



**Universidad**  
Zaragoza

TRABAJO FIN DE GRADO

Enfermedades producidas por depleción del ADN mitocondrial.

Diseases caused by mitochondrial DNA depletion.

Autora

María Lorda Camats

Directora

Sonia Emperador Ortiz

FACULTAD DE MEDICINA

2019/2020

## INDICE

1. Resumen y abstract.....	4
2. Introducción.....	6
2.1. La mitocondria.....	6
2.2. Sistema OXPHOS.....	7
2.3. Características de la genética mitocondrial.....	8
2.4. Fisiopatología de las enfermedades mitocondriales.....	9
2.4.1. Enfermedades causadas por mutaciones puntuales del ADNmt.....	9
2.4.2. Enfermedades causadas por deleciones del ADNmt.....	11
2.4.3. Enfermedades causadas por depleción del ADNmt.....	12
3. Objetivos.....	12
4. Material y métodos.....	12
4.1. Diseño.....	12
4.2. Estrategia de búsqueda.....	13
4.3. Criterios de inclusión y exclusión.....	13
4.4. Extracción y análisis de datos.....	13
5. Resultados.....	14
5.1. Clínica y genética de los síndromes producidos por depleción del ADNmt.....	14
5.1.1. Forma miopática de MDS.....	17
5.1.1.1. <i>TK2</i> .....	17
5.1.2. Forma hepatocerebral de MDS.....	18
5.1.2.1. <i>DGUOK</i> .....	18
5.1.2.2. <i>MPV17</i> .....	19
5.1.2.3. <i>POLG1</i> .....	19
5.1.2.4. <i>TWINKLE</i> .....	20
5.1.3. Forma encefalomiopática de MDS.....	21
5.1.3.1. <i>SUCLA2</i> .....	21
5.1.3.2. <i>SUCLG1</i> .....	21
5.1.3.3. <i>RRM2B</i> .....	22
5.2. Diagnóstico.....	23
5.2.1. Método de cribado.....	23
5.2.2. Diagnóstico de confirmación.....	23
5.2.3. Extensión de la enfermedad.....	24

5.2.4. Diagnóstico y asesoramiento genético.....	24
5.3. Tratamiento y pronóstico.....	25
5.3.1. Tratamiento de las manifestaciones.....	25
5.3.2. Modulación nutricional y cofactores.....	25
5.3.3. Trasplante hepático .....	26
6. Conclusiones .....	27
7. Bibliografía.....	28

## Abreviaturas

- ADN           Ácido desoxirribonucleico.
- ADNmt       ADN mitocondrial.
- ADNn        ADN nuclear.
- ARN          Ácido ribonucleico.
- ARNt        ARN de transferencia.
- Arpeo        Oftalmoplejía externa progresiva autosómica recesiva.
- ADPEO       Oftalmoplejía externa progresiva autosómica dominante.
- ATP          Adenosín trifosfato.
- CoQ          Coenzima Q, Ubiquinona.
- dGK          Desoxiguanosina quinasa.
- dNDP        Difosfato de desoxinucleósido.
- dNMP        Monofosfato de desoxinucleósido
- dNTP        Desoxinucleósido trifosfato.
- LCR          Líquido cefalorraquídeo.
- MDS          Síndrome de Agotamiento de ADNmt.
- MPV17       Proteína de membrana interior mitocondrial 17.
- NADH        Nicotinamida adenina dinucleótido.
- NMPK        Nucleósido monofosfato quinasa.
- OXPHOS     Fosforilación oxidativa.
- PCR-RT     Reacción en Cadena de la Polimerasa cuantitativa a Tiempo Real.
- POLG        Subunidad de la gamma polimerasa.
- Pol  $\gamma$      Gamma polimerasa.
- QH2          Ubiquinol.
- RNR          Ribonucleótido reductasa.
- SUCL        Succinil-CoA-ligasa
- TK           Timidina quinasa.
- TP           Timidina fosforilasa.

## 1. RESUMEN

Las mitocondrias son unos orgánulos citoplasmáticos que se encuentran en las células eucariotas y cuya función principal es la “respiración celular”; la cual se lleva a cabo mediante reacciones bioquímicas, siendo el sistema de fosforilación oxidativa la más importante. Varios años tras el descubrimiento del ADN mitocondrial, se observan las primeras mutaciones, y con ellas nace el concepto de “trastornos mitocondriales”; el cual abarca un conjunto de enfermedades muy heterogéneas, que se clasifican desde un punto de vista genético producidas por: mutaciones puntuales, deleciones, o por depleción.

Las enfermedades producidas por depleción del ADN mitocondrial son un grupo de trastornos autosómicos recesivos, muy heterogéneos, y que afectan principalmente durante la niñez. Se deben a defectos en el mantenimiento del ADN mitocondrial, causados por mutaciones en genes nucleares que codifican proteínas necesarias para su replicación y síntesis. A pesar de la afectación multiorgánica que tienen estos trastornos, se dividen clínicamente, según el tejido más afectado: en una forma miopática (*TK2*), forma hepatocerebral (*DGUOK*, *MPV17*, *POLG1*, *TWNK*), y otra encefalomiopática (*SUCLA 2*, *SUCLG1*, *RRM2B*).

En general son trastornos graves, con mal pronóstico, ya que no existe un tratamiento curativo, sin embargo, es muy importante el diagnóstico precoz, que permite proporcionarles tratamiento sintomático y con ello mejorarles la calidad de vida.

Palabras clave: ADN mitocondrial, enfermedades mitocondriales, depleción, miopatía, encefalomiopatia, neuroencefalopatía.

## ABSTRACT

Mitochondria are cytoplasmic organelles found in eukaryotic cells whose main function is "cellular respiration"; which is carried out by biochemical reactions, with the oxidative phosphorylation system being the most important. Several years after the discovery of mitochondrial DNA, the first mutations are observed, and with them the concept of "mitochondrial disorders" is born; which encompasses a set of very heterogeneous diseases, which are classified from a genetic point of view produced by: point mutations, by deletions, or by depletions.

Diseases caused by mitochondrial DNA depletions are a group of autosomal recessive disorders, which are very heterogeneous, and affect mainly during childhood. They are due to defects in the maintenance of mitochondrial DNA, caused by mutations in nuclear genes that encode proteins necessary for replication and synthesis. Despite the multiorgan involvement of these disorders, they are clinically divided, according to the most affected tissue: in a myopathic form (*TK2*), hepatocerebral form (*DGUOK*, *MPV17*, *POLG1*, *TWNK*), and another encephalomyopathic form (*SUCLA 2*, *SUCLG1*, *RRM2B*).

In general, they are serious disorders, with poor prognosis, since there is no curative treatment, however, early diagnosis is very important, which allows to provide them with symptomatic treatment and thereby improve their quality of life.

Keywords: mitochondrial DNA, mitochondrial diseases, depletion, myopathy, encephalomyopathy, neuroencephalopathy.

## 2.INTRODUCCIÓN

### 2.1. La mitocondria

Las mitocondrias son objeto de estudio desde hace más de 150 años. Las primeras investigaciones se enfocaron desde un punto de vista fisiológico, descubriendo sus funciones bioenergéticas: fosforilación oxidativa, ciclo de Krebs... [1]. Hoy en día sabemos que son orgánulos citoplasmáticos que se encuentran en las células eucariotas, cuya función más importante es la “respiración celular”, la cual se lleva a cabo mediante una serie de reacciones bioquímicas, que degradan compuestos orgánicos en sustancias inorgánicas. Durante todo este proceso se produce energía aprovechable por la célula, principalmente en forma de adenosín trifosfato (ATP) [2].

En 1932 se diseñó el primer microscopio electrónico, lo que impulsó de manera considerable el estudio de la estructura mitocondrial (Figura 1). Se observó que está constituida por dos membranas: una interna y otra externa, dividiendo así dos espacios: la matriz, donde se encuentra el ácido desoxirribonucleico mitocondrial (ADNmt) y el espacio intermembrana. La membrana interna forma muchos pliegues, constituyendo las denominadas crestas mitocondriales, en las que tiene lugar la producción de energía [3].

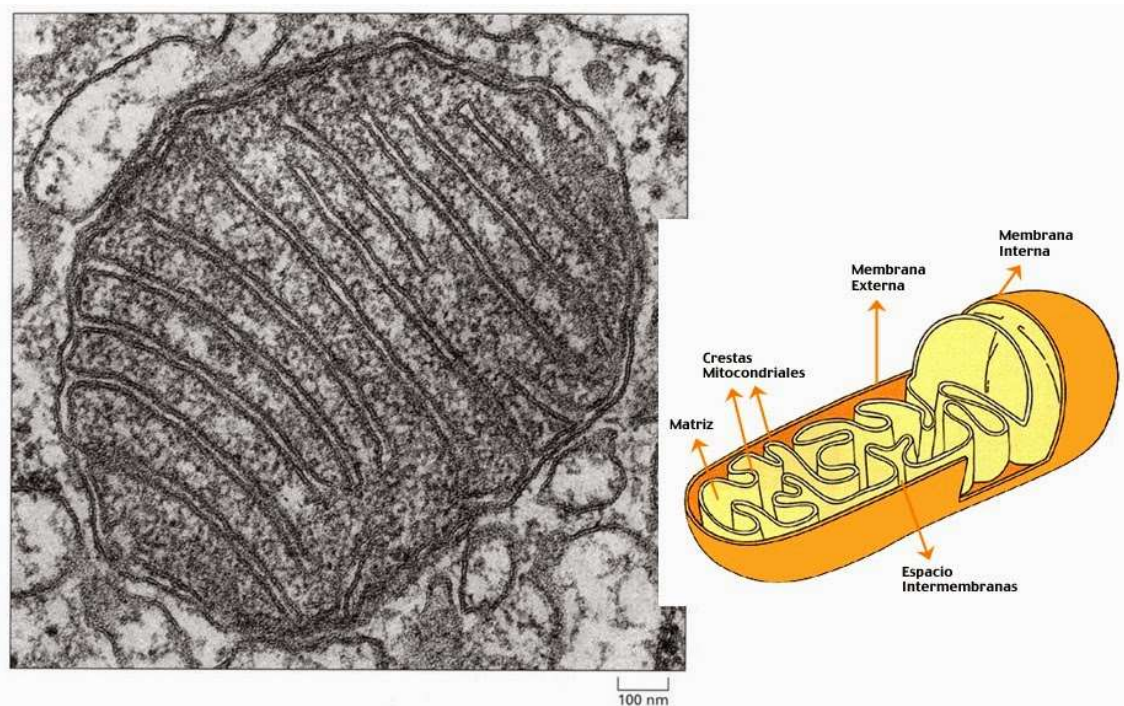


Figura 1: a la Izquierda, imagen de microscopía electrónica de una mitocondria. A la derecha, esquema de los componentes que forman la mitocondria. Fuente: [blogspot.com](http://blogspot.com) | 924 x 485-170kB-jpeg.

