

**PANORÁMICA DE ACTUALIDAD SOBRE LAS ENFERMEDADES
MITOCONDRIALES**

Dra. Yolanda Campos
Centro de Investigación
Hospital 12 de Octubre de Madrid

INTRODUCCIÓN

Las encefalomiopatías mitocondriales constituyen un amplio grupo de enfermedades cuyo nexo de unión es una alteración en el paso final del metabolismo oxidativo, la cadena respiratoria mitocondrial (CR), con la consiguiente disminución de producción de energía.

Aunque existen síndromes clínicos perfectamente definidos, en muchas ocasiones el paciente presenta una asociación de síntomas y signos que pueden modificarse a lo largo de la evolución del proceso, por lo que el estudio de la enfermedad mitocondrial puede ser complejo. Durante casi tres décadas, el diagnóstico de una enfermedad mitocondrial se ha basado en datos clínicos, bioquímicos (acidosis láctica y, especialmente, la caracterización de déficits enzimáticos en la cadena respiratoria mitocondrial) y hallazgos histomorfológicos en biopsia de músculo. Hoy en día, la eclosión de las técnicas de biología molecular ha representado una vía muy importante a la hora de caracterizar estas patologías, de forma que actualmente existe una clasificación de estas enfermedades en función de sus alteraciones genéticas. En cualquier caso el diagnóstico final ha de realizarse conjugando varios factores: clínicos, bioquímicos, anatomopatológicos y genéticos. Según los resultados obtenidos podremos obtener un diagnóstico confirmatorio, probable, posible o descartar la enfermedad (1).

CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DE LAS MIOPATÍAS MITOCONDRIALES

Una de las características más singulares de las alteraciones del ADNmt es la heterogeneidad clínica, que va desde la afectación de un solo tejido u órgano hasta un fenotipo con afectación multisistémica. Una misma mutación puede dar lugar a cuadros clínicos diversos, mientras que distintas mutaciones puede tener la misma manifestación fenotípica.

Por otra parte, debido al carácter progresivo de estas patologías es posible encontrar pacientes que no han desarrollado, en un momento dado, un síndrome concreto. Además, dentro de una misma familia es posible la existencia de pacientes que cumplen todos los criterios clínicos requeridos para definir un síndrome, junto con otros que presentan algunas de las características del mismo (oligosintomáticos), e incluso otras, a primera vista, no directamente relacionadas.

Esta variabilidad en las manifestaciones clínicas puede ser debida a distintos factores, incluyendo el porcentaje de ADNmt mutado, los distintos umbrales de expresión fenotípica para una mutación dada y según el tejido afectado y la existencia de elementos moduladores, tanto nucleares como mitocondriales. Mientras que la proporción de ADNmt mutado es consecuencia de una segregación al azar de las mitocondrias durante la embriogénesis y en sucesivas divisiones celulares, el resto de factores está más determinado. Probablemente, esto puede explicar la alta proporción de pacientes con cuadros clínicos que afectan a tejidos con alta demanda energética (músculo y cerebro), pero también la existencia de pacientes, con mutaciones en el ADNmt, con otros fenotipos como sordera neurosensorial, cardiomiopatía y diabetes. La presencia de dos o más órganos o tejidos afectados debería servir como una señal de indicación de que se puede tratar de una enfermedad mitocondrial (tabla I y II).

Además de existir cuadros clínicos caracterizados por la afectación de un solo órgano o tejido (miocardio, musculatura esquelética, musculatura ocular, etc) existen una serie de síndromes perfectamente definidos:

Síndrome de Kearns-Sayre (KSS) engloba una tríada clínica característica formada por el trastorno oculomotor, la degeneración retiniana y una edad de comienzo anterior a los 20 años. Además, han de manifestar, al menos, uno de los siguientes síntomas: bloqueo cardiaco, síndrome cerebeloso o aumento de las proteínas en líquido cefalorraquídeo (>de 100 mg/dl). Otros rasgos clínicos frecuentes, pero inespecíficos, son: demencia, sordera neurosensorial, ataxia y alteraciones endocrinas. La biopsia muscular suele presentar FRR/COX negativas, en proporción variable. Se suele tratar de casos esporádicos, y en casi el 100% de los casos se detectan deleciones en el ADNmt.

Síndrome MERRF, en su máxima expresión clínica, se caracteriza por la presencia de epilepsia mioclónica, miopatía y ataxia cerebelosa, a la que se pueden añadir síntomas acompañantes. En general, se suelen ver FRR/COX negativas en la biopsia muscular. Es debido a mutaciones en el ADNmt, fundamentalmente la mutación A8344G.

Síndrome MELAS, se caracteriza por 1) episodios de accidentes cerebrovasculares agudos (“stroke-like”), normalmente en la corteza parieto-occipital, con evidencia neurorradiológica de alteraciones cerebrales; 2) acidosis láctica, FRR en músculo ó ambas; 3) al menos uno de los siguientes hallazgos clínicos: crisis focales o generalizadas, demencia, episodios recurrentes de cefaleas y vómitos. Es debido fundamentalmente a la mutación A3243G en el ADNmt.

Síndrome de Leigh es una encefalomiopatía infantil, de curso invariablemente fatal, que debuta generalmente en los primeros meses o años de vida. Los criterios seguidos para el diagnóstico son: 1) enfermedad neurológica que se manifiesta con retraso motor y/o intelectual; 2) signos o síntomas de afectación a nivel de tronco cerebral o ganglios basales; y 3) hallazgos característicos en el examen neuropatológico, o bien, si este no se ha realizado, lesiones simétricas bilaterales en los ganglios de la base, tronco y tálamo, a nivel neurorradiológico. Puede ser debido a mutaciones en el ADNmt (T8993G/C y T9176C) y a mutaciones en subunidades codificadas por el ADNn, correspondientes a distintos complejos y también de factores de ensamblaje.

Síndrome NARP (neuropatía, ataxia y retinitis pigmentaria). Se trata de un cuadro clínico de afectación multisistémica, con un patrón de herencia por vía materna, asociado a una mutación puntual en el gen *ATPasa 6* del ADNmt (T8993G). Este síndrome se describió en una familia que incluía distintos miembros con retraso en el desarrollo, retinitis, demencia, crisis, ataxia, debilidad proximal y neuropatía sensitiva. La biopsia no presentaba FRR.

Polidistrofia de Alpers es una encefalopatía infantil progresiva, caracterizada por una edad de comienzo temprana, un deterioro psicomotor rápido, crisis epilépticas con mioclonías refractarias al tratamiento, y al menos tres de los siguientes hallazgos: 1) trazado característico en el encefalograma; 2) microcefalia o atrofia cortical progresivas; 3) alteración de los potenciales evocados visuales; 4) signos de afectación hepática, con elevación de las enzimas hepáticas y/o cambios morfológicos en el hígado, como esteatosis, fibrosis o cirrosis; 5) hallazgos neuropatológicos característicos a nivel de cortex cerebral, como pérdida neuronal, espongirosis y astrocitosis. Un porcentaje importante de estos pacientes presentan depleción del ADNmt, con mutaciones en el gen que codifica la subunidad catalítica de la polimerasa gamma mitocondrial.

Neuropatía óptica de Leber (LOHN), es una enfermedad mitocondrial caracterizada por la pérdida aguda o subaguda de la visión, predominantemente en varones entre los 18 y 30 años. De forma característica, en el estudio oftalmoscópico, se detecta la presencia de microangiopatías telangiectásicas circumpapilares, acompañadas de pseudoedema del disco óptico. En ocasiones el examen clínico del paciente evidencia la existencia de hiperreflexia, ataxia cerebelar, neuropatía periférica o anomalías en la conducción cardíaca. En algunas familias con LHON la atrofia óptica se asocia a distonía generalizada progresiva y degeneración estriatal. A nivel morfológico, la

biopsia de estos pacientes no suele presentar alteraciones. EL 90% de los casos suelen presentar una de las tres mutaciones primarias del ADNmt descritas (G11778A, G3460A, T14484C), pertenecientes a distintas subunidades del complejo I.

