

Ciclo de Metodología Científica II-2017; Grupo N°77

Departamento de Educación Médica

Facultad de Medicina- Universidad de la República



Enfermedades mitocondriales, desafío diagnóstico



- Br. Sebastián, Assimontti
- Br. Gonzalo, Fernandez
- Br. Manuel, Latour
- Br. Guillermo, Peluffo
- Br. Alexis, Ruiz
- Br. Diego, Saravia

Orientadores: Dra. Adriana Cassina, ^{1,2}; Dra. Marianela Rodriguez, ^{2,3}.

¹Departamento de Bioquímica. Facultad de Medicina, UDELAR

²Centro de Investigaciones Biomédicas (CEINBIO), Facultad de Medicina, UDELAR.

³Departamento de Neonatología, Hospital de Clínicas. Facultad de Medicina, UDELAR

Índice:

- Resumen	Pág. 3.
- Introducción	Pág. 3 a 4.
- Historia de la enfermedades mitocondriales	Pág. 4 a 5.
- Estructura y función mitocondrial	Pág. 5 a 6.
- Disfunción mitocondrial	Pág. 7.
- Enfermedad mitocondrial	Pág. 7 a 9.
- Diagnóstico de la enfermedad mitocondrial	Pág. 9 a 14.
- Agrupación sindromática	Pág. 14 a 22.
1- MELAS	Pág. 15 a 16.
2- MERRF	Pág. 16 a 17.
3- NARP Y LEIGH	Pág. 17 a 18.
4- MNGIE	Pág. 18 a 19
5- Síndrome medular pancreático de Pearson	Pág. 19 a 20.
6- Mutación en los genes POLG	Pág. 20 a 21.
- Presentación clínica no asociada a síndromes	Pág. 23.
- Diagnóstico en Uruguay	Pág. 23 a 25.
- Conclusión	Pág. 26.
- Agradecimientos	Pág. 26.
- Referencias	Pág. 26 a 31.
- Anexos	Pág. 32 a 38.

Resumen:

Las enfermedades mitocondriales (EM) forman un grupo extenso de entidades multisistémicas con diversas presentaciones clínicas, generada por la disfunción mitocondrial, pudiendo presentarse en cualquier rango etario. El abordaje de estas enfermedades requiere de seis pilares diagnósticos: clínico, laboratorio, imagen, histopatológico, bioquímico funcional y genético.

Llegar al diagnóstico de estas enfermedades es complejo y costoso. La dificultad radica en que la presentación clínica es diversa, y no existe disponibilidad de las herramientas diagnósticas apropiadas para cada caso en forma generalizada en los servicios de salud.

Nos planteamos como objetivo realizar una búsqueda bibliográfica sobre el espectro clínico de las EM y la paraclínica que actualmente se utiliza para valoración y diagnóstico definitivo a nivel internacional y en nuestro medio, surgiendo la necesidad de elaborar una guía diagnóstica, que tenga en cuenta las recomendaciones internacionales y la información recabada en entrevistas realizadas a especialistas en Uruguay, generando un algoritmo, que puede llegar a contribuir a futuros diagnósticos de forma más efectiva, rentable y precoz.

Palabras claves: Enfermedades mitocondriales, diagnóstico, fenotipo, genética, algoritmo.

Introducción:

Las mitocondrias cumplen diversas funciones donde pueden generarse alteraciones, destacándose el déficit en la generación de energía, por disfunción de la cadena respiratoria. Esta cadena se encuentra localizada en la membrana mitocondrial interna, donde está compuesta por cinco complejos, que son responsables del transporte de electrones para la fosforilación oxidativa generadora de adenosín trifosfato (ATP), principal molécula energética del organismo. Las proteínas que forman parte de los complejos tienen origen tanto en el ADN nuclear (ADNn) como en el ADN mitocondrial (ADNmt), pudiendo verse afectada por alteraciones en cualquiera de estos.

Las presentaciones clínicas de estos trastornos suele ser variada, observándose principalmente alteraciones en órganos con grandes gastos energéticos como serían el corazón, el sistema nervioso central (SNC), músculo esquelético, entre otros. Esta diversidad clínica depende de la alteración genética o falla molecular que se produzca, pero a su vez en el ADNmt existen tres fenómenos denominados heteroplasmia, segregación mitótica y efecto umbral que condicionan la presentación clínica de cada paciente. Todo esto se detalla a lo largo del trabajo.

Cuando se habla de EM resulta complejo estimar una prevalencia real del número de afectados a nivel mundial, su difícil diagnóstico, su escaso conocimiento por el personal de salud, altos costos en diagnósticos genéticos y formar parte del grupo considerado "enfermedades raras"

(Definidas por la Unión Europea "Cuando el número de personas afectadas es menor a 5 cada 10000 habitantes"¹) parecen ser determinantes que afectan los valores estadísticos. En un estudio realizado en el 2004 en el cual se combinaron estudios epidemiológicos de Inglaterra, Finlandia, Suecia y Australia sugiere que al menos 1 de cada 5000 pacientes tiene una enfermedad mitocondrial ². Sin embargo hoy en día se considera que las EM son sub diagnosticadas, siendo más frecuentes de lo que se pensaba ³.

Historia de las enfermedades mitocondriales:

Salvatore DiMauro (Director, H. Houston Merritt Clinical Research Center) fue uno de los pioneros en la investigación vinculada a enfermedades moleculares, y divide la historia en dos eras, por un lado, la era pre-molecular y por otro la era molecular.

La era pre-molecular abarca la descripción de EM según su manifestación clínica, biopsia muscular y criterios bioquímicos en los que era difícil realizar una clasificación genética como existe hoy en día ⁴.

Los primeros descubrimientos relacionados a enfermedades mitocondriales datan de 1962 donde se realiza la primera descripción de un paciente con hipermetabolismo de origen no tiroideo, y se demostró un trastorno en la organización de las enzimas mitocondriales a través de muestras de músculo esquelético ⁵.

Los estudios bioquímicos comienzan en la era de los 70 en la que se logró identificar distintos tipos de deficiencia a nivel de las enzimas mitocondriales como la deficiencia del complejo piruvato deshidrogenasa identificada en un niño de 8 años donde se encontraron valores anormales de ácido pirúvico en muestras sanguíneas ⁶.

En 1985 se propone una clasificación bioquímica de estas enfermedades que eran divididas en tres grupos según el metabolismo mitocondrial afectado y hacen referencia a que el músculo no es el único órgano comprometido, ya que hasta ese momento se considera a las enfermedades mitocondriales como "miopatías mitocondriales" ⁷.

La era molecular comienza en 1988 con el primer hallazgo de una mutación patogénica del ADNmt donde se descubre una delección simple en el ADNmt en pacientes con miopatía de este origen a través de un estudio de enfermos adultos, en el que concluyeron que la pérdida de ciertos ARNt (ácido ribonucleico de transferencia) afecta la síntesis de ciertas subunidades de la cadena respiratoria ⁸.

Por medio de diversas investigaciones genéticas se fueron identificando los distintos patrones que pueden manifestarse en una enfermedad mitocondrial. Según Steven Pavlakis "la heterogeneidad en las mutaciones del ADNmt y la distribución variable que existe en cada tejido es lo que genera los distintos fenotipos clínicos" ⁹.

Actualmente han aumentado las publicaciones relacionadas con este tema, desde que surgen técnicas de biología molecular conocida como el PCR (reacción en cadena de la polimerasa) ¹⁰. Los estudios científicos se están focalizando cada vez más en el compromiso de la función mitocondrial, no solo por las deficiencias energéticas (nivel de la fosforilación oxidativa), sino que las disfunciones mitocondriales se encuentran involucradas en patologías como: el cáncer, la respuesta de la inmunidad innata y en enfermedades neurodegenerativas como el Parkinson, Alzheimer y Huntington ¹¹.

Estructuras y función mitocondrial:

La mitocondria es un orgánulo que se encuentra en el citosol celular formada por una doble membrana (externa e interna, separadas por un espacio intermembranoso) que rodea una matriz. La función primordial es la de generar energía en forma de ATP (adenosina trifosfato), siendo este el combustible celular para todas las reacciones orgánicas.

En la mitocondria suceden varias reacciones claves para llevar a cabo numerosas funciones metabólicas (ciclo de Krebs, beta oxidación, etc.), esta tiene un papel protagónico en la generación de energía celular, pero también es un eslabón clave de la muerte celular programada (apoptosis) y en el mantenimiento de la homeostasis del calcio. Las mitocondrias frente a un daño del transporte de electrones aumenta la capacidad de formar especies reactivas del oxígeno a nivel de la cadena respiratoria produciéndose daño nitro-oxidativo celular y el daño aún mayor de la propia mitocondria. A nivel de las células humanas y en condiciones aeróbicas (presencia de oxígeno), la formación de ATP requiere de la degradación oxidativa de glúcidos, lípidos y aminoácidos, los cuales convergen en una etapa final, denominada “respiración celular”, en la que los electrones derivados del catabolismo de las macromoléculas ya nombradas, fluyen por la cadena de transporte de electrones en la membrana mitocondrial interna, hasta la reducción del oxígeno y formación de agua. El transporte de electrones aporta la energía necesaria para la formación de un gradiente químico (protónico H⁺) que al disiparse (a favor de su gradiente de concentración) por la ATP sintasa se produce la síntesis de ATP (fosforilación oxidativa) ¹³.

Son cinco los complejos enzimáticos formados por proteínas ¹³:

- Complejo I (NADH-coenzima CoQ reductasa)
- Complejo II (succinato-CoQ reductasa)
- Complejo III (ubiquinona-citocromo C reductasa)
- Complejo IV (citocromo C oxidasa (COX))
- Complejo V (ATP-sintetasa).

Además de los cinco complejos existen dos moléculas que actúan a modo de nexo de unión o lanzadera, la coenzima Q (ubiquinona) y el citocromo c, como se ilustra en la figura 1¹⁴.

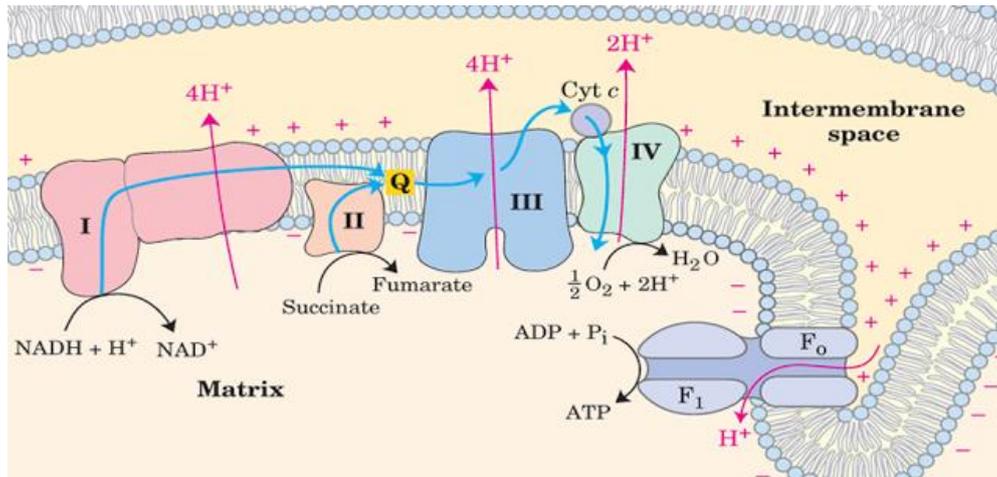


Figura 1: Cadena transportadora de electrones. *Lehninger Principles of Biochemistry*. Sixth Edition, 2013.

A nivel estructural las mitocondrias necesitan de un correcto ensamblaje de sus proteínas, que en su génesis depende de una correcta síntesis y acoplamiento. Las proteínas mitocondriales son codificadas por genes del ADN mitocondrial, y por genes del ADN nuclear que codifica proteínas que se importan a la mitocondria. Específicamente el ensamblaje de la maquinaria de la fosforilación oxidativa, requiere de 37 genes del ADN mitocondrial y de 1500 genes del ADN nuclear. Este origen dual de las proteínas mitocondriales es un proceso complejo y altamente regulado¹⁵.

