome de Leigh (LS-OB), al ser tratada con Bezafibrato, recobra niveles similares a los del Control (Ctrl-OB)⁽¹⁹⁾.

Estados de hipoxemia

Como ya sabemos, la mitocondria se encarga de consumir una gran cantidad del oxígeno del cuerpo, pero en las enfermedades mitocondriales el consumo del mismo baja y este exceso de oxígeno es perjudicial para las células⁽²⁰⁾.

Este exceso de oxígeno además, produce un ambiente celular más proclive a las ROS (especies reactivas de oxígeno). Hay varios estudios con resultados no concluyentes al respecto, sugiriendo que un incremento en las ROS no siempre se correlaciona con la neurodegeneración de estos pacientes. Una posible explicación alternativa a esto es que la producción elevada de ROS es simplemente un reflejo del estado reducido de la cadena respiratoria, que lleva a un bloqueo parcial de la oxidación de NADPH y un descenso del ratio $NAD^+/NADH$. Además, este desequilibrio redox puede conllevar una desregulación en la señalización de vías relacionadas con sensar la disponibilidad de nutrientes ya comentadas⁽⁷⁾.

En varios estudios, Jain et al., han podido comprobar que el consumo de oxígeno disminuye con la hipoxia, y que los ratones KO para el gen *NDUFS4* que presentaban hiperoxia en los tejidos cerebrales, al exponerles de manera continua a una hipoxia normobárica (FiO_2 del 11%) su expectativa vital se alargó, se normalizó su peso corporal y se mejoró su actuación. Sabemos que hay un incremento en la hemoglobina y en la ventilación de manera compensatoria a la hipoxia crónica, lo que suele preservar el suficiente transporte de oxígeno a los tejidos, en este caso al cerebro sin producir cambios en la pO_2 cerebral. Todo esto, se basa en que la hipoxia reduce el contenido arterial de oxígeno al bajar la saturación arterial de oxígeno y la presión parcial de oxígeno arterial⁽²⁰⁾.

Al activar de manera artificial el programa transcripcional de hipoxia vHL-PHD-HIF (factor de von Hippel Lindau- prolil hidroxilasa- factor inducible de la hipoxia) se mejoraron los defectos producido por la hiperoxia. Dichos factores inducidos por hipoxia son uno de los componentes más importantes de la respuesta hipóxica celular. En los medios con buena oxigenación, las PHDs usan el oxígeno molecular como sustrato e hidroxilan los factores inducidos por hipoxia. Esta forma hidroxilada es la que reconocen las ligasas-E3 y el vHL que se encargan de activar la degradación proteosomal⁽²⁰⁾.

El activar el vHL-PHD-HIF por sí solo es insuficiente para prevenir la enfermedad en los ratones KO. Pero han descubierto que al estar el consumo de oxígeno desacoplado, los niveles de oxígeno incrementan en el cerebro de los ratones KO y por tanto los niveles de toxicidad de los mismos. Es decir, su estudio demostró que la activación genética de la respuesta hipóxica no es suficiente para resolver la enfermedad de Leigh por sí sola, pero no se puede decir que no sea necesaria, al menos parcialmente, para resolver la hipoxia y la enfermedad in vivo⁽²⁰⁾.

Posteriormente, usaron estrategias experimentales que reducían el transporte de oxígeno, como fue hacer respirar monóxido de carbono (CO) a niveles subletales en un ambiente del 21% de oxígeno a los ratones. El CO sabemos que incrementa la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno, reduciendo la carga del oxígeno que está unido a la hemoglobina y no liberándolo en los tejidos. Pero tras tres semanas de tratamiento, el incremento del hematocrito tanto en los KO como en los WT, produjo

hipoxia renal y un exceso en la producción de la eritropoyetina. Igualmente, se vio un incremento en el peso hasta alcanzar niveles normales, una prolongación en la esperanza de vida y una resolución completa de las lesiones en el núcleo vestibular de los KO con el tratamiento con CO. Obviamente, el tratamiento con CO tiene una ventana terapéutica muy estrecha y no será usado como vía terapéutica en un futuro (aunque se están empezando a realizar estudios clínicos con CO para pacientes con fibrosis pulmonar idiopática, dado que a bajas dosis se cree que tiene un efecto antiinflamatorio). A los ratones KO aunque les desaparecieron las lesiones presentes típicas de Leigh pretratamiento, post-tratamiento les aparecieron nuevas lesiones hiperintensas en la región del núcleo caudado y putamen posiblemente producidas por el exceso de CO⁽²⁰⁾.