Síndrome de Pearson es una grave enfermedad multisistémica, que se manifiesta con una anemia siderobástica y/o pancitopenia, asociada a una disfunción pancreática exocrina. Además, suelen desarrollar fallo hepático progresivo, atrofia de las vellosidades intestinales, diabetes mellitus y disfunción tubular renal. Estas manifestaciones clínicas son expresión de los altos porcentajes de ADNmt deletado en esos tejidos, sobre todo en aquellos con un alto índice de recambio. Los niños que sobreviven los primeros años suelen desarrollar, más tarde, el síndrome de Kearns-Sayre.

Síndrome mio-neuro-gastrointestinal (MNGIE) combina una encefalopatía con leucodistrofia, acidosis láctica, oftalmoplejía progresiva, miopatía proximal con FRR y neuropatía periférica, junto con alteraciones gastrointestinales (diarrea crónica asociada con cuadros de pseudobstrucción intestinal). Es una enfermedad autosómica recesiva debida a mutaciones en el gen que codifica la timidina fosforilasa.

Existen otros cuadros clínicos característicos cuya manifestación fundamental es la sordera neurosensorial, en algunos casos asociada a una sensibilidad patológica a ciertos aminoglucósidos y en otros casos asociada a diabetes. En ambos casos se trata de alteraciones primarias del ADNmt. A nivel morfológico en el primer caso la biopsia no presenta cambios mientras que en el segundo se suelen encontrar signos de proliferación mitocondrial.

HALLAZGOS RADIOLÓGICOS Y DE LABORATORIO MAS CARACTERÍSTICOS (Tabla I)

Radiológicos	Calcificación de los ganglios de la base
	Necrosis estriatal bilateral
	Hipoplasia cerebelosa
	Infartos cerebrales y cerebelares
	Leucoencefalopatía
Laboratorio	Aumento de proteínas en el líquido cefalorraquídeo
	Aumento CPK
	Acidosis láctica
	Mioglobinuria

HALLAZGOS CLINICOS (Tabla II)

Afectación neuromuscular	Distonía Hipotonía Miopatía en la etapa adulta Mialgias Neuropatía Paraparesia espástica Debilidad, fatiga Intolerancia al ejercicio
Afectación del Sistema Nervioso Central	Ataxia Demencia Depresión y psicosis Migraña Mioclonías Parkinsonismo Retraso mental Epilepsia Sordera neurosensorial Ictus
Afectación ocular	Cataratas Oftalmoplejia externa Ptosis parpebral Neuropatía óptica Retinopatía
Afectación cardiaca	Miocardopatía Alteraciones en la conducción
Afectación hematológica	Anemia aplásica Anemia sideroblástica
Afectación endocrina	Insuficiencia adrenal Diabetes mellitus Hipoparatiroidismo Hipotiroidismo Alteración ovárica Retraso en el crecimiento y estatura baja
Afectación cutanea	Acrocianosis Hipertricosis Alteraciones pigmentarias
Afectación renal	Síndrome de Bartter Síndrome de Fanconi Glomerulopatía
Afectación gastrointestinal	Vómitos cíclicos Hepatopatía Dismotilidad intestinal Insuficiencia pancreática exocrina
Afectación neoplásica	Paraganglioma hereditario Lipomatosis simétrica múltiple

CARACTERÍSTICAS BIOQUÍMICAS

Una de las funciones primordiales de la mitocondria (orgánulo citoplasmático que posee su propia dotación genética, el ADN mitocondrial) es la producción de energía a partir de la oxidación aeróbica de sustratos. El proceso oxidativo final tiene lugar en la CR, encargada de transformar los potenciales de oxido-reducción generados en energía, mediante el acoplamiento a la fosforilación oxidativa (figura 1).

La glucólisis y el ciclo del ácido cítrico generan de por sí una cantidad relativamente baja de energía en forma de ATP. Sin embargo, seis pasos de deshidrogenación (uno en la glucólisis, otro en la reacción de la piruvato deshidrogenasa y cuatro más en el ciclo de Krebs) reducen, en total, 10 moles de NAD^+ a NADH y dos moles de FAD a FADH_2 , por mol de glucosa. La reoxidación de estos equivalentes reductores genera la mayor parte de la energía necesaria para la síntesis de ATP. La reoxidación del NADH y FADH_2 es un proceso en el que se producen reacciones acopladas de oxidación-reducción, con el paso de electrones a través de los complejos enzimáticos de la CR, integrados en la membrana interna mitocondrial. La CR esta formada por cinco complejos enzimáticos y dos moléculas, el coenzima Q_{10} (CoQ_{10}) y el citocromo c, que actúan a modo de nexo de unión o lanzadera. El complejo I (NADH-CoQ oxidoreductasa) transporta los equivalentes reductores desde el NADH al “pool” de CoQ_{10} . Está formado por, al menos, 43 polipéptidos, siete de los cuales están codificados por el ADNmt. El complejo II (succinato- CoQ oxidoreductasa) reoxida el FADH_2 y transporta los electrones al coenzima Q_{10} . Está formado por dos subunidades de la succinato deshidrogenasa (SDHA , SDHB) y otras dos que actúan en su anclaje a la membrana (subunidades C y D), todas ellas codificadas por el ADNn. El complejo III (ubiquinol-citocromo c oxidoreductasa) transporta los electrones desde el CoQ_{10} al citocromo c. Contiene 11 subunidades, una de las cuales, el citocromo b, está codificado por el ADNmt. El complejo IV (citocromo c oxidasa) cataliza la transferencia de electrones desde el citocromo c al O_2 para producir agua. Está formado por 13 subunidades, tres de las cuales están codificadas por el ADNmt. La energía liberada en estos procesos se utiliza para bombear protones desde la matriz mitocondrial al espacio intermembrana (a través de los complejos I, III y IV), y el gradiente electroquímico generado es utilizado para la síntesis de ATP en el complejo V (ATP sintasa). Este complejo está formado por 16 subunidades, dos de las cuales son codificadas por el ADNmt. Además, para un perfecto rendimiento de la cadena

respiratoria mitocondrial es necesario un funcionamiento adecuado de otras tres enzimas: dihidroorotato-CoQ oxidoreductasa , flavoproteína transportadora de electrones-CoQ oxidoreductasa y el translocador de nucleótidos de adenina 1 (ANT1), encargado de exportar al exterior el ATP sintetizado, a la vez que introduce en la matriz ADP.