Sin embargo, no es hasta 1963 cuando Margit M. K. Nass y Sylvan Nass descubren que las mitocondrias contenían un ADN propio, al que más tarde se le denominó ADN mitocondrial. Poco después, en 1967, Giuseppe Attardi demostró que el ADNmt era

funcional, es decir, se transcribía en ácido ribonucleico (ARN) y se traducía en proteínas. Este descubrimiento permitió seguir estudiando la materia para poder conocer la estructura, las características y las proteínas que codifica el ADNmt.[4]

## 2.2. Sistema OXPHOS

El sistema de fosforilación oxidativa (OXPHOS), ruta final del metabolismo mitocondrial, está formado por cinco complejos multienzimáticos (Tabla 1), localizados en la membrana interna mitocondrial, y dos puntos de unión: citocromo C y coenzima Q. La principal característica de este sistema es que, sus ochenta y cinco subunidades proteicas están codificadas por ambos tipos de ADN: trece por el ADNmt y el resto por el ADN nuclear (ADNn). Ambos sistemas genéticos se deben coordinar para un buen funcionamiento [5].

La oxidación de las coenzimas reducidas, procedentes del catabolismo celular, genera electrones que son cedidos a la cadena respiratoria, a medida que la traspasan van liberando energía, puesto que pasan de un nivel de energía más alto a otro más bajo. Al final de la cadena de transporte de electrones, éstos se transfieren al oxígeno molecular, formándose moléculas de agua. Todo este bombeo genera un gradiente electroquímico, que provoca el paso de los iones a la matriz mediante el complejo V (ATP Sintasa), permitiendo así la síntesis final de ATP.

Tabla 1: Complejos que forman el sistema OXPHOS, su acción y péptidos codificados por el ADNmt. “Fuente: J. Eiris Puñal, C. Gómez Lado, M O. Blanco Barca, M. Castro-Gago. Enfermedades mitocondriales. Hospital Clínico Universitario, Santiago de Compostela.2008. p. 105-112”.

COMPLEJO	ACCIÓN	PEPTIDOS CODIFICADOS POR ADNmt
I - NADH-CoQ oxidorreductasa	Oxidación de NADH y transferencia de dos electrones a una quinona	7
II - Succinato CoQ oxidorreductasa	Oxidación del Succinato en Fumarato y reducción de la ubiquinona.	0
III - QH <sub>2</sub> citocromo C oxidorreductasa	Oxidación de Ubiquinol y reducción de dos moléculas de citocromo C.	1
IV - Citocromo C oxidasa	Aceptador final de electrones y transferencia al oxígeno.	3
V - ATP sintasa	Síntesis de ATP	2



### 2.3. Características de la genética mitocondrial

En 1963, Nass descubrió que las mitocondrias tenían un ADN propio, que más tarde se denominó ADN mitocondrial [4]. Es una molécula bicatenaria, circular, cerrada, que está constituida por 16.569 pares de bases y codifica 37 genes [5].

Durante varios años de estudio, se observó que el ADNmt tenía una serie de características que lo diferían del ADN nuclear, lo que más adelante sería clave para la clasificación y diferenciación de las enfermedades mitocondriales. Son las siguientes:

- Herencia materna: el ADNmt se hereda exclusivamente por vía materna, es decir, solo las mujeres serán las que lo transmitan a otras generaciones, pero lo hacen a todos sus descendientes [6]. Una pequeña cantidad del ADNmt se encuentra en los espermatozoides, pero raramente penetra al óvulo, ya que se encuentra en el flagelo, y cuando lo hace se elimina de forma activa [5]. Por otro lado, el ADNn tiene herencia mendeliana.
- Poliplasmia: todas las células del organismo contienen ADNmt, pero varían en cantidad, según las necesidades energéticas del tejido [6]. El número de moléculas de ADNmt es, en general, bastante elevado; la mayoría de los tejidos contienen entre 1.000 y 10.000 copias por célula, con 2 a 10 moléculas de ADNmt por mitocondria [7].
- Segregación mitótica: las mitocondrias se distribuyen al azar entre las células hijas durante la división celular. Si un paciente contiene en todas las células el mismo ADNmt, se denomina homoplasma. Pero hay otras ocasiones en las que encontramos individuos con dos tipos de ADNmt diferentes: mutado y no mutado; esto se denomina heteroplasma [5]. De esta manera con la división celular podemos tener varios genotipos diferentes: homoplasmico con ADNmt no mutado (individuos sanos); homoplasmico con ADNmt mutado; o heteroplasmico. El fenotipo de estos dos últimos dependerá del porcentaje y naturaleza del ADN que contenga, para definirlo como individuo sano o enfermo [5]. Por otro lado, el núcleo y su ADN se duplican antes de cada división celular, originando una copia idéntica, de forma que las células hijas reciben una misma dotación genética de ADN nuclear [7].
- Efecto umbral: el fenotipo de una célula depende de la cantidad de ADNmt mutado que presente. Si no llega a producir el ATP necesario para superar el umbral, se presentará la patogenicidad. En caso contrario, el ADNmt no mutado será capaz de producir ATP suficiente y por tanto estaremos ante un individuo completamente sano [5].
- Alta velocidad de mutación: la gran producción de radicales de oxígeno producidos en la mitocondria durante la respiración celular, la ineficacia de los mecanismos de reparación, así como la falta de histonas que protejan el ADNmt [7], explica que la tasa de mutación espontánea de este es unas 10 veces superior

a la del ADNn [8]. En consecuencia, hay gran variabilidad en el ADNmt entre especies e incluso entre individuos de una misma especie [5]. Además, el envejecimiento de las células hace que aparezcan mutaciones puntuales en la replicación del ADNmt, disminuyendo así la capacidad respiratoria celular [4].

## **2.4. Fisiopatología de las enfermedades mitocondriales**

Las enfermedades mitocondriales son un grupo de trastornos producidos por la deficiencia de biosíntesis de ATP [9]; es decir, por un fallo en el sistema OXPHOS. En 1988 se descubren las primeras mutaciones del ADNmt y se relacionan con fallos en este sistema. Desde entonces, se han descubierto muchos tipos de mutaciones diferentes [4]. Como ya se ha mencionado, el sistema OXPHOS está constituido por proteínas sintetizadas por los dos tipos de ADN: mitocondrial y nuclear, por lo que la mutación puede aparecer en cualquiera de ellos, heredada o de “novo”, suponiendo así una gran variabilidad fenotípica, sintomática e incluso en el tipo de herencia, debido a las características diferenciales, ya expuestas, del ADNmt.

Las manifestaciones clínicas de las enfermedades mitocondriales son muy variables debido a que las mitocondrias se encuentran en todos los órganos, por lo que puede haber afectación de cualquiera de ellos. Pero en general, son trastornos multisistémicos que afectan a los órganos y tejidos que más dependen de la energía mitocondrial, como el sistema nervioso central, los riñones, el músculo cardíaco... [5].

Esta gran heterogeneidad, sobre todo clínica, de las enfermedades mitocondriales, provoca que la mejor manera de clasificarlas sea desde el punto de vista genético, en dos grandes grupos: enfermedades secundarias a defectos en el ADNn y los trastornos debidos a la disfunción del ADNmt [5], dependiendo del lugar en el que se encuentra la mutación. Y dentro de estos dos grupos se diferencian también según el tipo de mutación.

### ***2.4.1. Enfermedades causadas por mutaciones puntuales del ADNmt***

Las mutaciones puntuales son variaciones en la secuencia del ADN, sustituciones de un solo nucleótido o de un número reducido de ellos [7], que dan lugar a aminoácidos diferentes, lo que supone una síntesis errónea de proteínas o incluso una ausencia de ésta.

Debido a la alta tasa de mutación característica del ADNmt podemos encontrar un gran número de mutaciones puntuales, pero la mayoría de éstas son polimorfismos que se han fijado durante la evolución y por tanto no se consideran patológicas. Hoy en día hay descritas multitud de mutaciones puntuales patológicas, distribuidas a lo largo de los genes que codifican el ADNmt y que, en general, responden a una herencia materna [7].

La variedad de fenotipos asociados a estas mutaciones es igualmente muy elevada, lo que hace imposible un estudio detallado en esta revisión, por lo que solo se comentarán las patologías más importantes:

- Síndrome de epilepsia mioclónica con fibras rojo-rasgadas (MERRF): el 80% de los casos se asocia a la mutación m.8344A>G que afecta a la secuencia del gen que codifica para el ARNt lisina [7]. Es un síndrome caracterizado por: epilepsia

mioclónica, ataxia, debilidad muscular, convulsiones y miopatía mitocondrial con la presencia de fibras rojo-rasgadas en la biopsia muscular, no reactivas a la citocromo c oxidasa [5]. No es muy frecuente, pero puede ir acompañado de demencia, sordera, atrofia óptica, lipomatosis múltiple [6].

Este síndrome aparece tanto en la infancia como en adultos y tiene un curso progresivo. Todas las mutaciones están en forma heteroplásmica y la cantidad de ADNmt dañado difiere entre los individuos [7].

- Neuropatía óptica hereditaria de Leber (LHON): esta enfermedad se ha asociado a muchas mutaciones, pero solo tres de ellas están consideradas primarias: m.3460G>A, m.11778G>A, m.14484T>C. Todas ellas se localizan en genes estructurales [5] y se encuentran fundamentalmente en homoplasmia, presentando baja penetrancia [7].

Clínicamente, esta enfermedad produce una pérdida de visión bilateral debida a una atrofia del nervio óptico, acompañada en algunas ocasiones de una ataxia cerebral y defectos en la conducción cardíaca. Afecta a personas entre la segunda y la tercera década de la vida [6].

- Síndrome de Neuropatía, Ataxia y Retinopatía Pigmentaria (NARP): Se asocia a la mutación m.8993T>C/G afectando a la subunidad VI de la ATPasa [5]. La mutación se encuentra en forma heteroplásmica en un porcentaje inferior al 90 % [7].

Es un síndrome caracterizado por: la debilidad muscular que produce, neuropatía sensorial, convulsiones, ataxia y retinopatía pigmentaria [5]. Suele acompañarse de retraso en el desarrollo, así como, de demencia [6].

Este síndrome aparece en la infancia o en adultos jóvenes y presenta un curso lento [7].

- Síndrome de Leigh de herencia materna (MILS): Se asocia principalmente a la mutación m.8993T>G localizada dentro de la secuencia del gen que codifica para la subunidad VI de la ATPasa [7]. La mutación se encuentra también en forma heteroplásmica, como en el síndrome NARP, pero en un porcentaje superior al 90 %, lo que supone que es más grave [7].

Es una enfermedad muy heterogénea, con trastornos degenerativos multisistémicos que se dan el primer año de vida debido a un fallo grave en la producción de energía en el cerebro en desarrollo [5]. Se caracteriza por: retraso psicomotor grave, hipotonía, convulsiones, distonía, vómitos, disfagia, disfunción del tallo cerebral, acidosis láctica, neuropatía periférica [6].