Otra estrategia consiste en provocar un estado de anemia severa a los ratones para producir una regresión de la enfermedad neurológica. En el estudio se realizaron flebotomías y dieta pobre en hierro, para prevenir la regeneración de glóbulos rojos, llegando a niveles extremos en los KO con hemoglobina de 2-3g/dL. Pese a dichos niveles, los ratones estaban relativamente normales e incluso activos. Con todos ellos vieron que la anemia reducía los niveles de hiperoxia cerebral de estos ratones hasta niveles tipo WT. Igualmente alargó la vida de los KO de 55 a 130 días de media y produjo una desaparición en las lesiones de la RMN, sin embargo éstas reaparecieron cerca de la fecha de muerte de los ratones. El uso de las flebotomías para producir anemia puede suponer una hoja de doble filo dado que puede mejorar la hiperoxia por un lado, pero por otro, se sabe que en ciertas enfermedades mitocondriales la anemia empeora el pronóstico como por ejemplo en la deficiencia de la POLG⁽²⁰⁾.

Como conclusión de sus investigaciones, dichos autores abogan para que en un futuro la terapéutica de estas enfermedades esté más basada en normalizar la hiperoxia que en administrar antioxidantes, en un intento de prevenir los efectos tóxicos del oxígeno. Por ejemplo, el uso de los inhibidores de HIF que está ahora en estudio para el tratamiento del cáncer renal, podría ser en un futuro una vía terapéutica válida para dichas enfermedades⁽²⁰⁾.

Caso 1 o índice

La paciente índice de este trabajo, es la segunda hija de padres no consanguíneos, que tiene un hermano mayor de 8 años sano.

La paciente presentó prenatalmente asimetría de los ventrículos, con ventriculomegalia del ventrículo lateral izquierdo. Se le realizó una amniocentesis con resultado normal. Igualmente presentó oligoamnios en la semana 20, que como se ha comentado en el trabajo, es un signo inespecífico pero posible de afectación prenatal. El periodo perinatal transcurrió de la siguiente forma: se le indujo el parto en la semana 39 por razones desconocidas, tuvo un Apgar 9/10, un peso al nacer de 3100gr y un perímetro cefálico de 33cm. Se le realizó una ecografía transfontanelar que fue normal.

Por los antecedentes arriba comentados, se le realizaron controles desde el primer momento, realizándole a los 3 meses otra ecografía transfontanelar con una leve

asimetría del asta frontal en la que el ventrículo lateral derecho en este caso era mayor que el izquierdo. A los 7 meses, da impresión de normalidad y se le realiza otra ecografía en la que no hay nuevos hallazgos.

Con 13 meses, presenta retraso en el desarrollo neurológico normal, no gatea ni realiza pinza superior, está hipotónica. Comienza el gateo con 14 meses, señala, pero no imita y solo dice "mamá". Se remite en dicho momento al Programa de Atención Temprana. Igualmente, es valorada por digestivo, que le diagnostican una intolerancia a la proteína de la leche de vaca, por un estancamiento ponderal, por tener un percentil de peso <3. Se le realiza analítica en la que todos los parámetros están dentro de la normalidad, salvo un lactato alto.

Con 17 meses, se le aprecia un temblor de intención en manos y al inicio de la bipedestación. A los meses, es ingresada por hipoglucemia cetósica en el contexto de un cuadro febril, lo que podría corresponder a un episodio de estrés metabólico que precipitara la clínica de la enfermedad mitocondrial como ya se ha comentado previamente.