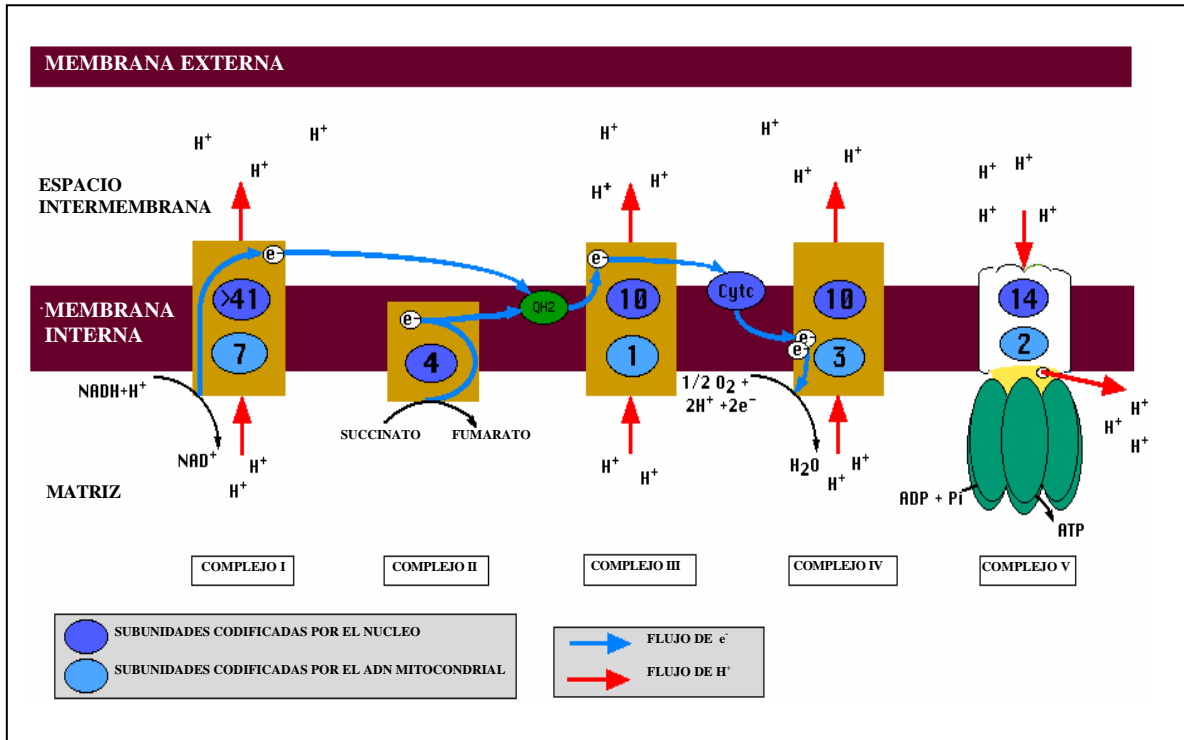


Figura 1. Esquema de la cadena respiratoria mitocondrial, mostrándose las subunidades de cada complejo codificadas por el núcleo y por el ADN mitocondrial, así como el flujo de electrones y protones.

Aunque no existe un conocimiento total acerca de la estructura y función de la cadena respiratoria, cualquier déficit enzimático que afecte a la misma, independientemente de su localización, afectará marcadamente al metabolismo celular. Una consecuencia directa será la limitación en la cantidad de ATP intracelular, aunque también se producirán otro tipo de efectos metabólicos. Entre ellos, una marcada alteración del metabolismo de los carbohidratos y de la β -oxidación. Como consecuencia de ello será posible encontrar un incremento de las ratios lactato/piruvato y β -OH butirato/acetoacetato, con la elevación secundaria en plasma de los niveles de lactato, detectada frecuentemente en estos pacientes.

La valoración, mediante procedimientos bioquímicos, de la CR se realiza habitualmente en músculo esquelético, tejido postmitótico no sometido a una selección

clonal negativa, por lo que suelen evidenciar de forma más clara los déficits enzimáticos. A ello se une la ventaja de poder comparar y relacionar los datos con los estudios histoenzimáticos. Sin embargo, la utilización de alternativas menos invasivas, como el uso de fibroblastos o linfocitos, puede ser útil para el diagnóstico de casos pediátricos, por la limitación que se produce en muchos de estos pacientes en la obtención de muestras de músculo esquelético. No obstante, estos últimos métodos pueden no reflejar la patología, si la alteración no se expresa a nivel de estos tejidos con alto índice de recambio.

Los déficits enzimáticos de la cadena respiratoria pueden ser únicos (afectan a un solo complejo) o combinados. En ambos casos el origen de la alteración genética puede encontrarse en el ADNn o en el ADNmt. Puesto que en la mayoría de los casos las mutaciones del ADNmt son heteroplásmicas, en ocasiones es difícil evaluar los déficits enzimáticos, pues estos se manifiestan de forma parcial, y en ocasiones son indetectables en algunos tejidos.

Los déficits aislados de los complejos I, III y IV pueden ser debidos a mutaciones en genes nucleares, especialmente si la historia familiar es compatible con un patrón de herencia autosómico recesivo. Estos déficits se manifiestan tanto en el caso de alteraciones de proteínas que forman parte de cualquiera de los complejos como en proteínas que intervienen en su ensamblaje. Sin embargo, también pueden ser debidos a mutaciones en genes del ADNmt codificantes de proteínas, tanto en pacientes sin historia familiar como en pacientes con evidencias de herencia materna. El déficit de complejo II es bastante infrecuente, y el patrón de herencia es siempre mendeliano.

Los déficits combinados de los complejos I, III y IV (todos ellos con alguna subunidad codificada por el ADN mitocondrial) se asocian, frecuentemente, a alteraciones de la síntesis proteica mitocondrial y se relacionan, en la mayoría de los casos, con alteraciones del ADNmt. Puede tener un origen primario (mutaciones en los ARNt, ARNr y deleciones únicas del ADNmt) o secundario, por alteraciones en genes nucleares que regulan la comunicación intergenómica (deleciones múltiples y depleción del ADNmt) o que intervienen en la regulación de la traducción proteica mitocondrial.

Las alteraciones en genes nucleares que intervienen en el sistema de translocación de proteínas sintetizadas en el citoplasma e importadas a la mitocondria constituyen un caso especial en su expresión bioquímica. Las consecuencias, en este caso, podrían ser un déficit enzimático único o una multienzimopatía, según si la proteína alterada interviene en la translocación de una sola subunidad o de varias.

El déficit primario de CoQ₁₀ fue descrito por primera vez en dos hermanas con un cuadro progresivo de fatigabilidad y debilidad proximal, encefalopatía y mioglobinuria (3). La biopsia muscular presentaba FRR y un exceso de lípidos. El estudio bioquímico mostró una actividad enzimática normal de los complejos I, II, III y IV, mientras que estaba reducida la actividad combinada de los complejos I+III y II+III. Posteriormente se ha descrito en otros cuadros clínicos de encefalomiopatía sin mioglobinuria (4) y en un fenotipo con características de síndrome de Leigh de inicio en la etapa adulta (5). Independientemente de la causa genética de este déficit primario es importante su identificación rápida, tanto a través de dichas actividades enzimáticas como valorando los niveles de CoQ₁₀, pues el tratamiento con dicho fármaco puede mejorar sustancialmente el cuadro clínico.

CARACTERÍSTICAS HISTOLÓGICAS DE LAS MIOPATÍAS MITOCONDRIALES

Un hallazgo frecuente en las miopatías mitocondriales es la presencia de una proliferación anormal de mitocondrias en la biopsia muscular. Esta proliferación se manifiesta como fibras rojo rasgadas (FRR), denominación que se debe al aspecto que adquieren cuando se tiñen con el tricrómico de Gómori modificado. Aunque durante mucho tiempo la presencia de FRR se ha considerado un marcador inequívoco de una encefalomiopatía mitocondrial, este concepto, hoy en día es inapropiado, al menos, por dos razones: 1) la presencia de fibras rojo rotas, y más frecuentemente la presencia de cambios ultraestructurales en las mitocondrias, se puede observar en otras patologías no mitocondriales, como las distrofias musculares, polimiositis, dermatomiositis e incluso en biopsias de pacientes ancianos; 2) existen enfermedades mitocondriales en las que no se detecta la presencia de FRR en ningún caso, tal como ocurre en la atrofia óptica de Leber (LHON) y en los pacientes con síndrome de Leigh con mutaciones puntuales en el gen *ATPasa 6*. Otros marcadores importantes utilizados para el diagnóstico es la valoración histoquímica de la succinato deshidrogenasa (SDH) y de la citocromo c oxidasa, específicos de dos de los complejos de la CR. A nivel ultraestructural es frecuente observar alteraciones en el tamaño y forma de las mitocondrias, alteraciones en la distribución de las crestas mitocondriales y en ocasiones inclusiones paracristalinas.