No menos complejo que el ensamblaje, es el mantenimiento y la dinámica mitocondrial, porque estos orgánulos no presentan una posición fija citoplasmática, se mueven constantemente coordinadas por el citoesqueleto y su número específico puede variar según el requerimiento celular, ya que estas se fusionan (unión de dos mitocondrias) y fisianan (división de una mitocondria en dos), de acuerdo a las necesidades de la célula y/o la remoción de las mitocondrias disfuncionales. Este crecimiento o división de mitocondrias preexistentes se conoce como “biogénesis mitocondrial”, proceso que se activa bajo estrés ambiental (ejercicio, frío, restricción calórica, estrés oxidativo etc.)¹⁵.

El mantenimiento o recambio mitocondrial es un proceso continuo e importante en la restitución de las mitocondrias que se dañan y al igual que la biogénesis son procesos regulados y controlados por múltiples factores de transcripción y coactivadores transcripcionales¹⁵.

Disfunción mitocondrial:

La alteración tanto en el ensamblaje, como en el recambio generan disfunción mitocondrial que favorece patologías con diversas bases metabólicas.

La disfunción mitocondrial es la alteración funcional de la mitocondria, que no le permite responder a las necesidades celulares normales. Esta disfunción se puede dividir en dos tipos: primaria y secundaria ¹⁶.

La disfunción primaria es producto de la mutación en un gen codificado por el ADNmt, o en un gen codificado por el núcleo para una proteína mitocondrial o incluso una mutación inducida por una toxina que actúa selectivamente en la mitocondria ¹⁶.

Si bien las enfermedades que implican mutaciones mitocondriales se transmiten de la madre a todos sus hijos, ya que el óvulo es el que aporta las mitocondrias al embrión, las mutaciones en los genes nucleares que codifican para proteínas mitocondriales también llevan a un amplio rango de defectos mitocondriales que pueden alterar el ensamblaje, la dinámica y/o la función metabólica de las mitocondrias¹⁶.

La disfunción mitocondrial secundaria es la consecuencia de procesos patológicos que comprometen en segunda instancia la actividad mitocondrial. Por ejemplo, el estrés oxidativo generado por un proceso de isquemia-reperfusión lleva a la disfunción mitocondrial de las células del miocardio. Muchas otras patologías que afectan el equilibrio celular normal tiene como causa final común la disfunción mitocondrial ¹⁶.

Las patologías mitocondriales tanto primarias como secundarias, impactan sobre las funciones claves de metabolismo mitocondrial pudiendo producir en primera instancia una disminución del aporte energético (alteración en la síntesis de ATP), un aumento del daño oxidativo, alteración en la homeostasis de calcio. La disfunción mitocondrial puede inducir la apertura del poro de la transición de la permeabilidad mitocondrial (PTPm), produciéndose la liberación de factores proapoptóticos y lo que desatará el proceso de apoptosis (muerte celular programada, por daño irreversible) ¹⁶.

Enfermedad mitocondrial:

Las enfermedades mitocondriales son alteraciones de la función de las mitocondrias, que pueden afectar a numerosos órganos. Los requerimientos energéticos y el número de mitocondrias presentes en estos órganos, condiciona cuan precoz son las alteraciones y la magnitud de las mismas ¹⁶.

Son un grupo heterogéneo, con diferentes presentaciones, variando desde enfermedades fatales en el recién nacido, disfunciones de órganos con alto consumo energético, como el sistema nervioso central (SNC), corazón o músculo esquelético, o también pudiendo presentarse como

enfermedades degenerativas en la adultez.

Estas alteraciones son susceptibles de aparecer en todos los períodos de la vida, aunque algunas afectaciones se atribuyen al recién nacido y al niño y otras aparecen con más frecuencia en el adolescente o en el adulto.

En un intento de clasificación de las enfermedades mitocondriales se puede tener en cuenta aspectos bioquímicos o genéticos, sabiendo que es muy difícil que ambas clasificaciones se correlacionen con la clínica ya que una misma anomalía bioquímica o molecular se asocia con diferentes manifestaciones clínicas, y a su vez la misma sintomatología clínica puede obedecer a diferentes anomalías bioquímicas o moleculares ¹⁷. Por otro lado, la severidad de la afectación clínica no se correlaciona con la intensidad de la alteración metabólica, teniendo en cuenta que un órgano con una disfunción metabólica puede encontrarse clínicamente silente por un periodo de tiempo hasta que las demandas energéticas aumentan y en un momento determinado puede manifestar su disfunción con la evolución del proceso.

Bioquímicamente se pueden clasificar en defectos de la oxidación de los ácidos grasos, defectos del metabolismo del piruvato (piruvato carboxilasa y piruvato deshidrogenasa), defectos en el ciclo de Krebs, defectos en el acoplamiento oxidación-fosforilación y defectos de la cadena respiratoria mitocondrial (complejos I-V y deficiencia primaria de CoQ: coenzima Q10) ^{12, 13, 16}. A nivel genético se divide en alteraciones del ADNmt como las deleciones, duplicaciones o duplicaciones/deleciones y las mutaciones puntuales (herencia materna).

Por otro lado, las alteraciones del ADN nuclear, con alteración de los genes nucleares que codifican proteínas mitocondriales de los complejos enzimáticos, proteínas que participan en la importación de proteínas mitocondriales, en la comunicación inter-genómica y en la motilidad/fusión/fisión mitocondrial ¹⁸.

Muchas veces los especialistas como cardiólogos, gastroenterólogos, neurólogos y oftalmólogos son los que contactan por primera vez con estos pacientes debido a su diversidad clínica ¹⁹.

Esta revisión se focaliza en la aproximación diagnóstica en las enfermedades mitocondriales de origen primario tanto por afectación del genoma mitocondrial como nuclear, en una franja etaria de 1 a 10 años de edad. Se encuentran reportadas en la literatura un gran número de artículos en donde se analizaron muestras infantiles por debajo del año, describiendo las manifestaciones clínicas más frecuente como encefalopatía y trastornos del aprendizaje, seguidas de debilidad muscular, sin ser frecuentes la configuración de un síndromes clínicos característicos ²⁰.

En la presente revisión se incluye un rango de edad más grande, en donde es más frecuente la presentación sindromática clásica que la no clásica, predominando síndromes como el de MELAS, MERRF, NARP y LEIGH, MNGIE, Pearson y PLOG, como se ve en la imagen propuesta por la asociación española de pediatría:

Tabla IV. Principales signos, síntomas y síndromes específicos en relación con la edad.

	RN ó prenatal – 1 mes	1 mes – 1 año	1 años – 10 años	10 años – 20 años
Síntomas o signos principales - Cualquiera puede ser el de presentación. - Aislados o combinados en distintas asociaciones.	Hipotonía central o periférica Encefalopatía Defecto crecimiento Insuficiencia hepática Miocardiopatía Trastorno alimentario Trastorno hematológico Dismorfia facial Hipoventilación Apneas Convulsiones Microcefalia Ptosis palpebral	Debilidad miopática Retraso psicomotor Defecto crecimiento Trastorno hematológico Regresión neurológica Convulsiones Trastorno gastrointestinal Coma Alteraciones oculares	Debilidad miopática Intolerancia ejercicio Ptosis palpebral Oftalmoplejía Regresión neurológica Convulsiones Defecto crecimiento Retraso psicomotor Ataxia Diabetes Miocardiopatía Disfunción neurológica intermitente Hipoacusia neurosensorial Retinitis pigmentaria Trastorno hematológico Síndrome malabsorción Otros trastornos endocrinos	Debilidad miopática Intolerancia ejercicio Oftalmoplejía Convulsiones Atrofia óptica Retinitis pigmentaria Regresión neurológica Miocardiopatía Migraña Ataxia Hipoacusia neurosensorial
Síndromes principales		Leigh MILS Alpers Pearson Déficit benigno de la CIT-C oxidasa	MERRF MELAS Kearns-Sayre NARP MNGIE CPEO Pearson Miopatía Miocardiopatía	CPEO LHON MERRF MELAS Kearns-Sayre MNGIE NARP Leigh

Tabla 1: Leigh: Encefalomiopatía necrosante subaguda; MILS: Síndrome de Leigh con herencia materna; Alpers: Polidistrofia con crisis convulsivas recalcitrantes; MERRF: Encefalopatía mioclónica con RRF; MELAS: Encefalomiopatía mitocondrial con acidosis láctica y accidentes vasculares cerebrales; Kearns-Sayre: Oftalmoplejía externa progresiva, retinitis pigmentaria y al menos 1 de: síndrome cerebeloso, hiperproteorraquia o bloqueo cardíaco, con inicio antes de los 20 años; NARP: Neuropatía sensitivo-motora, ataxia y retinitis pigmentaria; MNGIE: Neuropatía gastrointestinal mitocondrial con encefalopatía; CPEO: Oftalmoplejía externa progresiva, con o sin ptosis palpebral; Pearson: Anemia sideroblástica, neutropenia, trombopenia e insuficiencia pancreática exocrina; LHON: Atrofia óptica hereditaria de Leber. Asociación Española de pediatría ²¹.

Diagnóstico de la enfermedad mitocondrial:

Dado la amplia y diversa presentación clínica nos parece oportuno citar un algoritmo (Fig. 2) que intenta simplificar los seis pilares diagnósticos fundamentales ante la sospecha de una EM, en este algoritmo, los autores combinan hallazgos clínicos, de laboratorio, imagen, histopatológicos, bioquímicos funcionales y genéticos.

A nivel clínico, es necesario resaltar la aplicabilidad de la escala de Wolf modificada (Fig.3),

donde se observa que los signos y síntomas indicativos de afectación muscular, del sistema nervioso central y multisistémica sumado a los hallazgos en las pruebas de laboratorio, bioquímicas funcionales e histopatológicas, permite evaluar la probabilidad de disfunción mitocondrial ²⁰.

Una posible herencia materna puede sospecharse en ocasiones por la presencia de "signos blandos", como talla corta, sordera y migrañas en miembros de la rama materna. ²².

De forma general ante la sospecha de un cuadro compatible con un proceso de disfunción mitocondrial en uno o más tejidos, se requieren de exámenes complementarios que permitan aproximarse al alcance de las mismas ²².

La prueba de laboratorio más reconocida es la acidosis láctica, en donde la disminución de la producción de ATP por disfunción en la cadena respiratoria, dan lugar a glucólisis anaerobia, con sobreproducción de piruvato. El piruvato puede sufrir una reacción de transaminación y formar alanina, o reducirse a lactato.

La acidosis láctica se encuentra hasta en un 50% de los pacientes con mutaciones del ADN mitocondrial, pero los trastornos mitocondriales causados por mutaciones del ADNmt sólo representan un <10% de las EM ²³.

Cuando la acidosis láctica está presente, debe tenerse en cuenta que no es específico de los trastornos mitocondriales. El lactato venoso elevado se puede observar con estasis venosa, hipoxia, hipoperfusión, disfunción hepática, insuficiencia renal, toxicidad de fármacos, enfermedades neurodegenerativas, sepsis, espasticidad, hiperinsulinismo, deficiencia crónica de tiamina, convulsiones y muchos otros trastornos metabólicos. ²³.

A nivel arterial una elevación superior a 10 de la relación entre el lactato y el piruvato sugiere la búsqueda de una alteración metabólica. Cabe recordar que en condiciones normales, el valor de referencia para el lactato en sangre es de 4.5 a 19.8 mg/dL (0.5 a 2.2 mmol/L). ²³.

Los defectos en la función mitocondrial, pueden producir desórdenes metabólicos, encontrándose niveles alterados del piruvato, aminoácidos plasmáticos, ácidos orgánicos, perfil de acilcarnitina y ácidos orgánicos en orina. Los valores normales no descartan el posible diagnóstico de EM. En el LCR se pueden encontrar valores levemente aumentados de lactato, resultando ser más fiables que los estudios en sangre venosa ya que estos pueden demostrar cifras normales cuando no lo son ²⁴.

En cuanto al pilar imagenológico, se debe mencionar que la imagen cerebral puede ser normal, o puede mostrar múltiples anomalías características.

Las tomografías computarizadas (TAC) puede mostrar calcificaciones puntiformes, sobre todo en ganglios basales y/o cerebelo.