En la última consulta hasta el momento, con 19 meses, ha iniciado la marcha autónoma, imita pero no articula bisílabos propositivos. En la analítica mantiene el lactato alto, así como otros marcadores que indican un metabolismo glicolítico.

A partir de este momento, se comenta con los padres, la posibilidad de tratarse de una enfermedad mitocondrial, se le realiza RMN cerebral, biopsia muscular, cariotipo, FRAXA y arrayCGH.

Los resultados de la RMN cerebral fueron los siguientes: lesiones hiperintensas en secuencia FLAIR en estructuras mesencefálicas y tálamo de forma bilateral.

Al mes siguiente empieza con la clínica oftalmológica más frecuente del síndrome de Leigh, como es la ptosis palpebral bilateral, se le realiza un fondo de ojo que es normal. Igualmente se le realiza un estudio cardiológico, en el que hay signos de una incipiente miocardiopatía sin especificar de qué tipo.

En cuanto a los estudios genéticos realizados, se le extrajeron varias muestras de ADN de tejidos como sangre, pelo, mucosa bucal y músculo y se estudiaron algunas de las mutaciones más relevantes del ADNmt y que están asociadas al síndrome de Leigh usando la técnica de PCR-RFLP, que es un tipo especial de PCR:

1. Mutación T-C en el nucleótico 8993 (ATP6)
2. Mutación T-G en el nucleótico 8993 (ATP6)
3. Mutación T-C en el nucleótico 9176 (ATP6)
4. Mutación G-A en el nucleótico 14459 (ND6)
5. Mutación T-C en el nucleótico 14487 (ND6)
6. Mutación T-C en el nucleótico 14484 (ND6)
7. Mutación G-A en el nucleótico 13513 (ND5)

Encontrándose esta última en los siguientes porcentajes de heteroplasmia según tejidos:

- Sangre: 80% de mutación
- Pelo: 65-70% de mutación

- Mucosa bucal: 75% de mutación
- Músculo: 85% de mutación

También se realizó estudio genético a la madre y al hermano de la paciente, sin encontrarse mutación alguna, o dicha mutación estaba presente en porcentajes tan bajos de heteroplasmia que solo serían cuantificables por métodos más sensibles.

Caso 2

Niña de 8 meses que cursaba con hipotonía axial y retraso global en el desarrollo. Todos los antecedentes perinatales y familiares eran normales. En este momento la paciente no tenía otros hallazgos clínicos. En cuanto a los hallazgos del laboratorio, incluyendo el lactato, todos los valores estaban dentro del rango de normalidad⁽⁴⁾.

Con 9 meses, se le pauta fisioterapia 3 veces/semana durante 6 meses, al final de la misma presenta leve mejoría de la hipotonía con mantenimiento del retraso en el desarrollo, por lo que se le realiza una RMN (Figura 6). En la misma se visualizan lesiones bilaterales en zona lenticular y del putamen, sugiriendo enfermedad metabólica⁽⁴⁾.

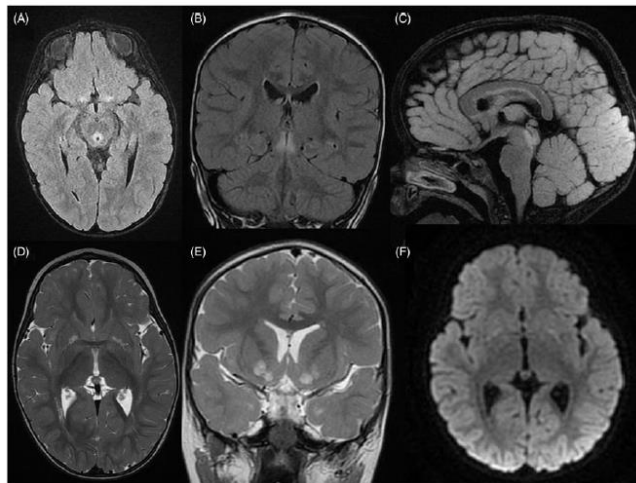


Figura 6. RMN cerebral con lesiones semejantes a las que podrían encontrarse en este caso. En dicha RMN se observan lesiones bilaterales hiperintensas en el globo pálido, putamen y núcleo acumbens en secuencia FLAIR y corte axial (A), T2 y corte axial (D) y T2 y corte coronal (E). Igualmente en el acueducto cerebral se observa una señal hiperintensa en secuencia FLAIR y corte coronal (B) y sagital (C)⁽⁶⁾.