CARACTERÍSTICAS GENÉTICAS

Las enfermedades mitocondriales no son raras en su conjunto, estimándose que afectan, al menos, a 1 de cada 8500 individuos (7). Esta incidencia es superior para el caso de algunas mutaciones del ADNmt, como la transición A3243G, de la que son portadores 1/6134 personas en el norte de Finlandia (8).

Como hemos visto, la cadena respiratoria está formada por cuatro complejos enzimáticos (I, II, III y IV) acoplados al complejo V, donde tiene lugar la fosforilación oxidativa. Todos los complejos, excepto el II, poseen subunidades codificadas por el ADNmt y el ADNn. Por tanto, una miopatía mitocondrial puede ser debida a la alteración de genes que vienen codificados por cualquiera de estos dos genomas.

MUTACIONES EN EL ADN MITOCONDRIAL

El ADNmt es una molécula circular, de doble cadena, con 16,6 Kb (figura 2). Contiene 13 genes que codifican proteínas que forman parte de los complejos de la CR: siete del complejo I (subunidades ND1, ND2, ND3, ND4, ND4L, ND5 y ND6); el citocromo b del complejo III; las subunidades I, II y III del complejo IV y dos del complejo V, las ATPasas 6 y 8. Además contiene los ARNs necesarios para la síntesis proteica intramitocondrial (ARNr 12S y 16S, y 22 ARNt).

Esta molécula se caracteriza por contener una información muy compacta. Carece de intrones y prácticamente de secuencias no transcritas e, incluso, algunos de sus genes están solapados (los que codifican las subunidades ND4 y ND4L, subunidades 6 y 8 de la ATPasa). Existe una pequeña región no codificante (aproximadamente 1 Kb), conocida como D-Loop o lazo de desplazamiento, donde se encuentran secuencias reguladoras y los promotores implicados en la transcripción de

las dos cadenas. La replicación del ADNmt transcurre de forma asincrónica y asimétrica, aunque existe controversia sobre este aspecto (9). El código genético utilizado durante la traducción de proteínas intramitocondrial no es el universal. Así UGA codifica el aminoácido triptófano en lugar de terminación; AUA indica metionina en lugar de isoleucina ; AGA y AGG especifican terminación en lugar de arginina.

Por otra parte, el ADN mitocondrial posee una tasa de mutación muy elevada. Así las mutaciones por sustitución de nucleótidos se fijan de 6 a 17 veces más rápido que en el ADNn. Es por ello que, a pesar de los pocos genes que son codificados por el ADNmt, éste puede ser responsable de tantos cuadros clínicos asociados a mutaciones en el mismo.

La genética del ADNmt tiene una serie de características que difieren significativamente del ADNn. El genoma mitocondrial es **heredado por vía materna**, y parece que, salvo excepciones, el de origen paterno no contribuye significativamente en la herencia (10). Cada mitocondria contiene de 2 a 10 copias de ADNmt. Cada célula contiene cientos de mitocondrias, por lo que existirán miles de copias de ADNmt y de los genes que codifica (**poliplasmia**). Durante la mitosis, las mitocondrias segregan al azar a las células hijas, fenómeno que se conoce con el nombre de **segregación mitótica**. Por tanto a partir de un cigoto, portador de ADNmt normal y mutado, en sucesivas divisiones es posible obtener tres tipos de poblaciones celulares: 1) células que solo contienen ADNmt mutado (**homoplasmia mutante**); 2) células que sólo contienen ADNmt normal (**homoplasmia normal**); 3) células portadoras de ambos tipos de ADNmt (**heteroplasmia**). Según este hecho, en un paciente que hereda una mutación en el ADNmt la proporción de moléculas mutadas puede variar de un tejido a otro. Se denomina **umbral de expresión fenotípica** el porcentaje mínimo de ADNmt mutado necesario para que se exprese la patología. Este umbral es diferente para cada

tejido, siendo menor para aquellos con mayor requerimiento energético (cerebro, músculo esquelético y cardíaco). Además, el porcentaje de mutación puede ir cambiando a lo largo de la vida del paciente, haciendo que la expresión de la enfermedad se produzca en cualquier momento de la misma y afectando sucesivamente a distintos órganos y tejidos. Ello también, en parte, es responsable de la distinta expresión clínica que presentan distintos pacientes con la misma alteración genética. Incluso, en el caso de tejidos con alto índice de recambio, como el hemático, una mutación puede llegar a desaparecer debido a un fenómeno de selección clonal negativa.

Las alteraciones más frecuentes en el ADNmt son de dos tipos: 1) Deleciones únicas, con o sin duplicaciones de la molécula; 2) Mutaciones puntuales, tanto en genes que codifican los ARNmt como proteínas. (Tabla III).

Deleciones únicas. Fueron descritas por primera vez en 1988 (11). Desde entonces se han publicado numerosos pacientes. En todos ellos se puede ver que estas deleciones, que consisten en la pérdida de un fragmento de la molécula, se presentan siempre en heteroplasmia. El porcentaje de ADNmt delecionado varía de unos pacientes a otros, e incluso en el mismo paciente, de unos tejidos a otros. EL grado de heteroplasmia, además, suele aumentar con el tiempo de evolución, sobre todo en tejidos postmitóticos. En tejidos de alto índice de recambio, como el hemático, tiende a desaparecer, por selección clonal negativa. No existe una correlación entre los tamaños o porcentajes de ADNmt delecionado y la severidad del cuadro clínico. Los fenotipos donde se detectan mayoritariamente son: el síndrome de Kearns-Sayre, el síndrome de Pearson y las miopatías oculares (Ptosis y/o CPEO). En los dos primeros cuadros es el hallazgo común en cerca del 90% de los casos, y asociado a la presencia de FRR en casi

el mismo porcentaje. En el caso de las miopatías oculares se asocia a más del 50% de los casos, cuando presentan FRR en su biopsia muscular.

Las deleciones únicas se suelen detectar en pacientes esporádicos, por lo que se piensa que el evento mutacional puede tener lugar en el oocito materno o durante la embriogénesis temprana. Parece que no existe riesgo de recurrencia cuando la madre no presenta el cuadro clínico, pero si esta sufre la enfermedad ese riesgo puede elevarse al 4,11% (12).

Mutaciones puntuales en los ARNt. Existen publicadas cerca de 100 mutaciones puntuales, potencialmente patogénicas, en los ARNt mitocondriales (13). Al contrario que en el caso de las deleciones, usualmente son heredadas por vía materna. Estas mutaciones, que se dan en heteroplasmia, suelen manifestarse fenotípicamente cuando se alcanza un 80-90% de ADNmt mutado. El grado de afectación entre distintos individuos con la misma mutación dependerá del porcentaje de ADNmt mutado en cada tejido y probablemente de otros factores nucleares que hoy en día se desconocen (14).

Lo más característico de estas mutaciones es que una misma alteración puede dar lugar a distintos cuadros clínicos y un mismo fenotipo puede ser debido a distintas mutaciones, en distintos genes. En general, estos pacientes presentan FRR en la biopsia muscular.