- Síndrome de encefalopatía mitocondrial con acidosis láctica y episodios de accidentes cerebrovasculares (MELAS): En el 90% de los casos se asocia a la mutación m.3243A>G (cambio adenina por guanina en la posición 3.243 del genoma mitocondrial) localizada dentro de la secuencia del gen que codifica para el ARN de transferencia (ARNt) leucina [7]. Es un síndrome que se caracteriza por: la presencia de accidentes cerebrovasculares que provocan una disfunción cerebral subaguda y cambios en la estructura, acidosis láctica y la presencia de

fibras rojo-rasgadas en la biopsia muscular [5]. Puede acompañarse también de fatiga, debilidad muscular, sordera, retinopatía, demencia, convulsiones, migrañas, cardiomiopatía, pseudo-obstrucción intestinal o incluso diabetes [6]. La multitud de fenotipos se debe a que la mutación se encuentra en forma heteroplásmica, por lo que dependen del porcentaje de heteroplasmia y la segregación replicativa [10]. Todas las mutaciones presentan herencia materna, aunque no es frecuente encontrarse más de un miembro de la misma familia enfermo [7]

#### ***2.4.2. Enfermedades causadas por deleciones del ADNmt***

Algunos pacientes con afectación del sistema OXPHOS presentan mutaciones producidas por la reorganización del ADNmt, como es el caso de la ausencia de un fragmento de éste, lo que se denomina deleción [6].

Suelen ser mutaciones espontáneas, aunque hay algún caso descrito de herencia materna; son heteroplásmicas y pueden aumentar la gravedad con la edad [5].

Hay una deleción de 4977 pares de bases que es común en múltiples síndromes, a pesar de las numerosas deleciones diferentes descritas actualmente [7]. Algunos de estos síndromes se describen a continuación:

- Síndrome de Pearson: es un síndrome que afecta a la función pancreática exocrina y a la hematopoyesis que aparece durante los primeros años de vida. Los niños que lo padecen suelen fallecer antes de los tres años y los que sobreviven terminarán desarrollando un fenotipo de Kearns-Sayre, que se explica a continuación [5].  
Clínicamente, esta enfermedad produce anemia sideroblástica o pancitopenia, vacuolización de precursores de la médula ósea, así como la ya comentada disfunción exocrina pancreática [7].
- Síndrome de oftalmoplegia externa progresiva crónica (CPEO): es una enfermedad benigna que suele aparecer entre la adolescencia y los adultos jóvenes, caracterizada por presentar ptosis palpebral y miopatía. Se asocia también a debilidad muscular e intolerancia al ejercicio [6].  
En las biopsias musculares de estos pacientes encontramos fibras rojo-rasgadas COX negativas [7].
- Síndrome de Kearns-Sayre (KS): es un síndrome muy relacionado con el de CPEO, ya que presenta su clínica añadiendo retinopatía pigmentaria y bloqueo de la conducción cardíaca, que aparece antes de la segunda década de vida [7]. Además, puede ir acompañado de ataxia, sordera, diabetes demencia y fallos endocrinos [7].  
La biopsia muscular de los pacientes que sufren este síndrome, de la misma manera que el síndrome de CPEO, presenta fibras rojo-rasgadas COX negativas [6].

- Encefalomiopatía neurogastrointestinal mitocondrial (MNGIE): es una enfermedad caracterizada por presentar encefalomiopatía mio-neuro-gastrointestinal y que afecta a adultos jóvenes con síntomas de CPEO, neuropatía periférica, leucoencefalopatía, obstrucción gastrointestinal grave que lleva a caquexia y muerte temprana. [6].  
Afecta a pacientes que presentan delecciones múltiples debidas a mutaciones en el gen timidina fosforilasa, y lo hace con una herencia autosómico recesiva [7].

### ***2.4.3. Enfermedades causadas por depleción del ADNmt***

Este grupo de síndromes son, tanto clínica como genéticamente, muy heterogéneos, de herencia autosómico recesiva, caracterizados por una reducción del número de copias de ADNmt, o lo que es lo mismo, producidas por la depleción del ADNmt [7].

Los pacientes que sufren estas enfermedades son principalmente niños que mueren en la infancia temprana, aunque hay algunos que alcanzan hasta la adolescencia, con combinaciones variables de miopatía, nefropatía, hepatopatía o alguna otra complicación multisistémica [5].

Este grupo de enfermedades, al ser el objeto de estudio de esta revisión bibliográfica, se explicará de forma más exhaustiva en el apartado de resultados.

## **3.OBJETIVOS**

El principal objetivo de este trabajo es hacer una revisión bibliográfica de las enfermedades producidas por la depleción del ADNmt, incluyendo sus manifestaciones clínicas, su diagnóstico y tratamiento.

Para responder a dicho objetivo, comenzaremos realizando una aproximación a la estructura y función de la mitocondria, incluyendo su ADN, así como la fisiopatología de las enfermedades mitocondriales en su totalidad, para centrarnos, por último, en aquellas debidas a la falta de copias de ADN mitocondrial, fenómeno conocido como depleción.

## **4.MATERIAL Y MÉTODOS**

### **4.1. Diseño**

Se ha realizado una revisión de artículos científicos enfocados al estudio de las enfermedades mitocondriales, centrada en las producidas por la depleción del ADN, consultando libros científicos y revisiones sistémicas del tema a tratar.

También se ha utilizado material proporcionado por el Departamento de Bioquímica y Biología Molecular y Celular de la Universidad de Zaragoza, tales como: el capítulo 14 “Enfermedades Mitocondriales” del “Manual de Medicina Perinatal”, así como el capítulo 7 “Enfermedades del ADN Mitocondrial”.

Para el tratamiento de las referencias bibliográficas se ha usado RefWorks y se han revisado las normas Vancouver en la página web de la biblioteca de la Universidad de Zaragoza.

#### **4.2. Estrategia de búsqueda**

En primer lugar, se llevó a cabo una búsqueda en Google Chrome sobre las bases de datos de Medicina en Unizar. En esta búsqueda aparecen: “MEDLINE, PUBMED, Europe PubMed Central, Lilacs, Biblioteca Cochrane Plus, Índice Médico Español (IME), MEDES-Medicina en español, Índice Bibliográfico Español en Ciencias de la Salud (IBECS), y, por último, Documentación Médica Española (DOCUMED)”.

Posteriormente se seleccionaron MEDLINE, PUBMED y MEDES, en las cuales se realizó una búsqueda tanto en inglés como en español, mediante la ecuación de búsqueda: ADN mitocondrial, depleción ADN mitocondrial, genética mitocondrial, encefalomiopatías, miopatía y neuroencefalopatía. No se limitaron por año de publicación.

También se utilizaron bases de datos genéticas como OMIM, para descubrir las características de los genes implicados en la revisión, así como ClinVar, que proporciona información actualizada de los mismos.

Finalmente, se realizó una revisión de las referencias bibliográficas de los artículos encontrados para detectar otras posibles fuentes útiles

#### **4.3. Criterios de inclusión y exclusión**

Para la elección de las bases de datos utilizadas, el principal criterio de exclusión fue que algunas de ellas están en proceso de actualización y no permitían su uso.

En la búsqueda de las revisiones sistémicas y artículos científicos, se aplicó, como principal criterio de exclusión, que no tratasen las enfermedades producidas concretamente por la depleción. Por otro lado, los criterios de inclusión utilizados fueron: que hubiese un caso clínico o una revisión de la clínica de estas enfermedades y que dividiese las enfermedades mitocondriales desde un punto de vista tanto clínico, como genético.

#### **4.4. Extracción y análisis de datos**

Tras la búsqueda inicial, se encontraron más de un centenar de estudios. De éstos, tras la lectura del resumen, de la introducción y, en algunas ocasiones del texto completo, se seleccionaron sesenta y uno.

De todos ellos, analizando la información, se pudo estructurar en clínica, diagnóstico, pronóstico y tratamiento de las enfermedades mitocondriales producidas por la depleción del ADN.

## 5.RESULTADOS

### 5.1. Clínica y genética de los síndromes producidos por la depleción del ADN mitocondrial

El ADNmt tiene que encontrarse intacto y en la cantidad adecuada, para poder sintetizar proteínas que forman parte del sistema OXPHOS y, en consecuencia, proporcionar energía a las células mediante moléculas de ATP [11]. Los síndromes producidos por la depleción del ADNmt, conocidos también como Síndromes de Agotamiento de ADNmt (MDS -Mitochondrial DNA depletion Syndrome- por sus siglas en inglés) [12], forman un grupo muy heterogéneo, tanto clínica como genéticamente, de trastornos metabólicos hereditarios, que comparten el resultado final, la baja cantidad de ADNmt en tejidos específicos [11], y por tanto, el mal funcionamiento de la mitocondria al provocar el déficit en la producción de ATP vía fosforilación oxidativa.

Estos síndromes, como ya se ha comentado, tienen un origen genético muy heterogéneo (Figura 2), pero la mayoría de las proteínas causantes, (timidina quinasa 2 -TK2, desoxiguanosina quinasa -dGK, ribonucleótido reductasa -RNR, succinil-CoA-ligasa -SUCL) afectan al metabolismo de desoxirribonucleósidos trifosfatos (dNTP), requeridos para la replicación del ADNmt [11]. Por otro lado, también puede causar graves MDS los defectos funcionales en las proteínas esenciales e implicadas directamente en la síntesis de este ADNmt: como el ADN polimerasa (POLG) codificada por los genes *POLG* y *POLG2*, así como, TWINKLE, codificada por *TWNK*, que es una helicasa de ADN que separa las hebras de ADNmt [12].

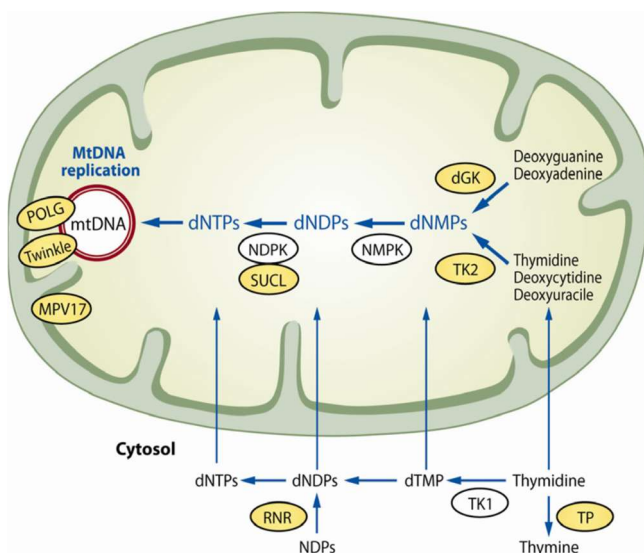


Figura 2: Proteínas implicadas en los síndromes de depleción del ADNmt (coloreadas de amarillo) y sus roles en el metabolismo de nucleósidos. Siglas: NMPK, nucleósido monofosfato quinasa; dGK, desoxiguanosina quinasa; TK1, TK2, timidina quinasa 1 y 2; TP, timidina fosforilasa; RNR, ribonucleótido reductasa; SUCL, succinil-CoA-ligasa; Mpv17, proteína de membrana interior mitocondrial 17; dNTP, desoxinucleósido trifosfato; dNDP, difosfato de desoxinucleósido; dNMP, monofosfato de desoxinucleósido, POLG, subunidad gamma del ADN polimerasa. “Fuente: A. Suomalainen, P. Isohanni. Mitochondrial DNA depletion syndromes – Many genes, common mechanisms. *Neuromuscular Disorders* 20 (2010) 429-437” [11].