Con 16 meses, al día siguiente de la RMN con anestesia, ingresa en urgencias por un episodio de hipoactividad (mayor grado de postración en las horas previas). En urgencias se objetiva: baja reactividad, deterioro de la hipotonía axial, reflejos osteotendinosos exaltados y palidez cutánea. La analítica era normal y el estudio de tóxicos fue negativo⁽⁴⁾.

El primer día de hospitalización presenta episodio de cianosis generalizada y apnea, con recuperación espontánea, seguida de somnolencia y postración. Se le realiza un EEG que muestra unas amplitudes bajas y pobre definición del trazado, por lo que se le pauta fenitoína 10 mg/kg/día⁽⁴⁾.

Hay un artículo de respuesta a esto, según el cual la fenitoína es tóxica para las mitocondrias, al igual que el fenobarbital. Así mismo, casi todos los anestésicos interaccionan con la función metabólica, por lo que hay protocolos especiales para anestesiarse a personas con enfermedades mitocondriales en muchos hospitales⁽²¹⁾.

Tras el tratamiento, no hay recurrencia de los episodios, pero la hipotonía axial es severa y la postración se mantiene por lo que la niña muestra muy baja interacción social. Con todos los hallazgos se le realiza un panel de genes mitocondriales, en la que se encuentra la mutación mut.8993T>G, con heteroplasma >90%, igualmente se encuentra un grado de heteroplasma >75% en la familia materna de la paciente⁽⁴⁾.

Tras el diagnóstico de síndrome de Leigh se inició tratamiento con tiamina, riboflavina y coenzima Q10 con pobres resultados dado que posteriormente desarrolló ataxia, distonía y epilepsia mioclónica, por lo que se le cambió el fenobarbital por levetiracetam con buena respuesta⁽⁴⁾.

Caso 3

En este estudio se comentan nuevas expresiones fenotípicas hasta ese momento desconocidas en la mutación del gen MT-ND5 m.13513G>A⁽²²⁾.

El paciente presentaba taquicardia con bloqueo de rama izquierda, que tuvo que recibir cardioversión eléctrica tras fallar la farmacológica. Igualmente presentó en episodios posteriores hipertensión arterial (122/88mmHg), que se encontraba por encima del percentil 95 para su edad. La hipertensión era un hallazgo anómalo que se presenta de manera muy infrecuente en los síndromes mitocondriales y que nunca había sido descrito en esta mutación en particular. Igualmente presentó hiponatremia de hasta 123mmol/l, que se llegó a controlar hasta alcanzar valores normales con fludrocortisona al 0,1mg/12h, restricción hídrica y suplementación con sodio⁽²²⁾.

Cardiológicamente, hasta la fecha se había documentado con la mutación m.13513G>A: síndromes de tipo Wolff-Parkinson-White, taquicardias supraventriculares paroxísticas, bloqueos incompletos de rama derecha y bloqueos auriculoventriculares pero no la presencia de arritmias que necesitaran de cardioversión eléctrica y que esta además fuera la manifestación inicial del síndrome⁽²²⁾.

De la misma manera, la hiponatremia sí que se había relacionado con síndromes mitocondriales como MELAS o Kearns-Sayre pero no con Leigh hasta el momento. Este hallazgo puede ser secundario en estos casos a una pérdida renal sódica recurrente o transitoria por un SIADH (síndrome de secreción inadecuada de la ADH). En el estudio comentan que en los momentos agudos de la clínica es difícil muchas veces diferenciar un SIADH de un síndrome pierde sal⁽²²⁾.