De todas las mutaciones encontradas se han descrito numerosas familias en dos casos: A3243G del ARNt^{Leu(UUR)} y A8344G del ARNt^{Lys}, mientras que del resto se han detectado generalmente en casos aislados o en pocas familias.

El ARNt^{Leu(UUR)} constituye el gen mitocondrial donde se han descrito más mutaciones puntuales causantes de patología en humanos. La primera mutación encontrada en el mismo fue una transición A-G en la posición 3243 del ADNmt (15). Estudios posteriores con grandes series han confirmado que esta mutación es la más

frecuentemente asociada al síndrome MELAS, siendo responsable en nuestra experiencia de más del 80% de pacientes con este fenotipo y FRR. Es posible detectar la mutación en los individuos oligosintomáticos y en gran parte de los familiares asintomáticos, existiendo una correlación entre el porcentaje de ADNmt mutado y la severidad del cuadro clínico. Esta mutación, que sin duda es la más frecuente en el ADNmt, se encuentra también asociada a otros cuadros clínicos como miocardiopatía, intolerancia al ejercicio, síndromes superpuestos MERRF-MELAS, encefalopatías infantiles con rasgos clínicos de síndrome de Leigh, CPEO, de forma característica a cuadros familiares de transmisión materna de diabetes y sordera neurosensorial e incluso hasta el 1% de pacientes con diabetes mellitus no dependiente de insulina.

Existen en este gen otras mutaciones asociadas al síndrome MELAS, como la transición T3271C. Además se han descrito otro grupo de mutaciones en este gen asociadas a cuadros miopáticos, a miocardiopatías, CPEO, etc (13).

En el año 1990 se identificó una transición A-G, en un nucleótido altamente conservado del ARNt^{Lys} en la posición 8344, asociada al síndrome MERRF(16). Como sucede en la mutación A3243G del ARNt^{Leu(UUR)}, esta mutación se encuentra también asociada a otros fenotipos clínicos (CPEO, miopatía, etc.) y sobre todo lipomatosis simétrica múltiple. El análisis de miembros de una familia a lo largo de 4 generaciones ha permitido observar esta variabilidad de fenotipos clínicos y la correlación del porcentaje de ADNmt mutado en sangre y la severidad del fenotipo.

Otras mutaciones en el ARNt^{Lys} asociadas a familias con el síndrome MERRF son, por ejemplo las transiciones T8356C y G8363A. Existen, como en el gen anterior, mutaciones relacionadas con otros cuadros clínicos, de presentación aislada o familiar.

En cada uno de los ARNt restantes, se ha descrito alguna mutación en un paciente aislado o en algunas familias (13).

En el ARNr 12S se han descrito varias familias con la mutación A1555G, responsable de un fenotipo clínico que cursa con sordera neurosensorial no sindrómica sensible a aminoglucósidos (17).

Mutaciones puntuales en genes mitocondriales que codifican proteínas. Se han descrito numerosas mutaciones en genes del ADNmt que codifican proteínas, que se manifiestan a nivel bioquímico por un defecto aislado del complejo al cual pertenece la proteína alterada. Las más frecuentemente encontradas son las asociadas a los síndromes NARP/Leigh de transmisión materna, en el gen *ATPasa 6*, y a la atrofia óptica de Leber, en diversos genes ND del complejo I. En el gen *ATPasa 6* las mutaciones más importantes son: T8993G (18), característica del síndrome NARP; T8993C (19) en pacientes con síndrome de Leigh y la asociada al síndrome de Leigh y necrosis estriatal bilateral T9176C (20, 21).

La mayoría de los pacientes con atrofia óptica de Leber son portadores de una de las siguientes mutaciones primarias (22): G11778A en el gen *ND4*, que se da en aproximadamente el 69% de los pacientes; G3460A en el gen *ND1*, detectada en el 13% de los pacientes y T14484C en el gen *ND6*, en el 14% de los pacientes. El gen *ND6* parece ser un punto de referencia para la búsqueda de mutaciones asociadas a la atrofia óptica de Leber en el caso de descartarse las tres mutaciones primarias.

Se han identificado mutaciones en cada uno de los genes mitocondriales de la COX (13). La primera de asociada a un cuadro de mioglobinuria recurrente desencadenada por el ejercicio prolongado o infecciones. Otras se han descrito en pacientes con encefalopatía, acidosis láctica, miopatía proximal e intolerancia al ejercicio. El estudio morfológico del músculo mostró una disminución de la actividad COX en el 90% de las fibras y el estudio bioquímico evidenció un defecto severo de la actividad del complejo IV. Existen otras descritas en pacientes con MELAS, y en un

paciente con paraplegia espástica progresiva y signos en común con el síndrome de Leigh. En la subunidad COXII se ha descrito, por ejemplo, una mutación en una familia en la que el fenotipo más leve incluía una miopatía progresiva en la edad adulta y el más grave había desarrollado, además, marcha atáxica, atrofia óptica y retinopatía pigmentaria. Ejemplos de cuadros clínicos en el gen *COXI* son: anemia sideroblástica idiopática, encefalomiopatía etc.

Se han descrito varios pacientes con mutaciones en el *citocromo b* (13) asociadas a cuadros clínicos esporádicos de intolerancia severa al ejercicio de edad de comienzo variable, todos ellos con un defecto enzimático aislado del complejo III. Estas mutaciones, heteroplásmicas y tejido específicas, estaban localizadas alrededor del sitio de unión de la ubiquinona al citocromo b.

MUTACIONES EN GENES NUCLEARES

El ADNn contiene, al menos, 70 genes codificantes de subunidades de dichos complejos, además de una multitud de genes implicados en la regulación de la expresión del ADNmt (comunicación intergenómica), en el ensamblaje de dichos complejos, maduración de proteínas sintetizadas en el citoplasma, implicadas en la internalización a la mitocondria, en su recambio, etc. Cualquier mutación en dichos genes se transmitirá mediante un patrón de herencia mendeliano. (Tablas IV y V).

Mutaciones en genes que codifican subunidades que forman parte de distintos complejos de la CR. El déficit aislado de complejo I es uno de los hallazgos más frecuentes en pacientes con miopatías mitocondriales. Aunque en algunos casos puede ser debido a mutaciones en el ADNmt, la mayoría de los casos, sobre todo pediátrico y sin antecedentes familiares, son debidos a mutaciones en genes nucleares.

Actualmente ya se conocen mutaciones en varios de estos (*NDUFS1*, *NDUFS2*, *NDUFS4*, *NDUFS7*, *NDUFS8*, *NDUFVI*), asociados fundamentalmente al síndrome de Leigh o Leigh-like, miocardiopatía y encefalopatía y otros cuadros multisistémicos de herencia autosómica recesiva (23).

El déficit de complejo II es bastante infrecuente. Sin embargo, fue en su subunidad SDHA donde se describió por primera vez una mutación en un gen nuclear, asociada a pacientes con síndrome de Leigh (24) con patrón autosómico recesivo. También se ha comprobado que las mutaciones en las subunidades B, C y D son responsables de una parte de los paragangliomas autosómico dominantes, e incluso de una parte de las formas no familiares, incluidos los feocromocitomas (25).

También se ha descrito la primera mutación en un gen nuclear que codifica una subunidad del complejo III en un niño con episodios de hipoglucemia y acidosis láctica. Se trata de una deleción de 4 pb, en homocigosis, en el gen *UQCRB*, que codifica la subunidad QP-C (subunidad VII), asociada a déficit de complejo III en mitocondria aislada (26).

Mutaciones en genes implicados en el ensamblaje de complejos de la CR. Se han descrito mutaciones en genes que codifican proteínas con esta función pertenecientes a los complejos III, IV y V. En todos los casos el patrón de herencia es autosómico recesivo.