Los fenotipos clínicos de los MDS son muy heterogéneos (Figura 3), algunos genes pueden estar involucrados en una amplia gama de trastornos clínicos, y pueden afectar tanto a un órgano, como a una combinación de éstos [13]. Clínicamente, hoy en día los MSD se clasifican en: una forma miopática, una forma encefalomiopática, y una forma hepatocerebral (Tabla 2) [11].

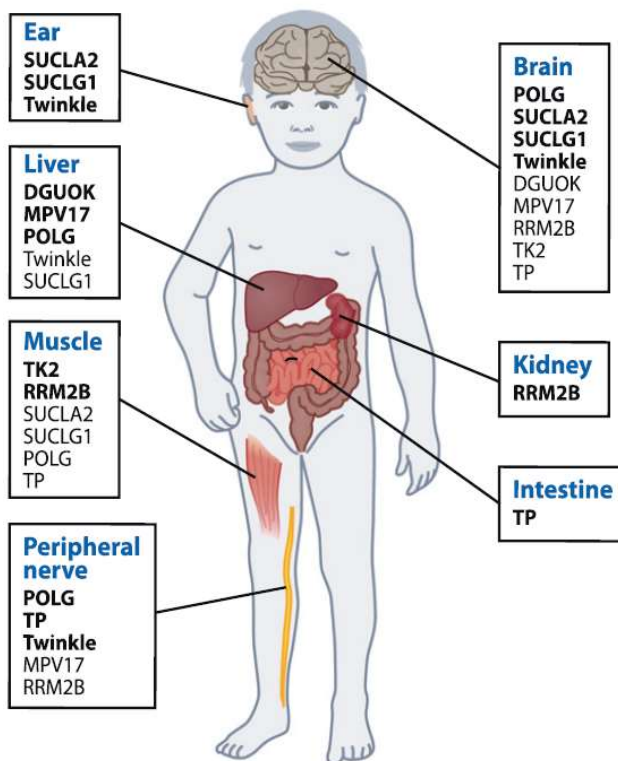


Figura 3: Resumen de los principales tejidos afectados en los MDS, resaltando en negrita los genes más frecuentemente implicados en cada órgano. “Fuente: A. Suomalainen, P. Isohanni. Mitochondrial DNA depletion syndromes – Many genes, common mechanisms. Neuromuscular Disorders 20 (2010) 429-437” [11].



Tabla 2: Resumen las características clínicas de los síndromes de depleción del ADNmt, divididos en las categorías clínicas correspondientes. “Fuente : A. Suomalainen, P. Isohanni. Mitochondrial DNA depletion syndromes – Many genes, common mechanisms. Neuromuscular Disorders 20 (2010) 429-437” [11].

Gen	Edad de inicio	Presentación clínica de síntomas	Fenotipo
<b>Miopatía</b>			
<i>TK2</i>	Infantil	Debilidad muscular	Miopatía
<b>Hepatoneuropatía</b>			
<i>DGUOK</i>	Neonato-infantil	Insuficiencia hepática	Hepatopatía con o sin enfermedad neurológica
<i>MPV17</i>	Neonato-infantil	Hipoglucemia, insuficiencia hepática	Hepatopatía. Más adelante puede manifestar síntomas neurológicos
<i>POLG1</i>	Cualquier edad	Convulsiones, hipotonía, ataxia, polineuropatía.	Encefalopatía, epilepsia, ataxia, neuropatía
<i>TWNK</i>	Infantil	Ataxia-atetosis, oftalmoparesia, convulsiones	Ataxia, neuropatía, oftalmoplejía, discapacidad auditiva, epilepsia, afectación hepática
<b>Encefalomiopatía</b>			
<i>SUCLA 2</i>	Infantil	Hipotonía, distonía, retraso en el desarrollo	Discapacidad motora distónica, sordera, hipotonía
<i>SUCLG1</i>	Neonato-infantil	Hipotonía, acidosis láctica	Crisis metabólica, discapacidad motora distónica, sordera, hipotonía
<i>RRM2B</i>	Infantil	Hipotonía	Hipotonía, retraso en el desarrollo, tubulopatía

### **5.1.1. Forma miopática de MDS (OMIM #609560)**

La forma miopática es la menos frecuente, como su propio nombre indica, los pacientes desarrollan, principalmente, una debilidad muscular progresiva, con mal pronóstico [12]. El gen implicado más común es TK2.

#### **5.1.1.1. TK2 (OMIM 188250)**

El gen *TK2*, que se encuentra en el cromosoma 16q21 y contiene doce exones [14], codifica para la proteína timidina quinasa (TK2), enzima de la matriz mitocondrial, encargada de catalizar el paso determinante de la vía de pirimidina de rescate, y generar por fosforilación, monofosfato de desoxinucleósido (dNMP); imprescindible para metabolizar desoxirribonucleósidos trifosfatos (dNTPs), requeridos para la replicación del ADNmt [14]. Por lo que una mutación en el gen *TK2* supone una disminución de la actividad de la enzima, que deteriora el reciclaje de los nucleósidos del ADNmt, y en consecuencia produce una marcada disminución de éstos [15].

Aproximadamente se han publicado más de treintena variantes patogénicas de *TK2*, en personas con depleción del ADNmt [16], pequeñas deleciones, inserciones, variaciones del sitio de empalme, etc. Pero el 65% de las variaciones informadas patogénicas son sin sentido (es un tipo de mutación puntual, que sintetiza un codón de terminación prematuro, y en consecuencia una proteína no funcional) [17].

Hasta la fecha se tiene conocimiento de ciento siete casos relacionados con la miopatía por depleción del ADNmt, se trata de un trastorno autosómico recesivo con un fenotipo variado [18]. Las personas afectadas suelen tener un desarrollo tanto prenatal, como neonatal, además, del inicio de la infancia totalmente normales [13].

La clínica comienza, generalmente, antes de los dos años de edad, presentando: hipotonía gradual de inicio, seguido de disminución de la actividad física, fatigabilidad generalizada, debilidad muscular proximal, atrofia muscular, así como pérdida de habilidades previamente adquiridas [19]. Algunos pacientes desarrollan debilidad facial y bulbar incluyendo disartria y disfagia [13], no obstante, la función cognitiva se suele mantener [20]. Por lo general la debilidad muscular es rápidamente progresiva, lo que puede conducir a la insuficiencia respiratoria, y la muerte pocos años después de la aparición de la enfermedad. La principal causa de fallecimiento en estos pacientes es la infección respiratoria [19].

Podemos encontrar otras manifestaciones menos frecuentes como la encefalopatía de comienzo temprano con severa debilidad muscular y epilepsia intratable, miopatía con compromiso hepático, una miopatía progresiva del adulto y una deficiencia auditiva neurosensorial [18].

### 5.1.2. Forma hepatocerebral de MDS (OMIM #251880)

En este grupo se encuentran la mayoría de los síndromes producidos por depleción del ADNmt. Son trastornos que se manifiestan principalmente durante la infancia, con ataxia y epilepsia, como síntomas principales de afectación neurológica, seguido de una hepatopatía progresiva, que es generalmente, la causa del fallecimiento de estos pacientes [11].

Los genes implicados a destacar son *DGUOK*, *MPV17*, *POLG* y *TWNK*.

#### 5.1.2.1. *DGUOK* (OMIM 601465)

El gen *DGUOK*, que se encuentra en el cromosoma 2p13 y contiene ocho exones, sintetiza la desoxiguanosina quinasa (dGK), una enzima matriz que proporciona purinas fosforiladas necesarias para la síntesis del ADNmt [21], a partir de desoxiguanina y desoxiadenina; al contrario que el gen *TK2*, que lo hace a partir de desoxitimidina y desoxiuracilo. Por lo que una mutación en el gen *DGUOK* supone una mala síntesis de la enzima dGK y en consecuencia una disminución notable de la cantidad de ADNmt [22].

Hasta la fecha hay treinta y cinco variaciones patogénicas, o probablemente patogénicas, reportadas del gen *DGUOK*, incluyendo deleciones, mutaciones puntuales o inserción de pares de bases, lo que causa MDS en pacientes con insuficiencia hepática [22].

Aproximadamente a un centenar de pacientes se les ha relacionado con este tipo de trastorno; que presenta una herencia autosómica recesiva y puede aparecer de dos formas clínicas diferentes: como una enfermedad multiorgánica en neonatos o comenzar un poco más tarde en la infancia, como una hepatopatía aislada [23].

La forma más común es la enfermedad multiorgánica de inicio neonatal que generalmente se manifiesta como una hipoglucemia y acidosis láctica durante las primeras semanas de vida, apareciendo, posteriormente, las manifestaciones hepáticas y neuromusculares [24]. Las manifestaciones neuromusculares incluyen dificultad en el desarrollo, hipotonía, miopatía grave, nistagmo rotatorio y opsoclonos; por otro lado, la afectación hepática supone ictericia, colestasis, hepatomegalia, y elevación de transaminasas [25].

La forma tardía puede iniciar sus síntomas tras una enfermedad viral, y comienza con ictericia, colestasis, transaminasas elevadas, y hepatomegalia. Los niños con la enfermedad hepática aislada presentan también hipotonía leve, proteinuria y aminoaciduria que indican afectación renal [26].

Otras manifestaciones raras incluyen hemocromatosis neonatal, en la forma temprana y la hipertensión portal no cirrótica, en la de inicio tardío [25].

La enfermedad hepática en ambas formas es generalmente progresiva y puede conducir a insuficiencia hepática en la mayoría de los niños afectados, convirtiéndose en la causa más común de fallecimiento. El carcinoma hepatocelular es también una complicación potencial [26].

#### 5.1.2.2. *MPV17* (OMIM 137960)

El gen *MPV17*, que se encuentra en el cromosoma 2p23-21 y contiene ocho exones, codifica una proteína localizada en la membrana mitocondrial interna [27], cuya función era desconocida, hasta que en 2016 se demostró que la pérdida de ésta causaba una disminución de los desoxinucleósidos mitocondriales [28]. Hoy en día se cree que la proteína MPV17 forma un canal que permite el paso de pequeñas partículas al interior de la mitocondria, entre ellas de dNTPs necesarios para replicación del ADNmt [27].

Hasta la fecha se han reportado unas sesenta variaciones patogénicas del gen *MPV17*, lo que supone que encontramos diferentes formas clínicas, destacando en esta revisión la causada por disminución de ADNmt [16].