La disfunción autonómica y del tono vasomotor que produjo la sudoración y cianosis acra de la paciente puede apoyar la hipótesis de la regulación mediada a nivel central, seguramente por parte del troncoencéfalo que sí se ve afectado frecuentemente en el síndrome de Leigh⁽²²⁾.

DISCUSIÓN

A pesar de los avances recientes en este campo, las enfermedades mitocondriales y concretamente el síndrome de Leigh siguen siendo grandes desconocidos para una gran parte de la comunidad médica. Con los medios disponibles actualmente, el diagnóstico precoz y la prevención de eventos adversos son dos de las medidas más importantes para mejorar tanto la calidad de vida como la supervivencia de estos pacientes.

Para el diagnóstico temprano, que tantas veces se retrasa por lo poco específico de la clínica y solo se sospecha cuando hay un grupo de alteraciones ya importantes en el paciente, es importante formar a los profesionales, haciendo especial hincapié en los pediatras, para que realicen un seguimiento estrecho de estos pacientes y los deriven a las consultas de atención temprana lo antes posible. También sería ideal que de cara al futuro, estos profesionales pudieran realizar interconsultas de manera directa con los departamentos de genética de los hospitales y pudieran pedir ellos mismos los estudios genéticos que, con el apoyo de los genetistas, consideraran más apropiados.

De acuerdo a las pruebas que actualmente se pueden realizar con estos pacientes, la solicitud de una RMN cerebral, medición del lactato y estudio bioquímico de diferentes tipos de tejidos es la base de un buen diagnóstico del síndrome de Leigh, siempre sin olvidar que previamente hay que realizar una historia clínica y exploración muy exhaustivas.

También es importante aclarar, que hay que orientar el diagnóstico y que, por ejemplo, las muestras de biopsia muscular que falsamente podemos pensar nos van a dar el diagnóstico de certeza, son normales hasta en un 20% de los pacientes con síndrome de Leigh. Esto, junto con el papel tan clave de la heteroplasmia en cualquier enfermedad mitocondrial, nos tiene que llevar a no dar nada por supuesto tanto para el diagnóstico como para la exclusión de este tipo de trastornos.

De cara a la disponibilidad de tratamientos, hay una gran diversidad de los mismos pero con muy pocos resultados satisfactorios. La base de estos, es tratar por un lado los defectos aisladamente: si el paciente presenta epilepsia pautarle tratamiento anticonvulsivante, si presenta problemas respiratorios y digestivos grandes se llega a realizar intubación mecánica invasiva o gastrostomías, por comentar algunos ejemplos. Pero por otro lado, también habría que subsanar los errores en la síntesis de energía y sus consecuencias. De ahí que muchos tratamientos sean complejos multivitamínicos basados en suplir déficits de la cadena respiratoria o que intentan aliviar los efectos del exceso de metabolitos de las vías glicolíticas que muchas veces son tóxicos para las propias mitocondrias y que conducen a círculos viciosos nada beneficiosos.

Actualmente, se están investigando vías terapéuticas que intenten atajar el problema desde su raíz, es decir, no intentando combatir las consecuencias de la correcta falta de producción de energía, el exceso de ROS o de metabolitos de vías glicolíticas, sino intentando reparar los defectos en las propias mitocondrias. Pero, muchas veces estos estudios se basan en reprogramaciones celulares que son muy sensibles y tienen muchas consecuencias éticas a tener en cuenta.