Mutaciones en el gen *BCSIL*, que codifica una proteína del mismo nombre, con actividad chaperona e implicada en el ensamblaje del complejo III, han sido descritas en pacientes pediátricos con tubulopatía proximal neonatal, afectación hepática y encefalopatía, cuadro conocido también como GRACILE (retraso en el crecimiento, aminoaciduria, colestasis, depósitos de hierro, acidosis láctica y muerte prematura) (27).

El déficit aislado de complejo IV es otra de los hallazgos mas frecuentes en pacientes con miopatías mitocondriales. No se han encontrado mutaciones en los genes nucleares que codifican proteínas del mismo, pero si en varios implicados en su ensamblaje. Las primeras en el gen *SURF1*, responsables de la mayoría de los síndromes de Leigh con déficit de este complejo (28). Otros genes que codifican proteínas implicadas en el ensamblaje son: 1) *SCO1* y *SCO2*, cuyas mutaciones han sido asociadas a cuadros de encefalopatía y hepatopatía en el primero (29) y encefalopatía y cardiomiopatía en el segundo (30). 2) Mutaciones en los genes *COX10* y *COX15* han sido asociadas a cuadros de leucoencefalopatía de inicio temprano (31) y miocardiopatía hipertrófica (32), respectivamente. 3) Mutaciones en el gen *LRPPRC* han sido asociadas a pacientes con síndrome de Leigh y déficit de COX (33). 4) Mutaciones en el gen *ETHE-1* se han detectado en pacientes con encefalopatía , aciduria etilmalónica y acidosis láctica, con déficit de actividad COX en músculo esquelético(34).

Por último, mutaciones en el gen *ATP12*, implicado en el ensamblaje del complejo V, se han detectado en un niño con acidosis láctica, rasgos dismórficos y encefalopatía progresiva (35).

Mutaciones en genes implicados en la comunicación intergenómica. Todas ellas presentan un patrón de herencia mendeliano y en algunos casos son causa de alteraciones cualitativas (deleciones múltiples) o cuantitativas (depleción) del ADNmt. En determinados pacientes, como los que sufren el síndrome MNGIE, ambas alteraciones pueden coexistir. Se ha demostrado que la causa genética de esta enfermedad es debida a mutaciones en el gen *TP*, con un patrón autosómico recesivo (36). Este gen codifica la proteína timidina fosforilasa, una proteína extramitocondrial implicada en la regulación del “pool” de nucleótidos. En pacientes con CPEO y patrón de herencia autosómico dominante se han descrito mutaciones, causantes de deleciones

múltiples del ADNmt, en tres genes: 1) *ANT1*, que codifica la isoforma muscular del traslocador de nucleótidos de adenina (37); 2) *C10orf2* (*Twinkle*), que codifica una helicasa mitocondrial (38); 3) y *POLG1*, codificante de la subunidad alfa de la polimerasa mitocondrial (39). Mutaciones en este último gen se han asociado también a deleciones múltiples en pacientes con CPEO y herencia autosómico recesiva (40), el síndrome SANDO (CPEO, neuropatía sensorial con ataxia y disartria), con encefalopatía y dismotilidad intestinal (41) y cuadros complejos con parkinsonismo (42).

La depleción de ADNmt se ha asociado tradicionalmente a dos presentaciones clínicas en la infancia: 1) una forma miopática, en ocasiones acompañada de tubulopatía, en la que se han descrito mutaciones en el gen que codifica la timidina kinasa 2 (*TK2*) (43); 2) forma encefalohepática, en la que se han detectado mutaciones en el gen que codifica la deoxiguanosina kinasa (*DGUOK*) (44). Ambas proteínas están relacionadas con el mantenimiento del pool de nucleótidos. El patrón de herencia, en los dos casos es autosómico recesivo. También han detectado mutaciones en *POLG1* en pacientes con síndrome de Alpers y depleción (45), aunque aún quedan una gran mayoría de pacientes con depleción en los que se desconoce la causa genética. Recientemente se ha descrito un nuevo gen *MPV17*, cuyas mutaciones dan lugar a depleción de ADNmt en pacientes con un cuadro hepatocerebral. La proteína codificada por este gen se encuentra ligada a la membrana interna mitocondrial (46).

Además, ya se conocen alteraciones en genes implicados en la comunicación intergenómica y que no dan lugar a deleciones múltiples o depleción. Uno de ellos es *EFG1*, que codifica una proteína que regula un factor de elongación de las proteínas sintetizadas en la mitocondria. Se ha asociado a un cuadro hepatocerebral con déficit de los complejos I, III, IV y V (47). En un neonato con dismorfia, hipotonía, edema,

afectación hepática y acidosis láctica se han detectado mutaciones en el gen *MRPS16*, que codifica la subunidad proteica ribosomal 16 (48). En pacientes con miopatía y anemia sideroblástica se han encontrado mutaciones, en homocigosis, en el gen que regula la pseudouridilación de los ARNt mitocondriales, *PUS1* (49).

Alteraciones en los componentes lipídicos de la membrana mitocondrial. El síndrome de Barth (miocardiopatía, retraso en el crecimiento, miopatía y episodios cíclicos de neutropenia) es debido a mutaciones en el gen *G4.5* (ligado al cromosoma X). Codifica una serie de proteínas denominadas tafazzinas, implicadas en la biosíntesis del fosfolípido cardiolipina, principal componente lipídico de las membranas mitocondriales (50).

Alteraciones en la fusión, fisión y movilidad mitocondrial. Las mitocondrias no son orgánulos estáticos, sino que se mueven a lo largo de redes microtubulares gracias a la acción de proteínas denominadas kinesinas. La primera alteración descrita en una de ellas se localiza en el gen *KIF5A*, en una familia con paraplegia espástica autosómico dominante (51). La atrofia óptica autosómico dominante es debida a mutaciones en el gen *OPA-1*, que codifica una dinamina implicada en el proceso de fusión mitocondrial (52). También la forma autosómica dominante del Charcot-Marie-Tooth tipo 2A es debida a mutaciones en una proteína implicada en el proceso de fusión mitocondrial, la mitofusina 2, en el gen *MNF2* (53).

Alteraciones en genes que codifican factores indirectamente relacionados con la CR. Este grupo incluye mutaciones en el gen *SPG7* que codifica la paraplegina (54); mutaciones en el gen *ABC7*, que es el responsable de la anemia sideroblástica con ataxia, ligado al cromosoma X (55); el gen que codifica la frataxina (*FRDA1*), responsable de la ataxia de Friedreich (56) y mutaciones en el gen *DDP1*, responsable del síndrome, ligado al cromosoma X, Mohr-Tranebjaerg (57).

Tabla III. Selección de algunas alteraciones primarias del ADN mitocondrial asociadas a distintos cuadros clínicos y patrón de herencia.