La resonancia magnética (RM) puede encontrar en T2 patrones específicos, como lesiones en los núcleos grises de la base, lesiones en sustancia blanca, otros pueden presentar atrofia cerebelar y Stroke que no pertenecen al territorio vascular ²⁵. Por su parte los estudios histopatológico, cuenta con una herramienta, que permite precisar la acumulación de mitocondrias en el sarcolema, como el microscopio óptico, lo que se considera uno de los hallazgos orientadores de la EM ²³, usando la técnica de tricrómica de Gomori para identificar las Fibras Rojas Rasgadas ²³. Si es combinado a estudio de bioquímica funcional pueden potenciar su diagnóstico, si este muestra un aumento del número de fibras negativas a la prueba de citocromo oxidasa ²⁶. Un dato relevante es que se ha demostrado que este tipo de estudios se detecta en pacientes con ADNmt mutado ²³. En este mismo pilar la microscopía electrónica es importante en la evaluación de sospecha de trastornos mitocondriales, donde suele existir entre un 30% a 40% de anomalías ultraestructurales ²⁶. Los hallazgos ultraestructurales incluyen un aumento del número mitocondrial o del tamaño, aumento de lípidos, gotas de glucógeno, aumento de la matriz mitocondrial, crestas anormales e inclusiones paracristalinas ²³.

Cambios ultraestructurales similares a nivel mitocondrial pueden observarse en una variedad de otras condiciones, incluyendo distrofias musculares, atrofia neurogénica, miopatías inflamatorias, tratamiento con terapia antirretroviral, uso crónico de esteroides, envejecimiento u otros trastornos metabólicos.

Al igual que con la microscopía óptica normal, la microscopía electrónica normal no elimina la posibilidad de un trastorno mitocondrial.

La biopsia muscular, enmarcada dentro del pilar histopatológico, consiste en tomar una muestra de músculo que bien puede ser de las extremidades, o utilizar cuádriceps femoral o deltoides. Luego se realiza un ensayo histoquímica funcional ²⁷. Uno de los resultados característicos es la disminución de la actividad en citocromo oxidasa (COX) o complejo IV de la cadena respiratoria. ²⁷.

La deficiencia de COX en las fibras, se acompaña de una prueba de la Succinato deshidrogenasa (SDH) o Complejo II. Si ambos estudios son positivos aumentan la sensibilidad y especificidad del diagnóstico ²⁷. Debemos tener en cuenta que las proteínas que forman parte del complejo II son codificadas en forma exclusiva por el ADNn, a diferencia del resto de los complejos, que son codificados por ambos ADNn y ADNmt.

El último pilar en la búsqueda del diagnóstico de la EM, son los estudios genéticos, que serán guiados en base a los hallazgos de la biopsia muscular y prueba para COX negativa (sugiere de una mutación del ADNmt) o disminución en la actividad de la COX (sugiere mutación en el ADN nuclear, presente en todas las células musculares). Existiendo casos donde solo se afecta

un complejo, que disminuye su actividad y las mutaciones pueden ser tanto en el ADNn o en el ADNmt ²⁷.

Entre los posibles resultados se encuentran alteraciones aisladas en la cadena respiratoria hasta múltiples defectos en ella. Teniendo en cuenta cada resultado obtenido va a depender la profundidad y estudios a solicitar. Según el complejo que se encuentre afectado van a ser las mutaciones de los genes a buscar. Cuando los resultados indican una disfunción de los complejos I-II o I-III hay que tener en cuenta los déficits de coenzima Q10, los cuales pueden llegar a ser reversibles con suplementación oral ²⁷.

El diagnóstico genético se basa en el estudio del ADN mitocondrial y genes nucleares que pueden demostrar distintas formas de herencia. Actualmente el uso de Secuenciación de Próxima Generación (NGS: Next generation sequencing) es la tecnología utilizada en investigación que permite secuenciar todo el genoma mitocondrial ²⁸. En las EM las evaluaciones actuales muestran que se puede realizar un diagnóstico mediante esta técnica. Incluye el análisis de secuenciación y supresión de un número de genes nucleares vinculados a enfermedad mitocondrial, el análisis de “microarray” para estudios en el número de copias de anomalías cromosómicas y el análisis completo del ADNmt como se describe anteriormente ²⁹. Secuenciación de Exones (WES) también pertenece a la nueva era de tecnología genética NGS, utilizado en la búsqueda de alteraciones en el ADNn (implicado en el 80% de las disfunciones mitocondriales) ²⁹. Las regiones que codifican un gen están comprendidas dentro del exón, que representan aproximadamente un 2% de todo el genoma, donde puede ser utilizado para focalizar el análisis de estas secuencias que pueden demostrar mutaciones patológicas en un determinado individuo ²⁹. El estudio permite identificar la mutación del exón que puede tener un solo paciente. Las limitaciones que se encuentran en este estudio es que no tiene la capacidad de una secuenciación completa, por otro lado en los casos que no se identifiquen las variantes patogénicas se puede volver a realizar ya que el análisis de un exón no es concluyente. Los autores del algoritmo previamente mencionado, confirman la utilidad del mismo, estableciendo “un rendimiento diagnóstico molecular de un 51%”, lo que repercute en una mejor relación costo-efectividad de los estudios genéticos ²⁰.

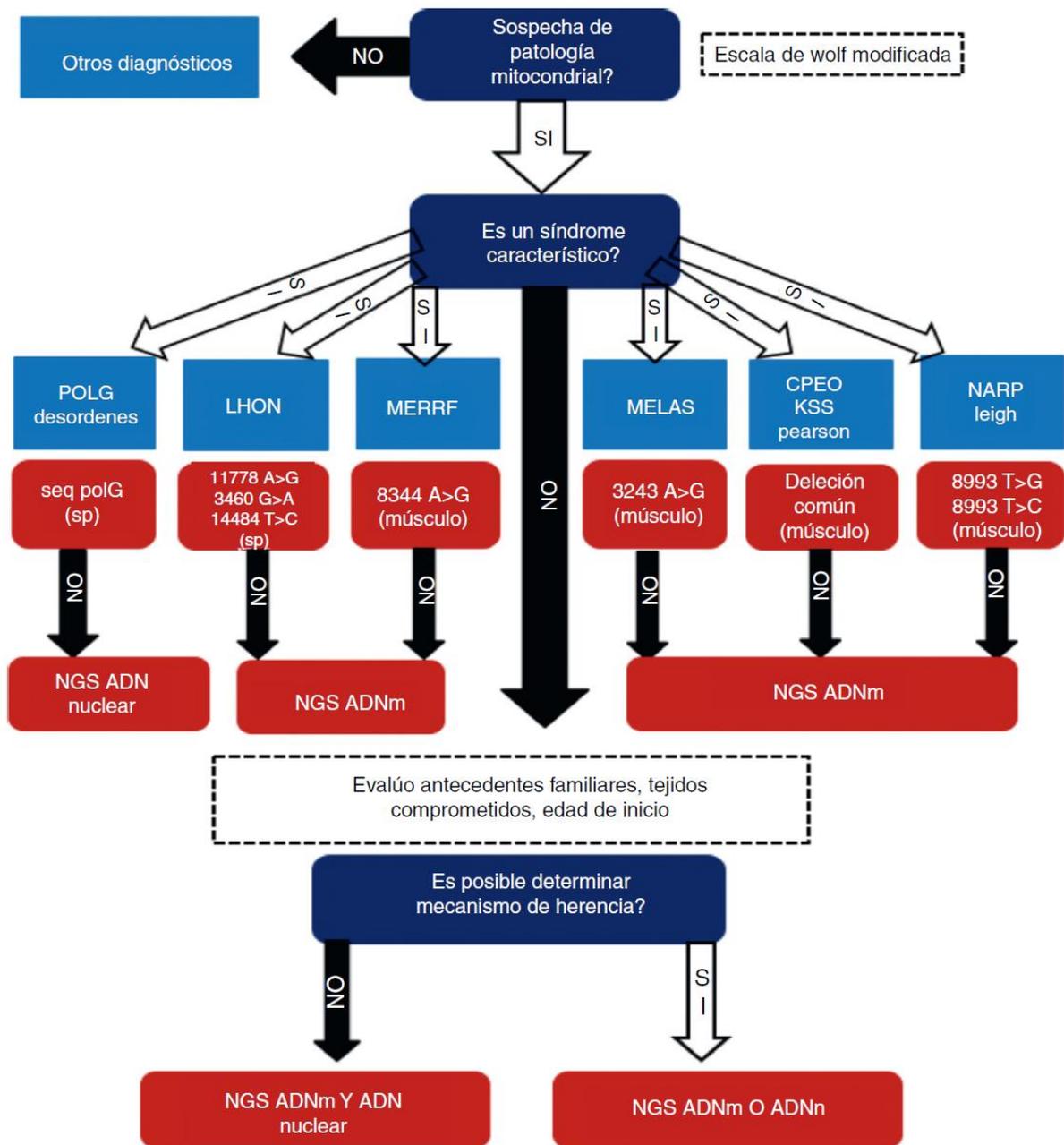


Figura 2: Algoritmo de selección de estudios moleculares para el diagnóstico etiopatogénico de la enfermedad mitocondrial. *Diagnosis of mitochondrial diseases: Utility of a clinical-molecular approach systemized incorporating high performance sequencing*²⁰.

POLG: Polimerasa gamma; LHON: Neuropatía óptica hereditaria de Leber; MERRF: Epilepsia mioclónica asociada a fibras rojas rasgadas; MELAS: Encefalopatía mitocondrial, acidosis láctica y episodios de like stroke; CPEO: oftalmoplejía crónica progresiva externa; KSS: síndrome de Kearns-Sayre; NARP: Neuropatía, ataxia y retinitis pigmentosa; NGS: Next generation sequencing.

I. Signos y síntomas clínicos (1 punto por síntoma, máximo 4 puntos)		
Afectación muscular (max 2 puntos)	Afectación SNC (max 2 puntos)	Afectación multisistémica (max 3 puntos)
Oftalmoplegia*	Retraso madurativo	Afectación hematológica
Facies miopática	Pérdida de pautas madurativas	Disfunción gastrointestinal
Intolerancia al ejercicio	Episodios stroke-like	Disfunción endocrinológica
Debilidad muscular	Migraña	Afectación cardíaca
Rabdomiolisis	Convulsiones	Afectación renal
EMG patológico	Mioclónias	Hipoacusia
	Ceguera cortical	Neuropatía
	Signos piramidales	Recurrencia familiar
	Signos extrapiramidales	
	Afectación tronco encéfalo	
II. Estudios complementarios (máximo 4 puntos)		
Aumento de lactato*		
Aumentado cociente lactato/piruvato		
Aumento alanina*		
Aumento lactato en LCR*		
Aumento alanina en LCR*		
Aumento proteínas en LCR		
Aumento excreción ácidos tricarbóxicos en orina*		
Aciduria etimolónica		
Imágenes compatibles con stroke-like en IRM		
Imágenes compatibles con leigh en IRM*		
Aumento de lactato en espectroscopia por RMN		
III. Histopatología (máximo 4 puntos)		
Fibras rojo-rasgadas** (más del 2% en sujetos de 30 a 50 años y cualquier número en menores de 30)		
Fibras COX negativas** (más del 2% en menores de 50 años)		
Reducción en tinción COX**		
Reducción en tinción SDH		
Vasos positivos para SDH		
Mitocondrias anormales en la microscopia electrónica		
Total: 1 punto, desorden mitocondrial poco probable; 2 a 4 puntos, desorden mitocondrial posible; 5 a 7 puntos, desorden mitocondrial probable; 8 a 12 puntos, desorden mitocondrial definido.		
*Estos hallazgos suman 2 puntos cada uno ** Estos hallazgos suman 4 puntos cada uno		

Figura 3: *Criterios de probabilidad de disfunción mitocondrial a partir de datos clínicos y de estudios complementarios. Modificada de Wolf. Diagnosis of mitochondrial diseases: Utility of a clinical-molecular approach systemized incorporating high performance sequencing*²⁰.

Agrupación sindromática:

Existen síndromes clínicos bien definidos, que característicamente están dotados de una formidable heterogeneidad en sus manifestaciones, lo que en parte es condicionada por tres fenómenos denominados heteroplasma, segregación mitótica y efecto umbral.