CONCLUSIONES

- 1) La mitocondria es un orgánulo esencial para el correcto funcionamiento del ser humano, siendo su principal función la síntesis de energía en forma de ATP gracias a la fosforilación oxidativa.
- 2) La cadena respiratoria mitocondrial tiene un origen bigenómico, por lo que necesita tanto del ADN mitocondrial como del nuclear para poder funcionar correctamente.
- 3) Por los fenómenos de heteroplasmia, efecto umbral y segregación mitótica entre otros, las enfermedades mitocondriales son muy heterogéneas y no se puede muchas veces predecir su aparición.
- 4) La patogenética y fisiopatología de estas enfermedades está avanzando a pasos agigantados en los últimos años, pero siguen sin ser completamente entendidas por parte de la comunidad científica.
- 5) Las nuevas técnicas de secuenciado de todo el exoma o genoma están permitiendo un mayor descubrimiento de mutaciones y un mayor número de casos diagnosticados.
- 6) Pese a ello, muchas veces, los pacientes con enfermedad mitocondrial tienen diagnóstico de exclusión y/o es tardío conllevando perjuicios para los pacientes.
- 7) El retraso en el diagnóstico también está marcado por la gran variabilidad de fenotipos y la pobre correlación fenotipo-genotipo de estas enfermedades.
- 8) En el caso del síndrome de Leigh, al tratarse de un síndrome que da la cara en la edad pediátrica, tiene un peor pronóstico para la mayoría de pacientes, ya que los requerimientos energéticos son mayores en las edades más tempranas de la vida.
- 9) El nivel de heteroplasmia suele marcar el pronóstico de estos pacientes. A mayor expresividad del mismo, mayor clínica. Pero en la mutación sobre la que trata este trabajo, hemos concluido que niveles menores de heteroplasmia pueden ser igualmente dañinos y expresar fenotipos muy graves.
- 10) Los niveles de lactato, los resultados en la RMN cerebral y los retrasos o regresiones en el correcto desarrollo neurológico del niño son factores a tener en cuenta para el correcto diagnóstico del síndrome de Leigh.
- 11) Los cócteles vitamínicos, una buena suplementación de la dieta, el bezafibrato, los inhibidores de las mTOR y los estados de corrección de la hiperoxemia son algunas de las vías terapéuticas que se pueden usar o sobre las que se está investigando de cara al tratamiento de las enfermedades mitocondriales.

BIBLIOGRAFÍA

1. Gabaldón T. Relative timing of mitochondrial endosymbiosis and the “pre-mitochondrial symbioses” hypothesis: RELATIVE TIMING OF MITOCHONDRIAL SYMBIOSIS. *IUBMB Life*. diciembre de 2018;70(12):1188-96.
2. Murayama K, Shimura M, Liu Z, Okazaki Y, Ohtake A. Recent topics: the diagnosis, molecular genesis, and treatment of mitochondrial diseases. *J Hum Genet*. febrero de 2019;64(2):113-25.
3. Gerards M, Sallevelt SCEH, Smeets HJM. Leigh syndrome: Resolving the clinical and genetic heterogeneity paves the way for treatment options. *Mol Genet Metab*. marzo de 2016;117(3):300-12.
4. Lopes T, Coelho M, Bordalo D, Bandeira A, Bandeira A, Vilarinho L, et al. SÍNDROME DE LEIGH: A PROPÓSITO DE UM CASO CLÍNICO COM MUTAÇÃO NO DNA MITOCONDRIAL. *Revista Paulista de Pediatria*. diciembre de 2018;36(4):519-23.
5. Danhelovska T, Kolarova H, Zeman J, Hansikova H, Vaneckova M, Lambert L, et al. Multisystem mitochondrial diseases due to mutations in mtDNA-encoded subunits of complex I. *BMC Pediatr*. diciembre de 2020;20(1):1-13.
6. Pelnen D, Burnyte B, Jankevics E, Lace B, Dageyte E, Grigalioniene K, et al. Complete mtDNA sequencing reveals mutations m.9185T>C and m.13513G>A in three patients with Leigh syndrome. *Mitochondrial DNA A DNA Mapp Seq Anal*. 2018;29(7):1115-20.
7. Lake NJ, Compton AG, Rahman S, Thorburn DR. Leigh syndrome: One disorder, more than 75 monogenic causes. *Ann Neurol*. febrero de 2016;79(2):190-203.
8. Baertling F, Sánchez-Caballero L, van den Brand MAM, Wintjes LT, Brink M, van den Brandt FA, et al. NDUFAF4 variants are associated with Leigh syndrome and cause a specific mitochondrial complex I assembly defect. *Eur J Hum Genet*. noviembre de 2017;25(11):1273-7.
9. Han J, Lee Y-M, Kim SM, Han SY, Lee JB, Han S-H. Ophthalmological manifestations in patients with Leigh syndrome. *Br J Ophthalmol*. abril de 2015;99(4):528-35.
10. Ng YS, Lax NZ, Maddison P, Alston CL, Blakely EL, Hepplewhite PD, et al. MT-ND5 Mutation Exhibits Highly Variable Neurological Manifestations at Low Mutant Load. *EBioMedicine*. abril de 2018;30:86-93.
11. Chang X, Wu Y, Zhou J, Meng H, Zhang W, Guo J. A meta-analysis and systematic review of Leigh syndrome: clinical manifestations, respiratory chain enzyme complex deficiency, and gene mutations. *Medicine (Baltimore)*. enero de 2020;99(5):e18634.
12. Lee S, Na J-H, Lee Y-M. Epilepsy in Leigh Syndrome With Mitochondrial DNA Mutations. *Front Neurol [Internet]*. 8 de mayo de 2019 [citado 6 de marzo de 2020];10. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6518976/>