Se trata de un trastorno autosómico recesivo que tiene su inicio en la infancia (desde el año a los cinco) o en la época neonatal, con la aparición precoz de hipoglucemia y acidosis láctica. Todos los pacientes presentan manifestaciones hepáticas como: ictericia, hiperbilirrubinemia, aumento de transaminasas, colestasis, hepatomegalia y coagulopatía; la enfermedad hepática es progresiva y desarrollan insuficiencia hepática de forma precoz, suponiendo así la principal causa de fallecimiento [29]. La mayoría presentan también manifestaciones neurológicas como: debilidad muscular, hipotonía, retraso en el desarrollo y neuropatía sensoriomotora de aparición precoz, que suele producir atrofia y pérdida de sensibilidad en las manos y en los pies [28].

Otras manifestaciones poco frecuentes incluyen: ataxia, distonía, epilepsia y hematomas subdurales; además de alteraciones de la motilidad gastrointestinal, tubulopatías renales y endocrinopatías [30].

#### 5.1.2.3. *POLG* (OMIM 174763)

El gen *POLG*, que se encuentra en el cromosoma 15q26.1 y contiene veintitrés exones, sintetiza una subunidad catalítica que, junto a unas subunidades accesorias, codificadas por el gen *POLG2*, forman la única ADN polimerasa implicada en la replicación del ADNmt [31]. Por tanto, esta holoenzima denominada gamma polimerasa (POL  $\gamma$ ), es una de las proteínas más importantes codificadas por el genoma nuclear, implicada en la replicación, expresión, mantenimiento y reparación del ADNmt [32].

Encontramos más de doscientas mutaciones que pueden afectar al resultado de la POL  $\gamma$ , y en consecuencia a su función; provocando deleciones y depleción del ADNmt, éstas últimas causando una disminución de la cantidad de ADNmt [33]. En consecuencia, encontramos una gran cantidad de síndromes asociados al fallo de la polimerasa: síndrome de Alpers-Huttenlocher (AHS), encefalopatía neurogastrointestinal mitocondrial (MNGIE), ataxia sensorial con miopatía epiléptica mioclónica (MEMSA), espectro de ataxia con neuropatía (ANS), oftalmoplejía externa progresiva autosómico-recesiva (ARPEO) y oftalmoplejía externa progresiva autosómico dominante (ADPEO) [33]. Siguiendo con el fin de

nuestra revisión nos vamos a centrar en el síndrome que produce la depleción del ADNmt y que además es el trastorno más grave.

El síndrome de Alpers-Huttenlocher (AHS) es una enfermedad autosómica recesiva, bastante grave, caracterizada por aparecer entre los dos y los cuatro años, sin embargo, suelen estar totalmente saludables hasta dicha edad [33].

La enfermedad suele comenzar con epilepsia e hipotonía, a las que luego se le va añadiendo espasticidad progresiva, ataxia y pérdida de la función cognitiva. También pueden presentar estos pacientes trastornos del movimiento, como mioclonías y coreoatetosis, dolores de cabeza, con alteraciones visuales, así como, derrames cerebrales y accidentes cerebrovasculares. Todas las manifestaciones neurológicas suelen empeorar con factores de estrés fisiológicos o durante infecciones [34].

Por otro lado, también desarrollan hepatopatía, que suele tener un desarrollo progresivo, y se manifiesta con: elevación de transaminasas, coagulopatía, hipoglucemia en ayunas, e hipoalbuminemia [34].

La progresión de la enfermedad es muy variable y la esperanza de vida es desde tres meses tras el diagnóstico, hasta doce años [35].

#### 5.1.2.4. *TWNK* (OMIM 606075)

El gen *TWNK*, que se encuentra en el cromosoma 10q24.31 y que contiene seis exones, sintetiza una helicasa, denominada TWINKLE. Ésta es una helicasa necesaria para la replicación del ADNmt, ya que se encarga de romper los enlaces de hidrógeno entre las pares de bases y así poder separar las dos cadenas, permitiendo la entrada de la maquinaria necesaria para ello [36].

Las setenta variaciones patogénicas o probablemente patogénicas del gen *TWNK*, descritas hasta el momento, producen un fallo en la helicasa, causando así un MDS de forma hepatocerebral, que no es un síndrome muy frecuente [37].

Es un síndrome que puede aparecer tanto en la época neonatal, como en la infancia, y que los pacientes que la sufren presentan principalmente: hepatopatía, acidosis láctica, retraso psicomotor, e hipotonía. Las manifestaciones neurológicas son progresivas e incluyen atrofia muscular, ataxia, neuropatía sensorial, epilepsia, deterioro de audición neurosensorial, regresión psicomotora, atetosis, nistagmo y oftalmoplejía [38]. Y por otro lado la hepatopatía se presenta como: hepatomegalia, colestasis, aumento de las transaminasas, coagulopatía, hipoalbuminemia, ascitis, e insuficiencia hepática [38].

Finalmente, también podemos observar en niños afectados por este síndrome dificultades en la alimentación, vómitos recurrentes, retraso del crecimiento, tubulopatía Fanconi, así como, hipoglucemia en ayunas [39]. Este trastorno tiene muy mal pronóstico, ya que la mayoría fallecen durante la infancia temprana.

### 5.1.3. Forma encefalomiopática de MDS (OMIM #612075)

El último grupo lo forman trastornos que presentan una marcada hipotonía al nacer, o durante los primeros meses de vida, acompañado de un retraso en el desarrollo cognitivo y psicomotor [11]. Estos síndromes suelen ir acompañados de muchas otras afectaciones en consecuencia, principalmente, de estos retrasos del desarrollo.

Los genes implicados a destacar son *SUCLA2*, *SUCLG1* y *RRM2B*.

#### 5.1.3.1. *SUCLA2* (OMIM 603921)

El gen *SUCLA2*, que se encuentra en el cromosoma 13q14.2, codifica la subunidad beta de la succinil-CoA ligasa (SUCL) formadora de ATP [40]. La SUCL es una enzima, que se encuentra en la matriz mitocondrial, y su función es catalizar la reacción reversible de conversión de succinil-coA y ADP o GDP a succinato y ATP o GTP [41]; si esta enzima falla por una mutación, en el gen *SUCLA2*, no se generan nucleósidos trifosfato, necesarios en la replicación del ADNmt y por tanto se produce una depleción, un MDS [42].

El MDS relacionado con el gen *SUCLA2*, se trata de un trastorno autosómico recesivo, de aparición en la infancia, que ha sido reportado en más de cincuenta individuos, hasta la fecha, aunque la prevalencia exacta es desconocida [41]. Los pacientes presentan hipotonía, distonía, atrofia, pérdida de audición neurosensorial, así como, retraso psicomotor, con dificultad de alimentación, reflujo, retraso del crecimiento y vómitos frecuentes [43].

Otras manifestaciones menos frecuentes incluyen: oftalmoplejía, coreoatetosis, hipertonía, estrabismo y epilepsia; también es raro que presenten anemia irritable, trastorno del sueño y trastornos en caderas y hombros [43].

Los pacientes presentan braquicefalia, epicanto y fisuras palpebrales, que son rasgos faciales característicos de este trastorno [41]. Además, a causa de la debilidad muscular manifiestan: infecciones respiratorias de repetición, traqueomalacia, respiración anormal, apnea obstructiva del sueño y cifoescoliosis progresiva [44]; estas consecuencias pueden hacer que la supervivencia disminuya, teniendo una supervivencia media de 20 años. Aproximadamente un tercio de los individuos afectados fallecen durante la infancia [45].

#### 5.1.3.2. *SUCLG1* (OMIM 611224)

El gen *SUCLG1*, que se encuentra en el cromosoma 2p11.2, sintetiza la subunidad alfa de la succinil-CoA ligasa, que heterodimeriza con cualquiera de sus dos subunidades beta: la codificada por el gen *SUCLA2*, formadora de ATP, ya comentada anteriormente. Y la subunidad beta codificada por el gen *SUCLG2*, que es formadora de GTP [46]. Las mutaciones producidas en cualquiera de los tres genes afectan a la función de la SUCL, produciendo la depleción del ADNmt, por disminución de producción de los nucleósidos trifosfos.

El MDS relacionado con el gen *SUCLG1* es un trastorno autosómico recesivo, que se presenta con un fenotipo similar, pero de manera menos frecuente que el MDS asociado al gen *SUCLA2*. Se puede presentar desde el periodo prenatal hasta el primer año de vida, lo más frecuente es que aparezca al nacer [47]. La mayoría de los niños afectados presentan retraso en el desarrollo, hipotonía, atrofia muscular y deterioro cognitivo, así como, dificultad de alimentación, reflujo, retraso del crecimiento y vómitos comunes. Aproximadamente la mitad de los afectados tiene afectación hepática, con enzimas hepáticas elevadas, hepatomegalia y esteatosis [48].

Algunos niños afectados tienen manifestaciones prenatales que incluyen restricción del crecimiento intrauterino, oligohidramnios, frecuencia cardíaca fetal anormal y anomalías congénitas. Además, la miocardiopatía hipertrófica y las infecciones respiratorias recurrentes, al igual que en el MDS en relación con el gen *SUCLA1*, también pueden presentarse [47].

Toda la clínica que presenta este síndrome provoca, que la esperanza de vida media se acorte, dejando una supervivencia media de 20 meses en los niños que la sufren; dos terceras partes de ellos fallecen en el periodo neonatal o en la infancia [48].

#### 5.1.3.3. *RRM2B* (OMIM 604712)

El gen *RRM2B*, que se encuentra en el cromosoma 8q22.3, codifica la pequeña subunidad de ribonucleótido reductasa inducible por p53, una enzima responsable de la conversión de novo de ribonucleósido difosfato en los correspondientes desoxirribonucleósido difosfato que son esenciales para la síntesis de ADNmt [49].

Hasta el momento hay descritas ochenta y dos variantes, patogénicas o probablemente patogénicas, del gen *RRM2B*, lo que supone que presente varios síndromes relacionados: defecto del mantenimiento del ADNmt forma encefalomiopática (*RRM2B*-MDS encefalomiopática), encefalopatía mitocondrial neurogastrointestinal (*RRM2B*-MNGIE), relacionado también con una oftalmoplejía externa progresiva autosómica recesiva (*RRM2B*-Arpeo), y por último con una oftalmoplejía externa progresiva autosómica dominante (*RRM2B*-ADPEO) [50].

El MDS relacionado con *RRM2B* es un trastorno autosómico recesivo, no muy frecuente. Se presenta en los primeros meses de vida, con retraso psicomotor, hipotonía, acidosis láctica, retraso en el desarrollo, debilidad, alteración de la motilidad gastrointestinal, insuficiencia respiratoria, microcefalia, convulsiones, hipoacusia neurosensorial, nefrocalcinosis, así como, tubulopatía renal [51].

Es una enfermedad que progresa muy rápidamente y en la mayoría de los casos los pacientes fallecen durante los primeros meses de vida [51].