Cada tejido requiere un determinado número de mitocondrias totales afectadas para que se exprese el fenómeno patológico. Fenotípicamente una mutación patogénica del ADNmt no actúa de acorde a las leyes mendelianas, ya que depende del balance entre el ADNmt normal y el ADNmt mutado que existen entre las células de un tejido en particular (heteroplasma). El efecto umbral hace referencia a la mínima proporción de ADNmt mutado capaz de alterar el metabolismo oxidativo para que produzca la disfunción de un órgano o tejido. Es por eso que los síntomas que afectan a un sistema, órgano o tejido puede ser reflejo de disfunción mitocondrial. Especialmente se describen los trastornos multisistémicos progresivos, que afecta

en proporción y cronología variable al SNC, sistema nervioso periférico, ojos, audición, musculatura estriada y corazón como muy sugerentes de enfermedad mitocondrial.

Se realiza una breve reseña de los síndromes clásicos, describiendo sus manifestaciones y la eventual paraclínica que permitan al clínico orientar el diagnóstico hacia una EM.

1. MELAS

Síndrome que se caracteriza por Encefalopatía mitocondrial, acidosis láctica y episodios like Stroke (MELAS). Es una enfermedad que comienza entre 2 y 15 años ³⁰. La mutación se aloja generalmente a nivel del ADNmt de transferencia ^{30,31}.

- Clínica:

Estos pacientes presentan episodios Stroke-like (similares a stroke) antes de los 40 años, encefalopatía con convulsiones focales, déficit focal, asociando acidosis láctica, pueden presentar demencia, cefaleas recurrentes, vómitos, intolerancia al ejercicio y debilidad en extremidades proximales ^{31,32}.

- Laboratorio:

Punción lumbar y sangre: Aumento en concentración de lactato (acidosis láctica), que aumenta en el ejercicio moderado y proteínas aumentadas en líquido cefalorraquídeo mayor de 100 mg/dL.

- Imagenología:

RM: durante el episodio de "stroke-like", que muestra hipercaptación con predominio parietooccipital, sin claro respeto por los territorios vasculares ^{30,33}.

- Histopatológico

Biopsia muscular: Característicamente se encuentra la presencia de fibras rojas rasgadas que se evidencia con el uso de tinción tricrómica de Gomori modificada o "fibras azules rasgadas" (Permite visualizar colágeno, fibras elásticas de vasos y estructuras nerviosas) generado por reacción hiperintensa de tinción histoquímica de "Succinato deshidrogenasa (SDH)". Las fibras dañadas tiñen de rojo, con bordes irregulares y deshilachados.

La mayoría de estas fibras rojas rasgadas tiñen positivamente a la actividad de COX citocromo c oxidasa, en cambio en MELAS no reaccionan con Citocromo C oxidasa. Pero es característico encontrar abundancia mitocondrial en músculo liso y en células endoteliales de vasos sanguíneos intramusculares que se revela mejor con tinción Deshidrogenasa Succínica a los que son reactivos los vasos sanguíneos.

- Bioquímico- funcional:

Estudios de la cadena respiratoria: Defectos en los complejos I y/o IV aunque pueden ser normales

- Genético:

NGS: MT-TL1 es el gen del ADNmt responsable en un 80% de los defectos genéticos del MELAS. El 20% restante de las alteraciones del ADNmt son atribuidas en gran parte a variantes patogénicas del gen MT-ND5, que codifica la subunidad 5 de NADH ubiquinona oxidoreductasa. En menor frecuencia se describen en la bibliografía otras variantes que se identificaron en ADNmt y ARNt ^{34, 35}.

- Otros estudios:

ECG: Se puede evidenciar cardiomiopatía, pre excitación o bloqueo incompleto.

Electromiografía y conducción nerviosa: Son consistentes con la presencia de proceso miopático y puede coexistir una miopatía. Las neuropatías son relativamente comunes, alrededor del 22% de los casos y es a predominio axonal y sensitivo ^{34, 36}.

2. MERRF

Epilepsia mioclónica asociada a fibras rojas rasgadas (MERRF) es una enfermedad que puede aparecer en la niñez o en la adultez con manifestaciones neurológicas diversas ³⁶. El cerebro es un órgano que genera altas demandas de energía metabólica, cuando se encuentra bajo restricción intracelular de ATP tiende a la formación de neurotransmisores excitatorios y degeneración neuronal con atrofia cerebral y cerebelar que explica las típicas manifestaciones neurológicas. Esta enfermedad es producto de una mutación en el ADNmt de transferencia sustituyendo una adenina por una guanina.

- Clínica:

Ataxia, hipoacusia, oftalmoplejia, mioclonía sensible al estímulo, convulsiones, epilepsia, las que son acompañadas de patrones de fibras rojas rasgadas en el músculo esquelético y acidosis láctica características MERRF ³⁷. La epilepsia es una de las características clínicas más llamativas, también se han descrito casos como defectos endocrinos, tales como la diabetes, estatura pequeña e hipotiroidismo, así como enfermedades gastrointestinales, pancreatitis crónica e íleo paralítico ^{31, 37}. A nivel cardíaco pueden encontrarse tanto arritmias y cardiomiopatías. En la piel se puede manifestar con lipomatosis múltiple y psoriasis ³⁷.

- Laboratorio:

Punción lumbar y sangre: En busca de aumento en la concentración de lactato y proteínas del cefalorraquídeo como en el MELAS.

- Imagenología:

RM: Puede mostrar atrofia cerebral y calcificación de los ganglios de la base. Otra imagen típica es la necrosis bilateral del putamen y atrofia en tronco encefálico y cerebelo.

- Histopatológico:

Biopsia muscular: Se constatan "fibras rojas rasgadas" (FRR) con tricrómico Gomori modificado y fibras hiperactivas con SDH. Tanto las fibras rojas rasgadas como las fibras rojas no rasgadas fallan en la reacción histoquímica con COX como en el MELAS. En ocasiones estas FRR no se observan ³⁸.

- Bioquímico- funcional:

Estudios cadena respiratoria: se utilizan muestras de músculo esquelético en el cual se demuestran disminución en la actividad del complejo que contiene subunidades codificadas por ADNmt, sobre todo aquellas con deficiencia de COX ³⁸.

- Genéticos:

NGS: *MT-TK*, en sus cuatro variantes es el gen más frecuente involucrado en el síndrome de MERRF en aproximadamente un 90% de los pacientes ³⁹.

Southern blot: Como estrategia genética de estudio, inicialmente se evalúa el ADN leucocitario como primer screening para evaluar las 4 variaciones (m.8344A>G, m.8356T>C, m.8363>A, m.8361G>A). Si estas son excluidas, se pueden buscar alteraciones en otros genes que producen la variante patogénica de MERRF, como *MT-TF*, *MT-TLI*, *MT-TI* y *MT-TP* ³⁹

- Otros estudios ³⁹:

EEG: En él se pueden registrar descargas generalizadas de espiga y ondas de descarga con actividad de fondo lento así como descargas epileptiformes focales.

ECG: Se puede evidenciar patrones de pre excitación pero el bloqueo cardíaco no aparece como en los casos de MELAS.

Electromiograma (EMG) y velocidad de conducción nerviosa: Se puede encontrar una miopatía y puede asociarse neuropatía.

3. NARP y LEIGH

La Neuropatía, ataxia y retinitis pigmentosa (*NARP*) y *el síndrome de Leigh* se encuentran asociados al compartir la mutación de un gen mitocondrial conocido como MT-ATP6. Esta es una enfermedad neurodegenerativa generada por el déficit energético mitocondrial, en adultos se presenta como NARP y en los niños se puede presentar como el síndrome de Leigh que puede ser letal ⁴⁰.

El síndrome de Leigh se caracteriza por la aparición de síntomas entre los 12 meses y 3 años, se presenta muchas veces después de una infección viral.

- Clínica:

Estos pacientes pueden presentar una regresión en el desarrollo psicomotor, hipotonía, espasticidad muscular, Corea, ataxia cerebelosa y neuropatía periférica ⁴¹. Dentro de las manifestaciones extra neuronales se pueden encontrar miocardiopatía hipertrófica⁴².

- Laboratorio:

Punción lumbar y sangre: Niveles de lactato aumentado en sangre y LCR (Acidosis láctica)

- Imagenología:

RM cerebral: Las imágenes en T2 muestran simetría bilateral hiperintensa en ganglios de la base y tronco encefálico.

- Bioquímico- funcional:

Medición de actividad enzimática: Enzimas como PDH (piruvato deshidrogenasa), se miden en fibroblastos de piel cultivada y las enzimas de la cadena respiratoria se miden en músculo esquelético.

- Genéticos:

Se centra en la identificación de variantes patógenas en un gen nuclear específico o la exclusión de la mutación del ADNmt. Este síndrome puede dividirse según los patrones de herencia ⁴²:

Herencia autosómica recesiva: Incluye mutaciones en genes que codifican enzimas de la fosforilación oxidativa y sus factores de ensamblaje con deficiencias desde el Deficiencia complejo I al complejo IV.

En cuanto a los antecedentes genéticos, los padres de un individuo afectado son heterocigotos obligatorios, asintomáticos y no corren el riesgo de desarrollar el trastorno.

Herencia ligada al X: En los casos de enfermedad asociado al X hay diversos genes relacionados como el PDHA1 (deficiencia piruvato deshidrogenasa 1), NDUFA1 (síndrome de Leigh deficiencia Complejo I) y AIFM1 (deficiencia de cadena respiratoria múltiple), existiendo más de 50 variantes mutantes que pueden causar síndrome de Leigh aunque son más raros ⁴².

En este caso los antecedentes, los padres del niño afectado no tendrá síndrome de Leigh ligado al X, por lo que no requiere evaluación. La madre de un niño puede ser heterocigoto, ya que aproximadamente 25% de las madres de niños con variante PDHA1 son heterocigotos ⁴².

4. MNGIE

Neuropatía gastrointestinal mitocondrial con encefalopatía (MNGIE) afecta adultos jóvenes, enfermedad autosómica recesiva que se caracteriza por el daño gastrointestinal que genera.

- Clínica:

Dentro de los síntomas encontramos, dolor abdominal, disfunción del esfínter que produce reflujo gastroesofágico, dismotilidad gastrointestinal que genera disminución del vaciado provocando megacolon, disfagia, vómitos durante la noche ⁴³. Dentro de la afección neurológica, se ve neuropatía periférica desmielinizante, debilidad simétrica y distal de miembros inferiores y leucoencefalopatía ⁴⁴.

- Laboratorio:

Proteínas LCR: en búsqueda de un aumento significativo de proteínas en el rango de 60 o >100 mg/dL (normal: 15 - 45 mg/dL)

Sanguíneo: La acidemia láctica, aumentos de la concentración sérica de lactato sin cambios en pH e hiperalaninemia, así como acidosis láctica con aumentos de la concentración asociada a disminución del pH sanguíneo es inusual.

- Imagenológico:

RM cerebral: Leucoencefalopatía asintomática que se observa como materia blanca anormal difusa (Aumenta en FLAIR o T2)⁴⁶

- Histopatológico:

Biopsia muscular: Los hallazgos que se pueden encontrar son una histología anormal con fibras rojas rasgadas evidenciadas con tricrómico de Gomori y defectos en uno o múltiples complejos de la fosforilación oxidativa. También pueden observarse músculo normal.

Muestra histológica: Se puede tomar muestra biopsia rectal que muestre inclusiones citoplasmáticas eosinofílicas, que representan mitocondrias anormales, en las células ganglionares de la submucosa.

Si la muestra es del duodeno puede observarse atrofia muscular focal o ausencia con aumento del número de nervios, granulomas serosos y pérdida focal del plexo de Auerbach con fibrosis.

A nivel del estómago e intestino delgado, la depleción del ADNmt, y la proliferación de estas mitocondrias mutantes, generan una atrofia de músculo liso que se observan en las capas externas de la muscular propia de estos órganos ⁴⁵.

- Genético:

Se puede detectar tejido a través de Southern blot y PCR con delección y duplicación detectada en ADN mitocondrial por cuantificación del ADNmt relativo al ADN nuclear. La variación de simple nucleótido del ADNmt detectado en sangre o tejido, donde muestra la mutación genética responsable en estos casos, que es en el gen TYMP ^{45, 46}.

La enfermedad de inicio tardío ocurre en individuos que albergan variantes patógenas de TYMP que produce una disfunción menos severa de Timidina Fosforilasa.

- Otros estudios:

EMG: La neuropatía periférica es desmielinizante en la mayoría de los casos con disminución en la velocidad de conducción de nervios motores y sensitivos, Ondas F, latencia prolongada y en ocasiones se puede ver bloqueo de conducción parcial ^{44, 45, 46}.