13. Sofou K, de Coo IFM, Ostergaard E, Isohanni P, Naess K, De Meirleir L, et al. Phenotype-genotype correlations in Leigh syndrome: new insights from a multicentre study of 96 patients. *J Med Genet.* 2018;55(1):21-7.
14. O'Callaghan MM, Emperador S, Pineda M, López-Gallardo E, Montero R, Yubero D, et al. Mutation loads in different tissues from six pathogenic mtDNA point mutations. *Mitochondrion.* mayo de 2015;22:17-22.
15. Ogawa E, Fushimi T, Ogawa-Tominaga M, Shimura M, Tajika M, Ichimoto K, et al. Mortality of Japanese patients with Leigh syndrome: Effects of age at onset and genetic diagnosis. *J Inherit Metab Dis.* 22 de enero de 2020;
16. Kouga T, Takagi M, Miyauchi A, Shimbo H, Iai M, Yamashita S, et al. Japanese Leigh syndrome case treated with EPI-743. *Brain Dev.* febrero de 2018;40(2):145-9.
17. Finsterer J, Zarrouk-Mahjoub S. Is vatiquinone truly beneficial for Leigh syndrome? *Brain Dev.* 2018;40(5):443.
18. Sage-Schwaede A, Engelstad K, Salazar R, Curcio A, Khandji A, Garvin Jr JH, et al. Exploring mTOR inhibition as treatment for mitochondrial disease. *Annals of Clinical and Translational Neurology.* septiembre de 2019;6(9):1877-81.
19. Han X, Nonaka K, Kato H, Yamaza H, Sato H, Kifune T, et al. Osteoblastic differentiation improved by bezafibrate-induced mitochondrial biogenesis in deciduous tooth-derived pulp stem cells from a child with Leigh syndrome. *Biochem Biophys Rep.* 28 de noviembre de 2018;17:32-7.
20. Jain IH, Zazzeron L, Goldberger O, Marutani E, Wojtkiewicz GR, Ast T, et al. Leigh Syndrome Mouse Model Can Be Rescued by Interventions that Normalize Brain Hyperoxia, but Not HIF Activation. *Cell Metab.* 1 de octubre de 2019;30(4):824-832.e3.
21. Finsterer J, Bandeira AO. ADVERSE REACTION TO ANESTHESIA IN A M.8993T>C CARRIER WITH LEIGH SYNDROME. *Revista Paulista de Pediatria.* enero de 2019;37(1):135-6.
22. Brecht M, Richardson M, Taranath A, Grist S, Thorburn D, Bratkovic D. Leigh Syndrome Caused by the MT-ND5 m.13513G>A Mutation: A Case Presenting with WPW-Like Conduction Defect, Cardiomyopathy, Hypertension and Hyponatraemia. En: Zschocke J, Baumgartner M, Morava E, Patterson M, Rahman S, Peters V, editores. *JIMD Reports, Volume 19* [Internet]. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2014 [citado 6 de marzo de 2020]. p. 95-100. Disponible en: http://link.springer.com/10.1007/8904_2014_375