CUADRO CLÍNICO	ALTERACIÓN GENÉTICA	GEN	HERENCIA
KSS	Deleciones únicas/Duplicación		Esporádica
Síndrome de Pearson	Deleciones únicas/Duplicación		Esporádica
CPEO	Deleciones únicas/Duplicación		Esporádica
	A3243G	tRNA ^{Leu (UUR)}	Materna
	T4274C	tRNA ^{Ile}	Esporádica?
	T4285C	tRNA ^{Ile}	Materna
	G4309A	tRNA ^{Ile}	Materna
	A5692G	tRNA ^{Asn}	Materna
	C5703T	tRNA ^{Asn}	Materna
	T12311C	tRNA ^{Leu (CUN)}	Materna
	G12315A	tRNA ^{Leu (CUN)}	Esporádica
MELAS	G583A	tRNA ^{Phe}	Esporádica?
	G1642A	tRNA ^{Val}	Materna
	A3243G	tRNA ^{Leu (UUR)}	Materna
	A3252G	tRNA ^{Leu (UUR)}	Materna
	A3260G	tRNA ^{Leu (UUR)}	Materna
	T3271C	tRNA ^{Leu (UUR)}	Materna
	T3291C	tRNA ^{Leu (UUR)}	Materna
	A5814G	tRNA ^{Cys}	Materna
	T9957C	COX III	Materna
	G13513A	ND5	Materna
	T9957C	COX III	Materna
MERRF	T7512C	tRNA ^{Ser (UCN)}	Materna
	A8344G	tRNA ^{Lys}	Materna
	T8356C	tRNA ^{Lys}	Materna
	G8363A	tRNA ^{Lys}	Materna
Miopatía/Intolerancia al ejercicio	T618C	tRNA ^{Phe}	Materna
	T3250C	tRNA ^{Leu (UUR)}	Materna
	A3302G	tRNA ^{Leu (UUR)}	Materna
	T4409C	tRNA ^{Met}	Esporádica
	G5521A	tRNA ^{Trp}	Materna
	A12320G	tRNA ^{Leu(CUN)}	Esporádica
	C15990T	tRNA ^{Pro}	Materna
	Microdelección 15 pb	COX III	Esporádica
	G14486A	Citocromo b	Esporádica
	G15059A	Citocromo b	Esporádica
	G15084A	Citocromo b	Esporádica
	G15168A	Citocromo b	Esporádica
Miocardiopatía	A3260G	tRNA ^{Leu (UUR)}	Materna
	C3303T	tRNA ^{Leu (UUR)}	Materna
	A4300G	tRNA ^{Ile}	Materna
	C4320T	tRNA ^{Ile}	Materna
	G8363A	tRNA ^{Lys}	Materna
	T9997C	tRNA ^{Gly}	Materna
Síndrome de Leigh/ Necrosis estriatal bilateral	T8993G	ATPasa 6	Materna
	T8993C	ATPasa 6	Materna
	A9176C	ATPasa 6	Materna
	T8851C	ATPasa 6	Materna
	C1644A	tRNA ^{Val}	Materna
Atrofia óptica de Leber (LHON)	G3460A	ND1	Materna
	G11778A	ND 4	Materna
	T14484C	ND 6	Materna
LHON/Distonía	A11696G	ND4	Materna
	G14459A	ND 6	Materna
Encefalopatías	G1606A	TRNA ^{Val}	Materna
	3271-T	tRNA ^{Leu (UUR)}	Esporádica
	G6930A	COX I	Esporádica
	G9952A	COX III	Esporádica
	T14709C	tRNA ^{Glu}	Esporádica
Sordera no sindrómica	A1555G	12S rRNA	Materna
Sordera neurosensorial	T7445C	tRNA ^{Ser (UCN)}	Materna
	T7511C	tRNA ^{Ser (UCN)}	Materna

Tabla IV. Mutaciones en genes nucleares que dan lugar a alteraciones en la CR. (AD, autosómico dominante; AR, autosómico recesivo; E, esporádico).

TIPO DE ALTERACIÓN	FENOTIPO	GEN	HERENCIA
Mutaciones en genes nucleares codificantes de proteínas de los complejos I-V y déficits únicos de dichos complejos	S. de Leigh	<i>NDUFS1</i>	AR
	Encefalopatía y miocardiopatía	<i>NDUFS2</i>	AR
	Síndrome Leigh-like	<i>NDUFS4</i>	AR
	S. de Leigh	<i>NDUFS7</i>	AR
	S. de Leigh	<i>NDUFS8</i>	AR
	S. de Leigh, leucodistrofia	<i>NDUFV1</i>	AR
	S. de Leigh	<i>SDHA</i>	AR
	Feocromocitoma, paraganglioma	<i>SDHB</i>	AD, E
Mutaciones en genes nucleares implicados en el ensamblaje de los complejos de la cadena respiratoria	Paraganglioma hereditario	<i>SDHC</i> y <i>SD</i>	AR
	Hipoglucemia y acidosis láctica	<i>UQCRB</i>	AR
	S. de Leigh	<i>SURF1</i>	AR
	Hepatopatía y cetoacidosis	<i>SCO1</i>	AR
	Miocardiopatía infantil	<i>SCO2</i>	AR
	Leucodistrofia y tubulopatía	<i>COX10</i>	AR
	Miocardiopatía hipertrófica	<i>COX15</i>	AR
	Encefalopatía, tubulopatía, fallo hep.	<i>BCS1L</i>	AR
Mutaciones en genes nucleares implicados en la comunicación intergenómica	S. de Leigh	<i>LRPPRC</i>	AR
	Encefalopatía	<i>ATP12</i>	AR
	CPEO con deleciones múltiples en el ADNmt	<i>ANT1</i>	AD
	CPEO con deleciones múltiples	<i>POLG1</i>	AD, AR
	SANDO y deleciones múltiples		AR
	Encefalopatía, parkinsonismo y deleciones múltiples		AR
	S. de Alpers y depleción		AR
	MNGIE	<i>TP</i>	AR
	CPEO y deleciones múltiples	<i>C10orf2</i>	AD
	Hepatopatía infantil fatal y depleción del ADNmt	<i>DGUK</i>	AR
	Miopatía infantil fatal con o sin tubulopatía y depleción	<i>TK2</i>	AR
	Afectación hepatocerebral con depleción	<i>MPV17</i>	AR
	Cuadro hepatocerebral con déficit de los complejos I,III, IV y V	<i>EGF1</i>	AR
	Hipotonía, hepatopatía, acidosis láctica y déficit multienzimático	<i>MRPS16</i>	AR
	Miopatía y anemia sideroblástica con déficit multienzimático	<i>PSU1</i>	AR
Mutaciones genes codificantes de componentes no proteicos de CR	Ataxia, crisis, miopatía mioglobinuria	<i>CoQ</i>	¿?

Tabla V. Mutaciones en genes nucleares que dan lugar a alteraciones en la CR de forma indirecta, asociados a distintos fenotipos y patrones de herencia (AD, autosómico dominante; AR, autosómico recesivo; X, ligado al cromosoma X).

TIPO DE ALTERACIÓN	FENOTIPO	GEN	HERENCIA
Mutaciones en genes nucleares que regulan componentes lipídicos de las membranas	S. de Barth	<i>G 4.5</i>	X
Mutaciones en genes nucleares que regulan la fusión, fisión y movilidad mitocondrial	Paraplegia espástica AD	<i>KIF5A</i>	AD
	Atrofia óptica AD	<i>OPA1</i>	AD
	Charcot-Marie-Tooth 2A	<i>MNF2</i>	AD
Mutaciones en genes nucleares codificantes de factores indirectamente relacionados con la CR	Ataxia de Fredreich	<i>FRDA1</i>	AR
	Paraplegia espástica	<i>SPG7</i>	AR
	Sordera y distonía	<i>DDP1</i>	X
	Atrofia óptica	<i>OPA1</i>	AD
	Anemia sideroblástica y ataxia	<i>ATP7B</i>	X

BIBLIOGRAFÍA

1. Bernier FP, Boneh A, Dennett X, Chow CW, Cleary MA, Thorburn DR. Diagnostic criteria for respiratory chain disorders in adults and children. *Neurology* 2002; 59:1406-1411.
2. DiMauro S, Bonilla E, De Vivo DC. Does the patient have a mitochondrial encephalomyopathy?. *J Child Neurol* 1999; 14: S23-S35.
3. Ogasahara S, Engel AG, Frens D, Mack D. Muscle coenzyme Q deficiency in familial mitochondrial encephalomyopathy. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86:2379.
4. Musumeci O, Naini A, Slonim AE, Skavin N, Hadjigeorgiou GL, Krawiecki N, et al. Familiar cerebellar ataxia with muscle Q10 deficiency. *Neurology* 2001, 56:849-855.
5. Van der Maldergem L, Trijbels F, DiMauro S, Sindelar PJ, Musumeci O, Janssen A, et al. Coenzyme Q-responsive Leigh's encephalopathy in two sisters. *Ann neurol* 2002; 52:750-754.
6. Munnich A, Rustin P. Clinical spectrum and diagnosis of mitochondrial disorders. *Am J Hum Genet* 2001; 106:4-17.