5. Síndrome Medular Pancreático de Pearson

El síndrome medular pancreático de Pearson afecta los primeros años de vida.

- **Clínica:**

Valores anormales en el hemograma como anemia sideroblástica, neutropenia, trombocitopenia, vacuolización de precursores hematopoyéticos, aciduria 3-metilglutacónicas, y una disfunción en páncreas exocrino. Otras manifestaciones clínicas pueden ser acidosis láctica, falla en el crecimiento, DM insulina dependiente, disfunción hepática, disfunción tubular renal y discapacidad neurológica y muscular ⁴⁷.

Como se describe, la enfermedad es caracterizada por presentar pancitopenia e insuficiencia pancreática exocrina ⁴⁸.

- **Laboratorio:**

Hemograma, frotis y médula ósea: se destaca la presencia de anemia (refractaria a transfusión), neutropenia y trombocitopenia. A nivel medular se puede observar sideroblastos anillados que son normoblastos con depósitos de hierro en las mitocondrias ⁴⁹.

Tinción Sudán en heces: Estas detecta excreción excesiva de grasa en heces "esteatorrea".

Estudio ácidos orgánicos en orina: Presencia de 3 MGA-uria (Aciduria 3 metilglutacónica)

- **Histopatología**

Biopsia muscular: Disminución en la actividad enzimática de los complejos que pueden presentar distintos defectos en los complejos de la cadena respiratoria ⁴⁹

- **Genético:**

La delección de ADNmt en estos casos son más abundantes a nivel sanguíneo que en otros tejidos. Es más confiable cuando se realiza en el ADN leucocitario por Southern blot. Este síndrome pertenece junto a Kearns Sayre y PEO (oftalmoplejia externa progresiva), a una delección esporádica simple del ADNmt ⁵⁰.

6. Mutación en los genes POLG

De los distintos ADN polimerasa ⁵¹ que habitan dentro de las células existe una holoenzima conocida como POLG gamma que es esencial para la reparación y replicación del ADN mitocondrial ⁵², las mutaciones en los genes POLG pueden generar más de 150 enfermedades lo que aumenta aún más la complejidad de las enfermedades mitocondriales.

- **Clínica:**

Las mutaciones y polimorfismos de los genes que codifican estas proteínas encargadas para la replicación del ADN mitocondrial pone de manifiesto diversos fenotipos⁵³ como miocerebrohepatopatía (MCHS), que se presenta en los primeros meses de vida hasta los 3 años, se caracteriza por Miopatía o hipotonía, retardo en el crecimiento, demencia y disfunción hepática..

Otro es el síndrome de Alpers ⁵⁴, que puede presentarse entre los 2 y 4 años, es una degeneración hepatocerebral, en donde la triada clínica representada por convulsiones de tipo mixto que incluye un componente focal, regresión psicomotriz e infecciones recurrentes también pueden presentar hepatopatía con falla hepática aguda.

A estas dos primeros, se le suma las enfermedades de espectro neuropatía atáxica (ANS) ⁵⁵, ataxia neuropatía con o sin debilidad muscular, que pueden incluir el síndrome de ataxia mitocondrial recesiva, ataxia espinocerebelosa y epilepsia. Y la epilepsia mioclónica con miopatía sensorial atáxica (MEMSA), en donde las primeras manifestaciones se observan en el adulto joven como una polineuropatía sensorial, este trastorno es una superposición del espectro miopático, epilepsia y ataxia sin oftalmoplejia con o sin fibras rojas rasgadas.

Con menor frecuencia se describen otros dos síndromes más asociados a estos genes, como lo son la oftalmoplejia externa progresiva autosómica recesiva (arPEO) y la oftalmoplejia progresiva autosómica dominante (adPEO) característico en edad adulto ⁵⁶.

- Imagenología:

RM cerebral: Esta puede ser normal en un principio, o en un tipo de fenotipo en particular y los cambios se pueden observar en un periodo relativamente corto de tiempo.

- Histopatológicos:

Biopsia muscular: En estos casos puede ser normal

- Bioquímico- funcional:

Los estudios enzimáticos no son suficientemente sensitivos o específicos para el diagnóstico de POLG, por lo que no deben utilizarse para eliminar sospecha de enfermedad mitocondrial.

- Genético:

Secuenciación de exones: Dentro de estas la variante patogénica más común es el p.Ala467Thr que se encuentra en casi la mitad de los individuos afectados. Las otras variantes asociadas a estudios europeos son p.Trp748Ser y p.Gly848Ser⁵⁶.

Para establecer el diagnóstico se requiere identificar 2 variables patológicas de POLG (bialélico) para cada uno de los fenotipos.

La correlación genotipo fenotipo en estos casos no es posible por las combinaciones patológicas que varían según el tipo de localización de la mutación que están asociadas con el espectro fenotípico y su herencia autosómica recesiva y dominante ⁵⁶.

- Otros estudios:

ECG: Múltiples enfermedades mitocondriales tienen manifestaciones cardiacas

Entendiendo lo complejo de la descripción de estos síndromes y su búsqueda paraclínica se intenta esquematizar los conceptos previamente descritos en la tabla 2.

Síndrome	Edad de presentación	Manifestaciones clínicas	Paraclínica	Mutación
MELAS	2-5 años	<ul style="list-style-type: none"> - Stroke-like <40 años. - Encefalopatía con convulsiones parciales con déficit focal. - Acidosis láctica - Otras manifestaciones menos frecuentes: demencia, cefalea recurrente, vómitos, intolerancia al ejercicio o debilidad en extremidades proximales. 	<ul style="list-style-type: none"> - Gasometría arterial - TC y/o RNM (hipercaptación con predominio parietooccipital) - 	ADN mit de transferencia 3243 -MT-TL1 -MT-NDS
MERRF	Infancia, adultos	<ul style="list-style-type: none"> - Ataxia - Hipoacusia - Oftalmoplejia - Demencia - Retardo en el crecimiento - mioclonia sensible al estímulo - lipomas en línea media o paramedia - convulsiones, epilepsia - Acidosis láctica y aumento del lactato en el LCR 	<ul style="list-style-type: none"> - Gasometría arterial - Punción lumbar - TC o RNM: atrofia cerebral y cerebelar. - Biopsia muscular con tinción de tricromo de Gomori modificado: se ve fibras rojas rasgadas - 	En ADN mit de transferencia, sustituye una adenina por una guanina -MLTK
Síndrome de Leigh	1-3 años	<ul style="list-style-type: none"> - Regresión del desarrollo psicomotor. - Hipotonía - Espasticidad muscular - Corea - Ataxia cerebelosa - Neuropatía periférica - Miocardiopatía hipertrófica 		MT-ATP6 Ligada al X PDH1
MNGIE	Jóvenes	<ul style="list-style-type: none"> - Dolor abdominal - Reflujo gastro-esofágico - Dismotilidad gastrointestinal que genera megacolon - Disfagia - Vómitos nocturnos - Neuropatía periférica - Debilidad simétrica y distal de MMII - 	<ul style="list-style-type: none"> - Ecografía abdominal - Endoscopia digestiva superior - Biopsia muscular con tinción de tricromo de Gomori modificado: se ve fibras rojas rasgadas - Electromiografía - Electroneurografía 	TYMP
Síndrome de Pearson		<ul style="list-style-type: none"> - Anemia sideroblástica - Neutropenia - Prombopenia - Disfunción de páncreas endócrino - Acidosis láctica - Falta de crecimiento - DM insulinodependiente - Disfunción hepática - Disfunción tubular renal - Discapacidad neurológica y muscular 	<ul style="list-style-type: none"> - Hemograma - Glicemia - Hemoglobina glicosilada - Gasometría arterial - Funcional y enzimograma hepático - Función renal - Electromiograma - Biopsia muscular 	ADN leucocitario
MCHS (hasta los 3 años)		<ul style="list-style-type: none"> - Miopatía - Hipotonía - Retardo en el crecimiento - Demencia - Disfunción hepática 	<ul style="list-style-type: none"> - Biopsia muscular - Electromiograma - Funcional hepático - TC o RNM 	Mutación en examen POLG
Síndrome de Alpers (entre 2-4 años)		<ul style="list-style-type: none"> - Convulsiones - Regresión psicomotriz - Infecciones recurrentes - Falla hepática aguda 	<ul style="list-style-type: none"> - Electroencefalograma - TC o RNM 	Mutación en examen POLG
ANS		<ul style="list-style-type: none"> - Ataxia, neuropatía - Debilidad muscular - Epilepsia - Ataxia espinocerebelosa - Ataxia mitocondrial recesiva 	<ul style="list-style-type: none"> - TC o RNM - Electroencefalograma - Biopsia muscular - 	Mutación en examen POLG
MEMSA		<ul style="list-style-type: none"> - Polineuropatía sensorial - Epilepsia - Ataxia - 		Mutación en examen POLG

Tabla 2: Resumen de las características de los síndromes asociados a las EM. Destacando la edad de presentación, manifestación clínica, paraclínica y genes involucrados.

Presentación clínica no asociada a síndromes:

Si bien los síndromes pueden servir como guía diagnóstico de enfermedades mitocondriales el tema es aún más complejo, dentro de estas enfermedades se pueden encontrar defectos aislados de la cadena respiratoria que se presentan en edades más tempranas y de una forma más agresiva como encefalomiopatía, con o sin alteraciones imagenológicas, como insuficiencia hepática, renal o miocardiopatías. Puede verse solas o más bien vinculadas con alteraciones en más de un sector de la economía. También se pueden presentar como formas indolentes, más que nada en personas adultas. Clínicamente se pueden manifestar como ataxia progresiva, miopatías e intolerancia al ejercicio físico. Se debe tener en cuenta que se puede estar frente a una enfermedad mitocondrial en aquellos casos que se presentan como ataxias crónicas en los cuales no se puede establecer una clara etiología ¹⁹.

Siempre que existan signos o síntomas que afectan diversos órganos con particular atención en aquellos con alto consumo energéticos, como SNC, músculo esquelético, corazón, como también situaciones en las que se compruebe una disminución en el crecimiento y/o en el desarrollo, como podría ser, retroceso psicomotriz, nos debe hacer pensar en el mundo de enfermedades mitocondriales ¹⁹.

Generalmente los pacientes presentan heteroplasmia en la mutaciones del ADN mit y tienen una mezcla en la proporción entre mitocondrias mutadas y las de tipo salvaje, en estos casos las manifestaciones clínicas resultan ser más amplias y severas ⁴⁸. Existen distintos umbrales según el porcentaje de mitocondrias mutadas antes de que comiencen aparecer las manifestaciones bioquímicas que depende en cierta forma de cada individuo, el órgano afectado y el tipo de mutación. Las distintas manifestaciones clínicas podrían ser causa de una mutación determinada y el porcentaje de mitocondrias mutadas (heteroplasmia) que puede presentar un órgano, en el cual se deberían realizar pruebas específicas para cada órgano ⁵⁷.

Diagnóstico en Uruguay

Basado en la bibliografía internacional recabada previamente, se propone trasladar a la realidad de Uruguay los seis pilares diagnósticos previamente descritos.

Estos pacientes suelen ser captados por especialistas, Pediatras y Neuropediatras en la franja etaria utilizada en este trabajo, a través de su juicio clínico y resultados de la paraclínica inicial. Los estudios de cuantificación de metabolitos en sangre, orina y líquido cefalorraquídeo, es posible realizarlos en laboratorios convencionales, disponibles a nivel público y privado. Del mismo modo está disponible en varios centros a todo nivel en nuestro país la tecnología para realizar estudios de imagen (tomografía y resonancia magnética).

Los estudios moleculares son canalizados por el Banco de Previsión Social (BPS) a un

laboratorio de genética a nivel nacional. En estos laboratorios se procede a realizar los estudios, y cuando esto no es posible, los mismos se solicitan en el exterior.

A nivel nacional se cuenta con laboratorios de investigación genética como el Instituto Pasteur de Montevideo, donde se pueden realizar estudios NGS de secuenciación del ADN mitocondrial. Los estudios WES para la secuenciación del exoma o genoma del ADN nuclear se encuentran solo disponibles a nivel privado por el momento.