## 5.2. Diagnóstico

El diagnóstico de los síndromes producidos por la depleción del ADNmt debe ser un trabajo multidisciplinar debido a la cantidad de órganos que pueden estar afectados, y, en consecuencia, la gran cantidad de diagnósticos diferenciales que se pueden presentar [52]. Por todo ello es muy importante seguir cada una de las fases del diagnóstico, y así poder tratar de forma adecuada y lo antes posible cada caso.

### 5.2.1. Método de cribado

La gran heterogeneidad clínica y fenotípica, así como, las actividades de la cadena respiratoria, son los principales métodos de cribado para saber que estamos ante una enfermedad mitocondrial y que genes son los que la pueden estar provocando. Por otro lado, es muy importante hacer una buena historia familiar del paciente, preguntando si alguno de sus antecesores ha presentado o presenta algún síntoma, porque las enfermedades mitocondriales siguen una línea hereditaria, aunque haya un pequeño porcentaje que pueda aparecer de novo [52].

En el caso de las enfermedades producidas por depleción del ADNmt, como se ha comentado anteriormente, tienen una clínica bastante heterogénea, pero el tejido más afectado en todas ellas es el músculo [52]. Además, la mayoría comienzan a manifestarse durante la infancia, incluso el MDS relacionado con el gen *SUCLG1*, que puede empezar a dar manifestaciones clínicas, durante el periodo prenatal [47]. Por tanto, la edad de inicio temprana y la clínica multiorgánica, en concreto muscular, nos puede orientar a que la causa sea la depleción del ADNmt, teniendo en cuenta que hay algunos síndromes, como los relacionados con el gen *POLG*, que pueden comenzar a cualquier edad [33].

### 5.2.2. Diagnóstico de confirmación

El análisis de depleción es complicado, ya que los datos que se obtienen dependen de factores como el tejido, la edad, el sexo..., y por tanto se tienen que utilizar siempre controles con las mismas características que la muestra del paciente. A pesar de ello, y gracias a los avances de la investigación y de la ciencia, hoy en día tenemos una técnica para detectar la presencia de depleción del ADNmt, más rápida y que necesita menor cantidad de ADNmt; denominada Reacción en Cadena de la Polimerasa cuantitativa a Tiempo Real (RT-PCR). Para lo cual se requiere una sonda complementaria al ADNmt en una zona conservada del mismo, y otra nuclear que normaliza el número de célula presentes en la muestra; así se pueden relacionar copias mitocondriales y las nucleares [52].

También se puede llevar a cabo el análisis de depleción del ADNmt por la técnica de hibridación Southern, hibridando la membrana con sondas específicas para ADNmt y ARN nuclear; la relación entre ambos nos indica si hay presencia de depleción [52].

Se considera que existe una depleción mitocondrial cuando los niveles de ADNmt están por debajo de 30% con respecto a controles emparejados por edad y sexo; en los casos graves, incluso se llega hasta valores por debajo de 5% [53].



### **5.2.3. Extensión de la enfermedad**

Los MDS afectan a muchos órganos, por lo que los individuos que los padecen deben tener una evaluación exhaustiva para evaluar el grado de implicación de los diferentes órganos. Es muy importante que la gestión de estos pacientes la lleve un equipo multidisciplinar, para que estén bien atendidos [12].

En primer lugar como hemos visto todos los MDS se asocian con manifestaciones neuromusculares, por lo que es necesaria una exploración neurológica completa, con evaluación cognitiva y del desarrollo, que incluye: una resonancia magnética, para evaluar el grado de afectación del sistema nervioso central, la velocidad de conducción del nervio, para ver la afectación del sistema nervioso periférico, un electromiograma para evaluar la miopatía, un estudio de deglución si hay signos bulbares, y se debe hacer un electroencefalograma cuando el paciente presenta convulsiones [33]. También es necesaria una evaluación exhaustiva tanto oftálmica como auditiva [13].

Por otro lado, el grado de afectación hepática se evalúa mediante una ecografía del hígado, para ver su tamaño, para evaluar la presencia o no de fibrosis, incluso para observar posibles masas. También hay que hacer una analítica sanguínea, midiendo la albúmina, las transaminasas hepáticas, la bilirrubina, amoniaco, la coagulación, así como, la glucosa en sangre [33].

La evaluación gastrointestinal en el caso de los pacientes que tengan síntomas incluye: radiografía y tomografía computarizada abdominal, sigmoidoscopia, gammagrafía, esofagogastroduodenoscopia y manometría; para determinar afectaciones como reflujo gastroesofágico, diverticulosis, gastroparesis, hipoperistaltismo, o dilatación duodenal [54].

Por último, hay que hacer una evaluación nutricional y de la deglución en los pacientes que tienen retraso del crecimiento y dificultades de alimentación. Así como, un análisis de orina, aminoácidos y electrolitos para los que sufren alguna tubulopatía renal [53].

### **5.2.4. Diagnóstico y asesoramiento genético**

Dada la gran heterogeneidad tanto clínica como genética descrita de los síndromes producidos por la depleción del ADNmt, hoy en día la estrategia diagnóstica, se basa en la secuenciación masiva de todos los genes descritos que han sido asociados con los MDS [54]. Los paneles multigen permiten analizar en paralelo múltiples genes mediante un único ensayo, permitiendo llegar así a un diagnóstico específico de forma más rápida [54].

Conocer el gen que se encuentra afectado es importante para realizar un seguimiento personalizado para cada paciente, así como, nos permitirá ofrecer un apropiado asesoramiento genético tanto al paciente como a su familia.

La mayoría de los MDS presentan un patrón de herencia autosómico recesivo, por lo que es necesario que se encuentren mutados dos alelos de uno de los genes, para explicar la clínica del paciente [56]. Generalmente los padres del paciente son portadores

heterocigotos cada uno de ellos de una de las mutaciones de su hijo, por tanto, el riesgo de tener otro hijo afecto con la misma enfermedad es de un 25 %, para futuras gestaciones [56]. Aun así, no debemos descartar la aparición de mutaciones de novo y con ello la posibilidad de darse un patrón de herencia dominante en la que sólo un alelo mutado daría lugar a enfermedad. En el caso de encontrar mutaciones no descritas previamente deben llevarse a cabo estudios funcionales en modelos celulares, para confirmar la patogenicidad de dichas mutaciones [56].

### **5.3. Pronóstico y tratamiento**

Los MDS son trastornos muy graves, que a menudo se manifiestan solo en un tejido y luego se extienden a otros. Hoy en día no existe un tratamiento curativo para ninguno de estos síndromes, pero gracias a la atención multidisciplinar, estos pacientes pueden recibir tratamiento sintomático [13].

#### **5.3.1. Tratamiento de las manifestaciones**

En primer lugar, es muy importante el papel de la fisioterapia, para mantener la función muscular y evitar contracturas, así como, la fisioterapia respiratoria en los pacientes que tienen insuficiencia. Estos últimos también se benefician de tratamiento agresivo con antibiótico para las infecciones de pecho, así como ventilación artificial [13].

Las convulsiones son un síntoma bastante frecuente en los pacientes que sufren MDS, por lo que es muy importante su control con tratamiento médico. Sin embargo, la epilepsia refractaria es muy difícil de controlar, por lo que normalmente tratamiento anticonvulsivo a dosis altas y con más de una medicación. Es muy importante evitar el ácido valproico (Depakine) y el divalproato de sodio, para el tratamiento de las convulsiones en los pacientes con MDS, ya que están relacionados con la precipitación y aceleración de la enfermedad hepática, en particular en los síndromes relacionados con el gen *POLG* [55].

Por otro lado, los pacientes con dificultades en la alimentación y retraso en el desarrollo pueden requerir apoyo nutricional por dietistas y el uso de una sonda nasogástrica, o incluso una gastrostomía [54].

Por último, otras opciones de tratamiento incluyen cirugía de la ptosis palpebral, refuerzo de la escoliosis o cifosis con corsé o tirantes ortopédicos, así como, un implante coclear a los pacientes con hipoacusia neurosensorial [13].

#### **5.3.2. Modulación nutricional y cofactores**

En los pacientes con mutaciones en el gen *MPV17*, se sugiere una dieta controlada, con pocas horas de ayuno y el uso de almidón de maíz sin cocer, para evitar hipoglucemias y así ralentizar la progresión de la insuficiencia hepática [57]. Algunos pacientes con mutaciones en este gen han tenido mejoras en la insuficiencia hepática, tratándolos con succinato o coenzima Q10 junto a una dieta rica en lípidos [58]. Sin embargo, se necesitan

más estudios con más pacientes y haciendo un seguimiento durante más tiempo, para poder recomendar estas intervenciones dietéticas.

En el síndrome de Alpers-Huttenlocher, se observó que había una deficiencia de folato en el líquido cefalorraquídeo (LCR), por lo que se administró tratamiento oral de ácido folínico, observándose un aumento de folato en el LCR y con ello una mejoría en las habilidades comunicativas de los pacientes, así como, una disminución de la frecuencia de las convulsiones [33].

Por otro lado, se han utilizado cofactores como: levocarnitine, monohidrato de creatina, coenzima Q10, vitaminas B y antioxidantes, tales como ácido alfa lipoico, vitamina E, y vitamina C; como suplementos mitocondriales en los MDS, sin embargo, hay muy limitada evidencia de su efectividad [59].

### **5.3.3. Trasplante hepático**

En los síndromes producidos por depleción del ADNmt, el trasplante hepático es la única opción de tratamiento para la insuficiencia hepática, aunque es controvertido debido a la afectación multiorgánica que provocan estos trastornos [60].

El trasplante en pacientes que sufren el síndrome de Alpers-Huttenlocher, no se recomienda debido a que no cambia la rápida progresión de las manifestaciones neurológicas [33]. De la misma manera ocurre en el caso de los MDS relacionados con el gen *DGUOK*, en los que la supervivencia tras el trasplante es menor que en el resto de los síndromes, y además las manifestaciones neurológicas pueden empeorar después de su realización [61]. En pacientes con MDS relacionados con *Mpv17* los trasplantes hepáticos no han tenido buenos resultados, debido a que un gran porcentaje de ellos han fallecido en el periodo post trasplante por un fallo multiorgánico [27].

Por otro lado, el trasplante de hígado en adultos con MDS relacionados con el gen *POLG*, sí que es beneficioso, ya que tienen una buena calidad de vida [33].

## 6.CONCLUSIONES

Las enfermedades mitocondriales son un grupo de trastornos producidos por mutaciones que afectan al sistema OXPHOS, imprescindible en la respiración celular, y constituido por proteínas sintetizadas por el ADN nuclear y el ADN mitocondrial; proporcionando así una gran heterogeneidad tanto clínica como genéticamente.

Los síndromes producidos por la depleción del ADNmt pueden afectar a multitud de sistemas, a pesar de ello, hoy en día se clasifican según al tejido que afectan con más frecuencia, quedando así tres formas: la miopática (debida a mutaciones en *TK2*), la encefalomiopática (causada por mutaciones en *SUCLA 2*, *SUCLG1*, *RRM2B*) y la hepatocerebral (debida a mutaciones en *DGUOK*, *MPV17*, *POLG1*, *TWINK*).