Otro laboratorio es el Centro de Investigaciones Biomédicas (CEINBIO), donde en la plataforma de estudio del Metabolismo y Bioenergética Mitocondrial se pueden realizar los ensayos funcionales ⁵⁷.

En la Policlínica de Errores Innatos del Metabolismo (EIM) de la Unidad de Diagnóstico y Tratamiento de CRENADECER se centralizan gran parte de los pacientes, allí se realiza diagnóstico, tratamiento y seguimiento de estos.

Los pacientes con diagnósticos confirmados son registrados en una base de datos del BPS, pero el acceso debe ser oficial y autorizado, lo cual en cierto grado puede estar colaborando de manera indirecta al desconocimiento de estas enfermedades.

A través de la búsqueda de bibliografía internacional e información recabada de entrevistas realizadas a especialistas en Uruguay (ver Anexo 1), surge la realización de un algoritmo (Figura 4) con directrices nacionales para el diagnóstico de estas enfermedades.

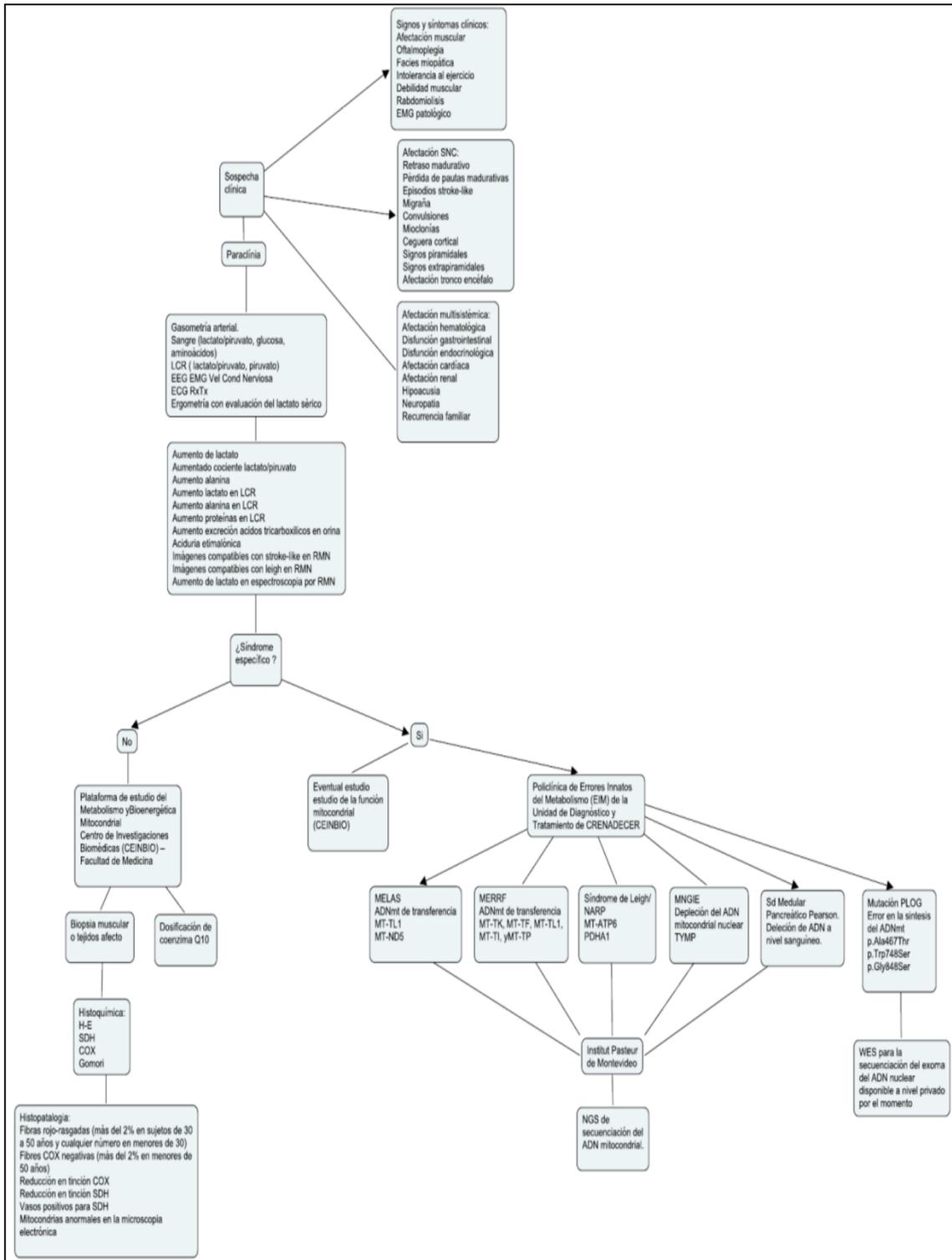


Figura 4: Directrices nacionales para el diagnóstico de enfermedades mitocondriales.

En este algoritmo se contemplan los seis pilares diagnósticos y los centros de referencia en investigación de estas patologías en el Uruguay.

Conclusión:

A lo largo del presente trabajo se realizó una revisión bibliográfica sobre la disfunción mitocondrial primaria, profundizando en la sintomatología heterogénea propia de estas enfermedades raras, que requieren de un estudio sistematizado, capaz de integrar ciertos pilares fundamentales para su diagnóstico. Encontrando oportuno la necesidad de transmitir una guía orientadora, que combina los hallazgos clínicos, de laboratorio, imagen, histopatológicos, bioquímicos funcionales y genéticos.

Según los expertos, los clínicos piensan cada vez más en la posibilidad de este diagnóstico, aunque siguen siendo enfermedades sub diagnosticadas, encontrándose dificultades en los diferentes pilares descritos, siendo frecuente la falta de sospecha clínica.

La confirmación de estas enfermedades somete al paciente y al profesional a cargo, a un largo camino. Encontrar el laboratorio adecuado, que las muestras sean extraídas en las mejores condiciones, y la conjunción de un equipo multidisciplinario que pueda entender el alcance de los resultados, y asegurar un seguimiento y tratamiento al paciente es un trabajo que requiere el aporte de varias disciplinas.

Esta revisión intenta poner al día la información de estas enfermedades poco frecuentes, en cuanto a la clínica, paraclínica, y diagnóstico, visualizando los recursos con los que contamos en nuestro medio para articular el desafío diagnóstico.

Consideramos que en nuestro país actualmente se cuenta con todos los actores necesarios para un buen abordaje de las EM, necesitando de un ensamblaje de todas las partes involucradas, esperando que la propuesta de la figura 4 pueda contribuir en un futuro a generar diagnósticos más efectivos, rentables y precoces.

Agradecimientos:

Queremos agradecer a nuestros coordinadores, Dra. Adriana Cassina; Dra. Marianela Rodríguez. A los diferentes especialistas: Dr. Masner, Alejandro, Dr. Silvera, Fernando, Dra. Pérez, Bettina, Dra. Guezaimburu, Rosario, Dra. Lemes, Aida, Dr. Raggio, Víctor por brindar información sobre enfermedades mitocondriales y su diagnóstico a nivel nacional.

Referencias:

- 1) Kaplan W, Wirtz VJ, Mantel-Teeuwisse A, Stolk P, Duthey B, L. R. (2013). Priority Medicines for Europe and the World 2013 Update. Ginebra. Retrieved from http://www.who.int/medicines/areas/priority_medicines/MasterDocJune28_FINAL_Web.pdf?ua=1

- 2) Schaefer, A. M., Taylor, R. W., Turnbull, D. M., & Chinnery, P. F. (2004). The epidemiology of mitochondrial disorders—past, present and future. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*, 1659(2–3), 115–120. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2004.09.005>
- 3) Chinnery PF. Mitochondrial Disorders Overview. 2000 Jun 8 [Updated 2014 Aug 14]. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, et al., editors. GeneReviews® [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2017
- 4) Dimauro, S. (2011). A history of mitochondrial diseases. *Journal of Inherited Metabolic Disease*, 34(2), 261–276. <https://doi.org/10.1007/s10545-010-9082-x>
- 5) Luft, R., Ikkos, D., Palmieri, G., Ernster, L., & Afzelius, B. (1962, September). A CASE OF SEVERE HYPERMETABOLISM OF NONTHYROID ORIGIN WITH A DEFECT IN THE MAINTENANCE OF MITOCHONDRIAL RESPIRATORY CONTROL: A CORRELATED CLINICAL, BIOCHEMICAL, AND MORPHOLOGICAL STUDY. *Journal of Clinical Investigation*.
- 6) Blass, J. P., Avigan, J., & Uhlendorf, B. W. (1970, March). A defect in pyruvate decarboxylase in a child with an intermittent movement disorder. *Journal of Clinical Investigation*.
John P. Blass, Joel Avigan, B. William Uhlendorf "A Defect in pyruvate decarboxylase in a child with an intermittent movement disorder"
Published March 1, 1970
Citation Information: *J Clin Invest*. 1970;49(3):423-432. doi:10.1172/JCI106251.
- 7) DiMauro, S., Bonilla, E., Zeviani, M., Nakagawa, M., & DeVivo, D. C. (1985). Mitochondrial myopathies. *Annals of Neurology*, 17(6), 521–538. <https://doi.org/10.1002/ana.410170602>
- 8) Holt, I. J., Harding, A. E., & Morgan-Hughes, J. A. (1988). Deletions of muscle mitochondrial DNA in patients with mitochondrial myopathies. *Nature*, 331(6158), 717–719. <https://doi.org/10.1038/331717a0>
- 9) Mitochondrial Diseases: A Clinical and Molecular History. (2016). *Pediatric Neurology*, 63, 3–5. <https://doi.org/10.1016/J.PEDIATRNEUROL.2016.05.014>
- 10) Picard, M., Wallace, D. C., & Burrelle, Y. (2016). The rise of mitochondria in medicine. *Mitochondrion*, 30, 105–116. <https://doi.org/10.1016/j.mito.2016.07.003>
- 11) Carvalho, C., Correia, S. C., Cardoso, S., Placido, A. I., Candeias, E., Duarte, A. I., & Moreira, P. I. (2015). The role of mitochondrial disturbances in Alzheimer, Parkinson and Huntington diseases. *Expert Review of Neurotherapeutics*, 15(8), 867–884. <https://doi.org/10.1586/14737175.2015.1058160>

- 12) Pastor, L. O., Flores Chavez, P., & Martinez Rosas, M. (2014). Las mitocondrias como blanco terapéutico. *Revista Mexicana de Anestesiología*, 37(4), 283–296. Retrieved from <http://www.medigraphic.com/pdfs/rma/cma-2014/cma144i.pdf>
- 13) Rodríguez-Violante M, Cervantes-Arriaga A, Vargas-Cañas S, C. T. (2010). Papel de la función mitocondrial en las enfermedades neurodegenerativas. *Archivos de Neurociencia*, 15(1), 39–46. Retrieved from <http://new.medigraphic.com/cgi-bin/resumen.cgi?IDARTICULO=26442>
- 14) Nelson, D. L., Lehninger, A. L., Cox, M. M., & Cuchillo Foix, C. M. (2014). *Lehninger principios de bioquímica* (6a ed.). Barcelona: Omega.
- 15) Suárez-Rivero, J., Villanueva-Paz, M., de la Cruz-Ojeda, P., de la Mata, M., Cotán, D., Oropesa-Ávila, M., ... Sánchez-Alcázar, J. (2016). Mitochondrial Dynamics in Mitochondrial Diseases. *Diseases*, 5(1), 1. <https://doi.org/10.3390/diseases5010001>
- 16) Niyazov, D. M., Kahler, S. G., & Frye, R. E. (2016). Primary Mitochondrial Disease and Secondary Mitochondrial Dysfunction: Importance of Distinction for Diagnosis and Treatment. *Molecular Syndromology*, 7(3), 122–137. Retrieved from <http://www.karger.com/DOI/10.1159/000446586>
- 17) The expanding clinical spectrum of mitochondrial diseases. (1993). *Brain and Development*, 15(1), 1–22. [https://doi.org/10.1016/0387-7604\(93\)90002-P](https://doi.org/10.1016/0387-7604(93)90002-P)
- 18) Scaglia, F. (2012). Nuclear gene defects in mitochondrial disorders. *Methods in Molecular Biology* (Clifton, N.J.), 837, 17–34. https://doi.org/10.1007/978-1-61779-504-6_2
- 19) Graham, B. H. (2012). Diagnostic Challenges of Mitochondrial Disorders: Complexities of Two Genomes. In L.-J. C. Wong Ph.D. (Ed.), *Mitochondrial Disorders: Biochemical and Molecular Analysis* (pp. 35–46). Totowa, NJ: Humana Press. https://doi.org/10.1007/978-1-61779-504-6_3
- 20) Rosales, J., Medina, N., Martínez, N., Rodríguez-Quiroga, S., Córdoba, M., Vazquez-Dusefante, C., ... González-Morón, D. (2017). Diagnosis of mitochondrial diseases: Utility of a clinical-molecular approach systemized incorporating high performance sequencing. *Neurologia Argentina*. <https://doi.org/10.1016/j.neuarg.2017.07.001>
- 21) Narbona García, J., & Casas Fernandez, J. (2008). Protocolos de Neurología. In *Protocolos de la AEP* (2nd ed., p. 108). Santiago de Compostela. <http://www.aeped.es/sites/default/files/documentos/15-enfmitocon.pdf>
- 22) Dai, Y., Zheng, K., Clark, J., Swerdlow, R. H., Pulst, S. M., Sutton, J. P., ... Simon, D. K. (2014). Rapamycin drives selection against a pathogenic heteroplasmic mitochondrial DNA mutation. *Human Molecular Genetics*, 23(3), 637–647. Retrieved from <http://dx.doi.org/10.1093/hmg/ddt450>