Los pacientes que sufren la forma miopática, la menos frecuente, desarrollan una debilidad muscular progresiva, que puede afectar a cualquier músculo del cuerpo o a varios al mismo tiempo, presentando así una clínica u otra.

Los trastornos que presentan una marcada hipotonía al nacer, o durante los primeros meses de vida, acompañado de un retraso en el desarrollo cognitivo y psicomotor, se incluyen dentro de la forma encefalomiopática.

Y, por otro lado, la forma hepatocerebral, la más frecuente, agrupa trastornos que se manifiestan principalmente durante la infancia, con ataxia y epilepsia, como síntomas principales de afectación neurológica, seguido de una hepatopatía progresiva.

La mayoría de los síndromes presentan un mal pronóstico, ya que el paciente fallece en edad temprana. En el caso de las formas que presentan afectación miopática (la encefalomiopática y la miopática), un gran porcentaje de los pacientes fallecen por una insuficiencia respiratoria, producida por la debilidad muscular. Por otro lado, los que presentan la forma hepatocerebral, fallecen, principalmente, por una insuficiencia hepática de rápida progresión.

A pesar de ello es muy importante el cribado precoz, ya que no existe tratamiento curativo, pero sí sintomático, lo que puede mejorar la calidad de vida de los pacientes que sufren estos síndromes o incluso alargarla. Para esto es imprescindible, hacer una buena anamnesis, exploración física, así como, una PCR cuantitativa para confirmar el bajo número de copias de ADNmt y a continuación una secuenciación masiva de posibles genes implicados, para dar con el diagnóstico definitivo y poder ofrecer el consejo genético adecuado para futuras gestaciones.

El tratamiento con fisioterapia, el tratamiento de las convulsiones, el nutricional, así como, el uso de cofactores, han demostrado beneficios en algunos de los trastornos. Sin embargo, el uso del trasplante hepático sigue estando en duda en algunos de los síndromes.

## 7.BIBLIOGRAFÍA

1. Ernster, L., Schatz, G. Mitochondria: A Historical Review. *The Journal of cell biology*. 1981;91: 227–55.  
Disponible en: <https://doi.org/10.1083/jcb.91.3.227s>
2. Nogueira, C., Almeida, L. S., Nesti, C., Pezzini, I., Videira, A., Vilarinho, L., et al. Syndromes associated with mitochondrial DNA depletion. *Italian journal of paediatrics*. 2014; 40(34).  
Disponible en: <https://doi.org/10.1186/1824-7288-40-34>
3. Vázquez Nin G. Echeverría, O. Introducción a la Microscopía electrónica aplicada a las ciencias biológicas. 1ªed. México: FCE, UNAM/FC; 2000.
4. Montolla, J. Giuseppe Attardi: sistema genético mitocondrial y su influencia en las enfermedades neuromusculares mitocondriales. *REV NEUROL* 2008; 47(09): 483-7.  
Disponible en: <https://doi: 10.33588/rn.4709.2008418>.
5. Montoya, J., Playán, A., Solano, A., Alcaine, M.ªJ., López-Pérez, M.J., Pérez-Martos, A. Enfermedades del ADN mitocondrial. *REV NEUROL*. 2000; 31(04): 324-33.  
Disponible en: <https://doi.org/10.33588/rn.3104.2000236>.
6. Montoya, J., Emperador, S., López-Gallardo, E., Ruiz-Pesini, E. Capítulo 14 Enfermedades mitocondriales: Alteración del ADN mitocondrial, déficits bioquímicos de la cadena respiratoria y enfermedades de la fosforilación oxidativa. En: Asociación Española de Biopatología Médica, editores. *Estudio de los Errores Congénitos del Metabolismo en el Laboratorio Clínico Manual de Medicina Perinatal*. Madrid. 2014; 773-90. ISBN: 978-84-617-1716-3.
7. Montoya J., López-Gallardo E., Emperador S., Ruiz-Pesini E. Enfermedades del ADN mitocondrial. *Monografías de la Real Academia Nacional de Farmacia* 2012.
8. Brown WM., George JM., Wilson AC. Rapid evolution of animal mitochondrial DNA. *Proc Natl Acad Sci*. 1979; 76 (4): 1967-71.  
Disponible en: <https://doi.org/10.1073/pnas.76.4.1967>

9. Montoya, J. Enfermedades mitocondriales. SEBBM DIVULGACIÓN. 2015.  
Disponible en: [http://dx.doi.org/10.18567/sebbmdiv\\_RPC.2015.07.1](http://dx.doi.org/10.18567/sebbmdiv_RPC.2015.07.1)
  
10. Ruiz-Pesini, E., López-Gallardo, E., Dahmani, Y., Herrero, M.D., Solano, A., Díez-Sánchez, C., et al. Enfermedades del sistema de fosforilación oxidativa mitocondrial humano. *Rev neurol.* 2006; 43 (7): 416-24.  
Disponible en: <https://doi.org/10.33588/rn.4307.2005508>
  
11. Suomalainen, A., Isohanni, P. Mitochondrial DNA depletion syndromes – Many genes, common mechanisms. *Neuromuscular Disorders.* 2010; 20 (7): 429-37.  
Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.nmd.2010.03.017>.
  
12. El-Hattab, A. W., Craigen, W. J., Scaglia, F. Mitochondrial DNA maintenance defects. *BBA.* 2017; 1863 (6): 1539 – 55.  
Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2017.02.017>.
  
13. El-Hattab, A. W., Scaglia, F. Mitochondrial DNA Depletion Syndromes: Review and Updates of Genetic Basis, Manifestations, and Therapeutic Options. *Neurotherapeutics.* 2013; 10: 186-98.  
Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s13311-013-0177-6>
  
14. Rusecka, J., Kaliszewska, M., Bartnik, E., Tońska, K. Nuclear genes involved in mitochondrial diseases caused by instability of mitochondrial DNA. *Journal of applied genetics.* 2018; 59(1), 43–57.  
Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s13353-017-0424-3>.
  
15. Castro-Macías JI, Quijas-Aldana I, Díaz-Campos MO, Santos-Vázquez G, Normendez-Martínez M, San-Juan D, et al. Mutación del gen TK2 y miopatía de inicio tardío: descripción del primer caso mexicano. *Rev Neurol.* 2018; 67: 232.  
Disponible en: <https://doi.org/10.33588/rn.6706.2018220>.
  
16. Poulton J, Hirano M, Spinazzola A, Arenas Hernandez M, Jardel C, Lombes A, et al. Collected mutations in mitochondrial DNA depletion syndrome (excluding mitochondrial gamma polymerase, POLG1). *BBA.* 2009; 1792: 1109-12.  
Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2009.08.016>.

17. Chanprasert S, Wang J, Weng SW, Enns GM, Boué DR, Wong BL, et al. Molecular and clinical characterization of the myopathic form of mitochondrial DNA depletion syndrome caused by mutations in the thymidine kinase (TK2) gene. *Mol Genet Metab.* 2013; 110: 153-61.  
Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.ymgme.2013.07.009>.
18. Wang J, El-Hattab AW, Wong LJC. TK2-Related Mitochondrial DNA Maintenance Defect, Myopathic Form. 2018. En: Pagon R.A., Adam M.P., Ardinger H.H., Wallace S.E., Amemiya A., Bean L.J., et al., editors. *GeneReviews*. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2020.  
Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK114628/>
19. Oskoui M, Davidzon G, Pascual J, Erazo R, Gurgel-Giannetti J, Krishna S et al. Clinical spectrum of mitochondrial DNA depletion due to mutations in the thymidine kinase 2 gene. *Archives of neurology.* 2006; 63(8):1122-6.  
Disponible en: <https://doi.org/10.1001/archneur.63.8.1122>.
20. Galbiati S, Bordoni A, Papadimitriou D, Toscano A, Rodolico C, Katsarou E, et al. New mutations in TK2 gene associated with mitochondrial DNA depletion. *Pediatr Neurol.* 2006; 34(3): 177-85.  
Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.pediatrneurol.2005.07.013>.
21. Jullig M, Eriksson S. Mitochondrial and submitochondrial localization of human deoxyguanosine kinase. *Eur J Biochem.* 2000; 267(17): 5466 -72.  
Disponible en: <https://doi.org/10.1046/j.1432-1327.2000.01607.x>
22. Wang, L., Eriksson, S. Mitochondrial deoxyguanosine kinase mutations and mitochondrial DNA depletion syndrome. *FEBS Letters.* 2003; 554(3): 319-22.  
Disponible en: [https://doi.org/10.1016/S0014-5793\(03\)01181-5](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(03)01181-5).
23. El-Hattab AW, Scaglia F, Wong LJ. Deoxyguanosine Kinase Deficiency. 2016. En: Pagon R.A., Adam M.P., Ardinger H.H., Wallace S.E., Amemiya A., Bean L.J., et al., editors. *GeneReviews*. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2020.  
Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK7040/>

24. Dimmock, D.P., Zhang, Q., Dionisi-Vici, C., Carozzo, R., Shieh, J., Tang, L.-Y., et al., Clinical and molecular features of mitochondrial DNA depletion due to mutations in deoxyguanosine kinase. *Hum. Mutat.* 2008; 29 (2): 330 – 1.  
Disponibile en: <https://doi.org/10.1002/humu.9519>
  
25. Filosto M, Mancuso M, Tomelleri G, et al. Hepato-cerebral syndrome: genetic and pathological studies in an infant with a dGK mutation. *Acta Neuropathol.* 2004; 108: 168-71.  
Disponibile en: <https://doi.org/10.1007/s00401-004-0872-9>
  
26. Mancuso M, Ferraris S, Pancrudo J, Feigenbaum A, Raiman J, Christodoulou J, et al. New DGK gene mutations in the hepatocerebral form of mitochondrial DNA depletion syndrome. *Arco Neurol.* 2005; 62: 745-7.  
Disponibile en: <https://doi.org/10.1001/archneur.62.5.745>
  
27. El-Hattab AW, Wang J, Dai H, Almannai M, Staufner C, Alfadhel M, et al. MPV17- related mitochondrial DNA maintenance defect: new cases and review of clinical, biochemical and molecular aspects. *Human Mutation.* 2018;39: 461–70.  
Disponibile en: <https://doi.org/10.1002/humu.23387>
  
28. Dalla Rosa, I., Cámara, Y., Durigon, R., Moss, CF, Vidoni, S., Akman, G., et al. MPV17 Loss causes deoxynucleotide insufficiency and slow DNA replication in mitochondria. *PLoS Genet.* 2016; 12(1).  
Disponibile en: <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1005779>.
  