- 23) Koenig, M. K. (2008). Presentation and diagnosis of mitochondrial disorders in children. *Pediatric Neurology*, 38(5), 305–13. <https://doi.org/10.1016/j.pediatrneurol.2007.12.001>
- 24) Finsterer, J. (2006). Central nervous system manifestations of mitochondrial disorders. *Acta Neurologica Scandinavica*, 114(4), 217–238. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0404.2006.00671.x>
- 25) Gropman, A. L. (2013). Neuroimaging in Mitochondrial Disorders. *Neurotherapeutics*, 10(2), 273–285. <https://doi.org/10.1007/s13311-012-0161-6>
- 26) Kyriacou, K., Mikellidou, C., Hadjianastasiou, A., Middleton, L., Panousopoulos, A., & Kyriakides, T. (1999). Ultrastructural diagnosis of mitochondrial encephalomyopathies revisited. *Ultrastructural Pathology*, 23(3), 163–170.
- 27) Pfeffer, G., & Chinnery, P. F. (2013). Diagnosis and treatment of mitochondrial myopathies. *Annals of Medicine*, 45(1), 4–16. <https://doi.org/10.3109/07853890.2011.605389>
- 28) Behjati, S., & Tarpey, P. S. (2013). What is next generation sequencing? *Archives of Disease in Childhood. Education and Practice Edition*, 98(6), 236–8. <https://doi.org/10.1136/archdischild-2013-304340>
- 29) Carroll, C. J., Brilhante, V., & Suomalainen, A. (2014). Next-generation sequencing for mitochondrial disorders. *British Journal of Pharmacology*, 171(8), 1837–1853. <https://doi.org/10.1111/bph.12469>
- 30) Yatsuga, S., Povalko, N., Nishioka, J., Katayama, K., Kakimoto, N., Matsuishi, T., ... Koga, Y. (2012). MELAS: A nationwide prospective cohort study of 96 patients in Japan. *Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects*, 1820(5), 619–624. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2011.03.015>
- 31) Kauffman, M. A. (2013). Tres preguntas y una respuesta: algoritmo diagnóstico molecular en enfermedades mitocondriales. *Neurología Argentina*, 5(1), 19–26. <https://doi.org/10.1016/j.neuarg.2012.10.002>
- 32) El-Hattab, A. W., Adesina, A. M., Jones, J., & Scaglia, F. (2015). MELAS syndrome: Clinical manifestations, pathogenesis, and treatment options. *Molecular Genetics and Metabolism*, 116(1–2), 4–12. <https://doi.org/10.1016/j.ymgme.2015.06.004>
- 33) Pauli, W., Zarzycki, A., Krzysztalowski, A., & Walecka, A. (2013). CT and MRI imaging of the brain in MELAS syndrome. *Polish Journal of Radiology*, 78(3), 61–65. <https://doi.org/10.12659/PJR.884010>
- 34) DiMauro S, Hirano M. MELAS. 2001 Feb 27 [Updated 2013 Nov 21]. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, et al., editors. *GeneReviews®* [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2017.
- 35) DiMauro, S., & Davidzon, G. (2005). Mitochondrial DNA and disease. *Annals of Medicine*, 37(3), 222–232. <https://doi.org/10.1080/07853890510007368>

- 36) Pérez Hidalgo, M. E., Boue Avila, A., Boue Avila, A., Martínez Cañete, M., & Cruz Lage, L. (2015). Actualización sobre el tema de enfermedades mitocondriales. *Correo Científico Médico*. scielocu. Retrieved from http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1560-43812015000300009&lng=es&tlng=es
- 37) Finsterer, J., & Zarrouk-Mahjoub, S. (2017). Management of epilepsy in MERRF syndrome. *Seizure*, 50, 166–170. <https://doi.org/10.1016/j.seizure.2017.06.010>
- 38) Lorenzoni, P. J., Scola, R. H., Kay, C. S. K., Arndt, R. C., Silvado, C. E., & Werneck, L. C. (2011). MERRF: Clinical features, muscle biopsy and molecular genetics in Brazilian patients. *Mitochondrion*, 11(3), 528–532. <https://doi.org/10.1016/j.mito.2011.01.003>
- 39) DiMauro S, Hirano M. MERRF. 2003 Jun 3 [Updated 2015 Jan 29]. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, et al., editors. *GeneReviews®* [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2017.
- 40) Kara, B., Arıkan, M., Maras, H., Abacı, N., Cakiris, A., & Ustek, D. (2012). Whole mitochondrial genome analysis of a family with NARP/MILS caused by m.8993T>C mutation in the MT-ATP6 gene. *Molecular Genetics and Metabolism*, 107(3), 389–393. <https://doi.org/10.1016/j.ymgme.2012.06.013>
- 41) Chourasia, N., Adejumo, R. B., Patel, R. P., & Koenig, M. K. (2017). Involvement of Cerebellum in Leigh Syndrome: Case Report and Review of the Literature. *Pediatric Neurology*, 74, 97–99. <https://doi.org/10.1016/j.pediatrneurol.2017.05.008>
- 42) Thorburn DR, Rahman J, Rahman S. Mitochondrial DNA-Associated Leigh Syndrome and NARP. 2003 Oct 30 [Updated 2017 Sep 28]. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, et al., editors. *GeneReviews®* [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2017.
- 43) Finsterer, J., & Frank, M. (2017). Gastrointestinal manifestations of mitochondrial disorders: a systematic review. *Therapeutic Advances in Gastroenterology*, 10(1), 142–154. <https://doi.org/10.1177/1756283X16666806>
- 44) Kuwaiti, N. Al. (2016). Mitochondrial Neuro-Gastrointestinal Encephalopathy (MNGIE), Index of Suspicion. (A. A.-A. and A. Al Shibli, Ed.), *Journal of Clinical Case Reports*. OMICS International., <https://doi.org/10.4172/2165-7920.1000746>
- 45) Hirano M. Mitochondrial Neurogastrointestinal Encephalopathy Disease. 2005 Apr 22 [Updated 2016 Jan 14]. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, et al., editors. *GeneReviews®* [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2017.
- 46) Danjou, M., Guardia, D., Geoffroy, P.-A., Seguy, D., & Cottencin, O. (2016). [Mitochondrial Neuro-Gastro-Intestinal Encephalopathy (MNGIE): When and how to suspect it in front of an atypical anorexia nervosa?]. *L'Encephale*, 42(6), 574–579. <https://doi.org/10.1016/j.encep.2016.05.002>

- 47) Sato, T., Muroya, K., Hanakawa, J., Iwano, R., Asakura, Y., Tanaka, Y., ... Adachi, M. (2015). Clinical manifestations and enzymatic activities of mitochondrial respiratory chain complexes in Pearson marrow-pancreas syndrome with 3-methylglutaconic aciduria: a case report and literature review. *European Journal of Pediatrics*, 174(12), 1593–1602. <https://doi.org/10.1007/s00431-015-2576-7>
- 48) Donadieu, J., Fenneteau, O., Beaupain, B., Mahlaoui, N., & Chantelot, C. B. (2011). Congenital neutropenia: diagnosis, molecular bases and patient management. *Orphanet Journal of Rare Diseases*, 6(1), 26. <https://doi.org/10.1186/1750-1172-6-26>
- 49) DiMauro S, Hirano M. Mitochondrial DNA Deletion Syndromes. 2003 Dec 17 [Updated 2011 May 3]. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, et al., editors. GeneReviews® [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2017.
- 50) Mancuso, M., Orsucci, D., Angelini, C., Bertini, E., Carelli, V., Comi, G. Pietro, ... Siciliano, G. (2015). Redefining phenotypes associated with mitochondrial DNA single deletion. *Journal of Neurology*, 262(5), 1301–1309. <https://doi.org/10.1007/s00415-015-7710-y>
- 51) Lodi, T., Dallabona, C., Nolli, C., Goffrini, P., Donnini, C., & Baruffini, E. (2015). DNA polymerase gamma and disease: what we have learned from yeast. *Frontiers in Genetics*, 6, 106. <https://doi.org/10.3389/fgene.2015.00106>
- 52) Young, M. J., & Copeland, W. C. (2016). Human mitochondrial DNA replication machinery and disease. *Current Opinion in Genetics & Development*, 38, 52–62. <https://doi.org/10.1016/j.gde.2016.03.005>
- 53) Lodi, T., Dallabona, C., Nolli, C., Goffrini, P., Donnini, C., & Baruffini, E. (2015). DNA polymerase gamma and disease: what we have learned from yeast. *Frontiers in Genetics*, 6, 106. <https://doi.org/10.3389/fgene.2015.00106>
- 54) Lamperti, C., & Zeviani, M. (2016). Myoclonus epilepsy in mitochondrial disorders. *Epileptic Disorders : International Epilepsy Journal with Videotape*, 18(S2), 94–102. <https://doi.org/10.1684/epd.2016.0846>
- 55) Berardo, A. (2011). El espectro clínico de las mutaciones en POLG. *Neurologia Argentina*, 3(2), 106–112. [https://doi.org/10.1016/S1853-0028\(11\)70023-4](https://doi.org/10.1016/S1853-0028(11)70023-4)
- 56) Cohen BH, Chinnery PF, Copeland WC. POLG-Related Disorders. 2010 Mar 16 [Updated 2014 Dec 18]. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, et al., editors. GeneReviews® [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2017.
- 57) Wallace, D. C., & Chalkia, D. (2013). Mitochondrial DNA genetics and the heteroplasmy conundrum in evolution and disease. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 5(11), a021220. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a021220>

Anexos

Anexo 1:

Se realizaron una serie de entrevistas a pediatras y neonatólogos, con más de 3 años de experiencia en la especialidad en el ámbito público y privado de nuestro país. Las preguntas se elaboraron en base a conceptos generales de las EM, con el objetivo de valorar el conocimiento, manejo habitual y posibilidades diagnósticas y terapéuticas disponibles, en la práctica habitual en nuestro medio.

Preguntas:

- 1) ¿Qué noción tiene sobre las EM?
- 2) ¿Qué aspectos clínicos y paraclínicos lo harían sospechar en una EM?
- 3) En caso de sospechar que un pte tiene una EM:
 - A) ¿Qué paraclínica solicitaría para confirmar u orientar el diagnóstico?
 - B) ¿Conoce algún centro de referencia en el país?
 - C) ¿Para continuar con el estudio del pte, como procedería? ¿Lo referiría a algún centro para su mejor estudio?
 - D) ¿Considera que se podría llegar al diagnóstico en el país?
- 4) ¿En alguna ocasión se enfrentó a un pte con una EM?

- Primera entrevista

Ámbito Privado

- 1) La noción que tengo es vaga, pero básicamente es que son en general enfermedades poco comunes y difíciles de diagnosticar. Que están presentes desde las primeras etapas del ser humano y que involucran el ciclo a nivel de la mitocondria.
- 2) Básicamente no se la respuesta a esa pregunta. Si me topara con una enfermedad mitocondrial no sabría diagnosticarla.
- 3) A) Tampoco sabría que estudio pedir. Supongo que como son alteraciones a nivel del ADN mitocondrial que provienen de la madre, supongo que se manifestaron con afección de elementos básicos. Por lo que solicitaría una gasometría donde podría haber una anaerobiosis.
- 3) B) No, lo único que intentaría es el equipo de enfermedades raras de BPS que se encarga de enfermedades de estirpe raro. Seguramente debe haber un laboratorio especializado.
- 3) C) Lo desconozco.

3) D) Realmente no lo sé.

4) Desconozco, si alguna vez tuve algún paciente con esta afección. Nunca me han hablado otros colegas de estas.

- Segunda entrevista

Ámbito Privado

1) Una enfermedad de difícil diagnóstico, en la cual no se piensa como alternativa diagnóstica principal y con pronóstico ominoso.

2) Pienso que se presentaría en un recién nacido hipotónico, convulsiones precoces sin causa evidente, deterioro neurológico evolutivo. En la paraclínica pienso que encontraría lactoacidosis de causa no explicada, progresiva o rápidamente evolutiva.

3) A) No sé con exactitud, dependo de un especialista para solicitar exámenes de manera precisa.

3) B) No conozco.

3) C) Sin duda lo referiría a un centro especializado.

3) D) No lo tengo claro, no sé si contamos en el país con la paraclínica necesaria, aunque es posible que si.

4) No.

- Tercera entrevista

Ámbito público.

1) Pienso que es una enfermedad grave, definida por errores congénitos del metabolismo severo y devastador

2) Se presentaría con retraso global del desarrollo severo, encefalopatía, retraso mental, epilepsia, viseromegalias, fallo de crecimiento, dismorfias.

3) A) Gasometría, ácidos orgánicos, amoniemia, ácido láctico, pesquisa ampliada, glucemia con cetonemia, fondo de ojo e insulina.

3) B) La Dra. Lemes en el Hospital Italiano.

3) C) Si claro, a genetista y equipo multidisciplinario de enfermedades raras de BPS.

3) D) No en todas.

4) Si.

- Cuarta entrevista

Ámbito privado.

- 1) Las metabolopatías siempre son un diagnóstico que se debe sospechar en pacientes recién nacidos o pacientes pediátricos con valores anormales de acidosis severas y lactacidemias refractarias a las cargas de bicarbonato.
- 2) Hipotonía, convulsiones, coma, ictericia, hepatomegalia, hipoglucemia, facies particulares de metabolopatía en casos de acidosis severas. Pueden presentar signos de acidosis como polipnea.

Paraclínica: Una vez comprobada la acidosis con Radiometer, luego se observa cómo se encuentra el lactato, el Anión GAP. Amoniemia, para trastornos en el ciclo de la Urea. Se ve cuerpo-reductores, cetonemia en estos casos se busca hipoglucemia. Ácidos orgánicos en orina y en sangre, pesquisa ampliada, ácido úrico.

- 3) B) Una de las personas referente en metabolopatías, Aida Lemes
- 3) C) Una vez realizado el contacto con Aida Lemes ella realiza un seguimiento junto al pediatra tratante. Es quien orienta el tratamiento y el seguimiento.
- 3) D) Sí, considero que se puede llegar a un diagnóstico en Uruguay, hubo un paciente que tuvimos que mandar una muestra a Francia.
- 4) Si, un paciente pediátrico que falleció en el Hospital Italiano.

Entrevistas a referentes de EM

- 1) ¿Cuánto hace que en el centro se estudian y diagnostican o colaboran en el Dg de las EM?
- 2) Aproximadamente, ¿cuántas EM se diagnostican en un año en el centro? ¿Cuál es la de más frecuente diagnóstico?
- 3) ¿Considera que es un grupo de enfermedades infra-diagnosticadas?
- 4) ¿Qué estudios específicos se realizan en el centro?
- 5) ¿Que EM se podrían diagnosticar, o hasta que estudios podemos acceder acá en el país?
- 6) ¿Considera necesario realizar estudios en el exterior?, ¿cuáles y con qué centros de referencia trabajan?
- 7) ¿Los ptes con diagnóstico presuntivo de EM, les son referidos bien estudiados inicialmente? ¿Qué valoración considera que falta con mayor frecuencia?

- 8) ¿Qué opciones terapéuticas hay en el país?
- 9) ¿Considera que el pronóstico de estas enfermedades puede variar con un diagnóstico precoz?
- 10) ¿Cuál es el error diagnóstico más frecuente?
- 11) En su centro de referencia, ¿tienen un protocolo general para el estudio de estos pacientes?
- 12) ¿Existe una base de datos en el centro, a la cual se pueda tener acceso?

Entrevista a referente de EM Dr. Raggio, Víctor.

- 1) Esta policlínica bajo la órbita del dpto. de Genética existe desde 1990, como ver pacientes con EM vimos, pero que empezáramos a trabajar o publicar estudios específicos hace 4 o 5 años, sobre todo por invitación del Instituto Pasteur.
- 2) Nosotros acá somos una policlínica de Genética, en sí por diversos motivos, no nos dedicamos a las EM en sí, desconozco la cantidad de enfermedades mitocondriales diagnosticadas por año.
- 3) Son enfermedades pocos frecuentes, catalogadas como enfermedades raras, es verdad que para nosotros que somos una policlínica de genética podemos enfrentarnos a una mayor frecuencia, o eso se esperaría, aunque se nos derivan otras patologías generalmente, por eso no vemos tantas como deberíamos ver. También tenés los casos en que sospechas de una EM pero no lo puedes comprobar.
- 4) Se precisan 5 pilares, uno la clínica, que eso hay, neuropediatras, neurólogos, genetistas peditras, etc. Otro pilar sería los estudios imagenológicos y de laboratorio, que te permiten sospecharlo, como la RM, la RM con espectroscopia, dosificaciones de lactato en sangre y LCR. Tercer pilar, los estudios bioquímicos-funcionales, que se está empezando a hacer con la gente del CEINBIO (Centro de Investigación Biomédica) en el depto. de Bioquímica de la Facultad de Medicina. Otro pilar sería lo histopatológico, que se encarga la gente de anatomía patológica del Clínicas. El 5to pilar sería los estudios sobre el genoma, mitocondrial y nuclear. Esos serían las cosas necesarias para poder diagnósticas, y esas cosas en el Uruguay hay, no las hay juntas. Lo que sí falta, es una coordinación formal o sistemática entre ellas.
- 6) Hay muchos, en el primer mundo. Yo específicamente no he trabajado con ninguno de ellos.
- 9) En teoría, por lo menos sí. El pronóstico en general, es muy variable, aunque en las mayorías esperas un inicio precoz, una progresividad más o menos rápida y en casos más graves, un fallecimiento precoz.

Entrevista a referente de EM Dra. Lemes, Aida

1) La Policlínica de Errores Innatos del Metabolismo (EIM) de la Unidad de Diagnóstico Tratamiento de CRENADECER (Centro de Referencia Nacional en Defectos Congénitos y Enfermedades Raras) es donde realizamos las consultas clínicas, seguimiento de pacientes con afecciones de este capítulo de Genética Médica y por tanto de los pacientes con enfermedades mitocondriales. Si mal no recuerdo, funciona desde el año 2008.

2) No tengo una respuesta cierta con respecto a cuántas EM se diagnostican en un año. Posiblemente el fenotipo clínico-neuroradiológico más frecuente sea el Síndrome de Leigh.

3) Estimo que es posible que aún se estén diagnosticando menos de lo que sería esperable dada la frecuencia de este importante y complejo capítulo de EM.

Tengo la impresión, que cada vez, en la clínica pediátrica sobre todo, se piensa más en las EM.

4) Para el estudio de estas afecciones, el BPS cuenta con estudios de valoración general como gases en sangre y ácido láctico, CPK y como más específico el estudio de ácidos orgánicos en orina.

5) Bueno, serían dos preguntas. En cuanto a las EM que se pueden diagnosticar creo que el espectro es amplio, al menos la sospecha desde la clínica-bioquímica-neuroradiología.

Hasta donde conozco, en el país se puede hasta el estudio de ADN mitocondrial que se realiza en el Instituto Pasteur y donde el conocimiento/aporte del Dr. Raggio me parece que juega un papel importante. Lamentablemente, no se cuenta aún con estudios histopatológico e histoquímica de tejido muscular estriado fuera del ámbito del sistema de asistencia pública donde el trabajo y conocimiento de la Dra. Graciela Barrios (Neuropediatra) es un aporte fundamental.

6) Hay estudios que colaboran a la hora de evidenciar disfuncionamiento mitocondrial como son los estudios de actividad de los complejos de la CR en células o en cultivo de tejidos que no se realizan aún con fines asistenciales en nuestro país. Son relevantes junto con otros estudios en la interpretación de la posible causa de la EM y es muy complejo realizar derivación de muestras al exterior para los mismos. Los resultados son también de gran ayuda para direccionar estudios moleculares. Los estudios confirmatorios pasan por la vía de lo molecular tanto de ADN mitocondrial como nuclear. Como decía, actualmente puede accederse al estudio de ADN mitocondrial a nivel local lo cual es muy importante.

Por otro lado, a nivel local, hay laboratorios que ofrecen estudios moleculares los cuales serían derivados a centros en el exterior.

7) Estimo que en términos generales, son derivados con los estudios necesarios (realizables en nuestro medio) para una sospecha fundamentada, especialmente desde la especialidad de neuropediatria.

8) En la policlinica, en todos los casos, el tratamiento de soporte o sintomático. Además se cuenta con vitaminas y cofactores (cocktails de los grupos Americanos), idebenona, L-carnitina. En intento de mejorar la producción de energía, efecto antioxidante y depuración.

9) En general, cuanto más precoz es el inicio clínico de las EM, peor es el pronóstico. En la medida que avanza el conocimiento y se van identificando casos que tienen más probabilidad de respuesta a determinada medida, el pronóstico mejora con un diagnóstico preciso, más precoz. En todos los casos, el diagnóstico precoz importa porque puede realizarse antes, apoyó con fisioterapia y psicomotricidad dependiendo de cada situación.

Por otro lado y también en todos los casos, cuanto antes hay un diagnóstico preciso, antes se puede realizar adecuado asesoramiento genético a la familia, paso fundamental en las decisiones reproductivas de la pareja.

10) No lo sé.

11) Intentamos seguir protocolos establecidos en la bibliografía.

12) Llevamos registro de todos los pacientes que asistimos en la policlinica, no solo los que tienen EM.

Entrevista a referente de EM Dra. Guezaimburu, Rosario

1) Desde el 2010 que se creó el Equipo de Enfermedades Raras, inicialmente y luego con la creación del Equipo de Errores Innatos del Metabolismo.

2) Realmente desconozco este dato. Enfermedad de Leigh

3) Sin lugar a dudas.

4) Determinaciones bioquímicas como ácido láctico en sangre, etc. El estudio molecular se canaliza a través del BPS a un laboratorio de genética. Actualmente estudio de funcionalidad, en Facultad de Medicina pero no en forma rutinaria.

5) Realizados en nuestro país, secuenciación del ADN mitocondrial, la secuenciación del exoma o genoma, se ofrece en los laboratorios pero se realiza en el exterior, en algún caso con análisis por expertos nacionales.

6) Se solicita el estudio a los laboratorios nacionales y depende con quién se trabaja los mismos.

7) Analítica básica como ácido láctico.

8) El Equipo de Errores Innatos del Metabolismo es el encargado del tratamiento, el tratamiento disponible es el mismo que el recomendado a nivel internacional: Dieta, soporte con terapias

para tratar síntomas, soporte con vitaminas y cofactores, evitar toxinas. El tratamiento está dirigido a tratar los síntomas y evitar la progresión de las enfermedades y debe ser personalizado dependiendo del tipo y estadio de la enfermedad.

9) Totalmente, responderían mejor al tratamiento sintomático los pacientes menos afectados

10) Depende de la enfermedad mitocondrial y los síntomas que predominen, con compromiso motor y cognitivo se confunden con una parálisis cerebral.

11) En el Equipo de Enfermedades Raras, no, desconozco si hay uno en el Equipo de Errores Innatos del Metabolismo.

12) Se registran y confirman todos los pacientes, el acceso debe ser oficial y con autorización de las autoridades del BPS.