29. Uusimaa, J., Evans, J., Smith, C., Butterworth, A., Craig, K., Ashley, N., et al. Clinical, biochemical, cellular and molecular characterization of mitochondrial DNA depletion syndrome due to novel mutations in the MPV17 gene. *Eur. J. Hum. Genet.* 2014; 22 (2):184 – 91.  
Disponibile en: <https://doi.org/10.1038/ejhg.2013.112>
  
30. Garone, C., Rubio, J.C., Calvo, S.E., Naini, A., Tanji, K., Dimauro, S., et al. MPV17 mutations causing adult-onset multisystemic disorder with multiple mitochondrial DNA deletions. *Arch. Neurol.* 2012; 69 (12):1648 – 51.  
Disponibile en: <https://doi.org/10.1001/archneurol.2012.405>



31. Johnson A, Johnson KA. Exonuclease proofreading by human mitochondrial DNA polymerase. *J Biol Chem.* 2001; 276(41): 38097-107.  
Disponible en: <https://doi.org/10.1074/jbc.M106046200>
32. García-Gómez S, Reyes A, Martínez-Jiménez MI, Sandra Chocrón E, Mourón S, Terrados G, Powell C, et al. PrimPol, an archaic Primae/polymerase operating in human cells. *Mol Cell.* 2013;52(4):541–53.  
Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2013.09.025>
33. Cohen, B.H., Chinnery, P.F., Copeland, W.C. POLG-related disorders. 2018. En: Pagon R.A., Adam M.P., Ardinger H.H., Wallace S.E., Amemiya A., Bean L.J., et al., editors. *GeneReviews*. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2020.  
Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26471/>
34. Wong L.-J.C., Naviaux R.K., Brunetti-Pierri N., Zhang Q., Schmitt E.S., Truong C., et al. Molecular and clinical genetics of mitochondrial diseases due to POLG mutations. *Hum. Mutat.* 2008; 29 (9): 150 – 72.  
Disponible en: <https://doi.org/10.1002/humu.20824>
35. Ferrari, G., Lamantea, E., Donati, A., Filosto, M., Briem, E., Carrara, F. et al., Infantile hepatocerebral syndromes associated with mutations in the mitochondrial DNA polymerase-gammaA. *Brain J. Neurol.* 2005; 128 (4): 723 – 31.  
Disponible en: <https://doi.org/10.1093/brain/awh410>
36. Milenkovic D, Matic S, Kohl I, Ruzzenente B, C Freyer, Jemt E, et al. Twinkle is an essential mitochondrial helicase required for synthesis of nascent D-loop strands and complete mtDNA replication. *Hum Mol Genet.* 2013;22 (10): 1983 – 93.  
Disponible en: <https://doi.org/10.1093/hmg/ddt051>
37. Goh, V., Helbling, D., Biank, V., Jarzembowski, J., Dimmock D. Next-generation sequencing facilitates the diagnosis in a child with twinkle mutations causing cholestatic liver failure. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 2012; 54 (2) :291 – 4.  
Disponible en: <https://doi.org/10.1097/MPG.0b013e318227e53c>

38. Sarzi E., Goffart S., Serre V., Chrétien D., Slama A. Munnich A., et al., Twinkle helicase (PEO1) gene mutation causes mitochondrial DNA depletion. *Ann. Neurol.* 2007; 62 (6):579 – 87.  
Disponible en: <https://doi.org/10.1002/ana.21207>
39. Paradas C., Camaño P., Otaegui D., Oz O., Emmanuele V., DiMauro S., et al., Longitudinal clinical follow-up of a large family with the R357P Twinkle mutation. *JAMA Neurol.* 2013; 70 (11); 1425 – 28.  
Disponible en: <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2013.3185>
40. Andreoli C, Prokisch H, Hörtnagel K, Mueller JC, Münsterkötter M, Scharfe C, Meitinger T. MitoP2, an integrated database on mitochondrial proteins in yeast and man. *Nucleic Acids Res.* 2004;32(1): 459–62.  
Disponible en: <https://doi.org/10.1093/nar/gkh137>
41. Carozzo R, Verrigni D, Rasmussen M, de Coo R, Amartino H, Bianchi M, Buhas D, Mesli S, et al. Succinate-CoA ligase deficiency due to mutations in SUCLA2 and SUCLG1: phenotype and genotype correlations in 71 patients. *J Inherit Metab Dis.* 2016;39(2):243–52.  
Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s10545-015-9894-9>.
42. Kadrmas EF, Ray PD, Lambeth DO. Apparent ATP-linked succinate thiokinase activity and its relation to nucleoside diphosphate kinase in mitochondrial matrix preparations from rabbit. *BBA.* 1991; 1074(3):339–46.  
Disponible en: [https://doi.org/10.1016/0304-4165\(91\)90083-S](https://doi.org/10.1016/0304-4165(91)90083-S)
43. Carozzo R, Dionisi-Vici C, Steuerwald U, Luciola S, Deodato F, Di Giandomenico S, et al. SUCLA2 mutations are associated with mild methylmalonic aciduria, Leigh-like encephalomyopathy, dystonia and deafness. *Brain.* 2007; 130(3): 862 - 74.  
Disponible en: <https://doi.org/10.1093/brain/awl389>
44. Elpeleg O, Miller C, HersHKovitz E, Bitner-Glindzicz M, Bondi-Rubinstein G, Rahman S, et al. Deficiency of the ADP-Forming Succinyl-CoA Synthase Activity Is Associated with Encephalomyopathy and Mitochondrial DNA Depletion. *Am J Hum Genet.* 2005; 76(6): 1081 - 6.  
Disponible en: <https://doi.org/10.1086/430843>

45. Van Hove J.L.K., Saenz M.S., Thomas J.A., Gallagher R.C., Lovell M.A., Fenton L.Z., et al., Succinyl-CoA ligase deficiency: a mitochondrial hepatoencephalomyopathy. *Pediatr. Res.* 2010;68 (2): 159 – 64.  
Disponible en: <https://doi.org/10.1203/PDR.0b013e3181e5c3a4>
46. Ostergaard E, Christensen E, Kristensen E, Mogensen B, Duno M, Shoubridge EA, et al. Deficiency of the alpha subunit succinate-coenzyme A ligase causes fatal childhood lactic acidosis with mitochondrial DNA depletion. *Am J Hum Genet.* 2007; 81(2): 383-7.  
Disponible en: <https://doi.org/10.1086/519222>
47. Landsverk M.L., Zhang V.W., Wong L.-J.C., Andersson H.C. A SUCLG1 mutation in a patient with mitochondrial DNA depletion and congenital anomalies. *Mol. Genet. Metab. Rep.* 2014; 1: 451-4.  
Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.ymgmr.2014.09.007>
48. Randolph L.M., Jackson H.A., Wang J., Shimada H., Sanchez-Lara P.A., Wong D.A., et al. Fatal infantile lactic acidosis and a novel homozygous mutation in the SUCLG1 gene: a mitochondrial DNA depletion disorder. *Mol. Genet. Metab.* 2011;102 (2): 149 – 52.  
Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.ymgme.2010.10.014>
49. Bourdon A., Minai L., Serre V., Jais J.-P., Sarzi E., Aubert S., et al. Mutation of RRM2B, encoding p53-controlled ribonucleotide reductase (p53R2), causes severe mitochondrial DNA depletion. *Nat Genet.* 2007; 39(6): 776-80.  
Disponible en: <https://doi.org/10.1038/ng2040>
50. Gorman, G.S. Taylor, R.W. RRM2B-related mitochondrial disease. 2014. En: Pagon R.A., Adam M.P., Ardinger H.H., Wallace S.E., Amemiya A., Bean L.J., et al., editors. *GeneReviews*. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2020.  
Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK195854/>.
51. Acham-Roschitz B., Plecko B., Lindbichler F., Bittner R., Mache C.J., Sperl W., et al. A novel mutation of the RRM2B gene in an infant with early fatal encephalomyopathy, central hypomyelination, and tubulopathy. *Mol. Genet. Metab.* 2009; 98 (3):300 – 4.  
Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.ymgme.2009.06.012>

52. Montoya, J., Emperador, S., López-Gallardo, E., RuizPesini, E. Capítulo 54, diagnóstico genético de enfermedades metabólicas producidas por alteración del DNA mitocondrial. En: Sanjurjo, P. y Baldellou, A., editores. Diagnóstico y tratamiento de las enfermedades metabólicas hereditarias. Madrid: Argon; 2014. p. 773-90. ISBN: 978-84-15351-96-2.
53. Morten KJ, Ashley N, Wijburg F, Hadzic N, Parr J, Jayawant S, et al. Liver mtDNA content increases during development: A comparison of methods and the importance of age- and tissue-specific controls for the diagnosis of mtDNA depletion. *Mitochondrion*. 2007; 7(6): 386-95.  
Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.mito.2007.09.001>
54. Hirano M. Mitochondrial neurogastrointestinal encephalopathy disease. 2016. En: Pagon R.A., Adam M.P., Ardinger H.H., Wallace S.E., Amemiya A., Bean L.J., et al., editors. *GeneReviews*. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2020.  
Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1179/>
55. Bicknese AR, May W, Hickey WF, Dodson WE. Early childhood hepatocerebral degeneration misdiagnosed as valproate hepatotoxicity. *Ann Neurol*. 1992; 32(6):767 - 75.  
Disponible en: <https://doi.org/10.1002/ana.410320610>
56. Ramos F.J., Ribate M.P. Asesoramiento genético. Prevención de deficiencias, OED. 2010; 127-40.  
Disponible en: <http://hdl.handle.net/11181/2964>
57. Parini R., Furlan F., Notarangelo L., Spinazzola A., Uziel G., Strisciuglio P., et al. Glucose metabolism and diet-based prevention of liver dysfunction in MPV17 mutant patients. *J. Hepatol*. 2009; 50 (1): 215 – 221.  
Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2008.08.019>
58. Kaji S, Murayama K, Nagata I, Nagasaka H., Takayanagi M., Ohtaked A., et al. Fluctuation of liver functions in siblings with Mpv17 mutations and possible improvements associated with diet and pharmaceutical treatments targeting respiratory chain II complex. *Mol Genet Metab*. 2009; 97(4): 292-6.  
Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.ymgme.2009.04.014>

59. Rodríguez M.C., MacDonald J.R., Mahoney D.J., Parise G., Beal M.F., Tarnopolsky M.A. The beneficial effects of creatine, CoQ10, and lipoic acid in mitochondrial disorders. *Nerve muscle*. 2007; 35(2): 235-42.  
Disponible en: <https://doi.org/10.1002/mus.20688>
60. Parikh S., Karaa A. Goldstein A., Ng Y.S., Gorman G., Feigenbaum A., et al. Solid organ transplantation in primary mitochondrial disease: proceed with caution. *Mol. Genet. Metab*. 2016: 118 (3);178 – 84.  
Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.ymgme.2016.04.009>
61. Grabhorn E., Tsiakas K., Herden U., Fischer L., Freisinger P., Marquardt T., et al. Long-term outcomes after liver transplantation for deoxyguanosine kinase deficiency a single-center experience and a review of the literature. *Liver Transplant Off Publ Am Assoc Study Liver Dis Int Liver Transplant Soc*. 2014; 20 (4):464 – 72.  
Disponible en: <https://doi.org/10.1002/lt.23830>