7. Chinnery PF, Turnbull DM. Epidemiology and treatment of mitochondrial disorders. *Am Med Genet* 2001; 106:94-101.
8. Majamaa K, Moilanen JS, Uimonen S, Remes AM, Salmela PI, Karppa M, et al. Epidemiology of A3243G, the mutation for mitochondrial encephalomyopathy, lactic acidosis, and stroke like episodes: prevalence of the mutation in adult population. *Am J Hum Genet* 1998; 63:447-454.
9. Yang MY, Bowmaker M, Reyes A, Vergani L, Angeli P, Gringeri E, et al. Biased incorporation of ribonucleotides on the mitochondrial L-strand accounts for apparent strand-asymmetric DNA replication. *Cell* 2000; 111:495-505.
10. Schwartz M, Vissing J. Paternal inheritance of mitochondrial DNA. *New Engl J Med* 2002; 347:576-580.
11. Holt IJ, Harding AE, Morgan Hughes JA. Deletions of muscle mitochondrial DNA in patients with mitochondrial myopathies. *Nature* 1988; 331:717-719.
12. Chinnery PF, DiMauro S, Shanske S, Schon EA, Zeviani M, Mariotti C, et al. Risk of developing mitochondrial DNA deletion disorder. *Lancet* 2004; 364:592-596.
13. MITOMAP: A Human Mitochondrial Genome Database. Center for Molecular Medicine, Emory University. www.gen.emory.edu/mitomap.html.
14. Zeviani M, Di Donato S. Mitochondrial disorders. *Brain* 2004; 127: 2153-2172.
15. Goto Y, Nonaka I, Horai S. A mutation in the tRNA-leu(UUR) gene associated with the MELAS subgroup of mitochondrial encephalomyopathies. *Nature* 1990;348:651-653.
16. Shoffner JM, Lott MT, Lezza AMS, Seibel P, Ballinger SW, Wallace DC. et al. Myoclonic epilepsy and ragged-red fiber disease (MERRF) is associated with a mitochondrial DNA tRNA-lys mutation. *Cell* 1990; 61:931-937.

17. Prezant TR, Agapian JV, Bohlman MC, Bu X, Oztas S, Qiu WQ, et al. Mitochondrial ribosomal RNA mutation is associated with both antibiotic-induced and non-syndromic deafness. *Nat Genet* 1993; 4:289-294.
18. Holt IJ, Harding AE, Petty RHK, Morghan-Hughes JA. A new mitochondrial disease associated with mitochondrial DNA heteroplasmy. *Am J Hum Genet* 1990 ; 46:428-433.
19. De Vries DD, van EB, Gabreels F, Ruitenbeek W, van Oost BA. A second missense mutation in the mitochondrial ATPase 6 gene in Leigh's syndrome. *Ann Neurol* 1993; 34:410-412.
20. Campos Y, Martín MA, Rubio JC, Gutierrez del Olmo MC, Cabello A, Arenas J. Leigh syndrome associated with the T9176C mutation in the ATPase 6 gene of mitochondrial DNA. *Neurology* 1997; 49:595-597.
21. Thyagarajan D, Shanske S, Vazquez-Memije M, De Vivo D, DiMauro S. A novel mitochondrial ATPase 6 point mutation in familial bilateral striatal necrosis. *Ann Neurol* 1995; 38:468-472.
22. Mackey DA, Oostra RJ, Rosenberg T, Nikoskelainen E, Bronte-Stewart J, Poulton J, et al. Primary pathogenic mtDNA mutations in multigeneration pedigrees with Leber hereditary optic neuropathy. *Am J Hum Genet* 1996; 59:481-445.
23. Triepels RH, Van den Heuvel LP, Trijbels JM, Smeitink JA. Respiratory chain complex I deficiency. *Am J Med Gen* 2001; 106:37-45.
24. Bourgeron T, Rustin P, Chretien D, Birch-Machin M, Bourgeois M, Viegas-Pequignot E, et al. Mutation of a nuclear succinate dehydrogenase gene results in mitochondrial respiratory chain deficiency. *Nature Genet* 1995; 11:144-149.
25. Baysal BE.; Ferrell RE.; Willett-Brozick JE. Mutations in SDHD, a mitochondrial complex II gene in hereditary paraganglioma. *Science* 2000;287:848-51.

26. Haut S, Brivet M, Touati G, Rustin P, Lebon S, Garcia-Cazorla A, et al. A deletion in the human QP-C gene causes a complex III deficiency resulting in hypoglycaemia and lactic acidosis. *Hum Genet* 2003;113:118-122.
27. Visapaa I, Fellman V, Vesa J, Dasvarma A, Hutton JL, Kumar V, et al. GRACILE syndrome, a lethal metabolic disorder with iron overload, is caused by a point mutation in BCSIL. *Am J Hum Genet* 2002; 71: 863-876.
28. Tiranti V, Hoertnagel K, Carrozo R, Galimberti G, Munaro M, Granatiero M, et al. Mutations of SURF-1 in Leigh disease associated with cytochrome c oxidase deficiency. *Am J Human Genet* 1998; 63:1609-1621.
29. Valnot I, Osmond S, Gigarel N, mehaye B, Amiel J, Cormier-Daire V, et al. Mutations of the SCO1 gene in mitochondrial cytochrome c oxidase deficiency with neonatal-onset hepatic failure and encephalopathy. *Am J Hum Genet* 2000a; 67:1104-1109.
30. Papadopoulou LC, Sue CM, Davidson MM, Tanji K, Nishino I, Sadlock JE, et al. Fatal infantile cardioencephalomyopathy with COX deficiency and mutations in SCO2, a COX assembly gene. *Nature Genet* 1999; 23:333-37.
31. Valnot I, von Kleist-Retzow JC, Barrientos A, Gorbatyuk M, Taanman JW, Mehaye B, et al. A mutation in the human heme A:farnesyltransferase gene (COX10) causes cytochrome c oxidase deficiency. *Hum Molec Genet* 2000b; 9:1245-1249.
32. Antonicka H, Mattman A, Carlson CG, Glerum DM, Hoffbuhr KC, Leary SC, et al. Mutations in COX15 produce a defect in the mitochondrial heme biosynthetic pathway, causing early-onset fatal hypertrophic cardiomyopathy. *Am J Hum Genet* 2003; 72:101-114.
33. Mootha VK, Lepage P, Miller K, Bunkenborg J, Reich M, Hjerrild M, et al. Identification of a gene causing human cytochrome c oxidase deficiency by integrative

genomics. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100:605-610.

34. Tiranti V, D'Adamo P, Briem E, Ferrari G, Mineri R, Lanantea E, et al. Ethylmalonic encephalopathy is caused by mutations in *ETHE1*, a gene encoding a mitochondrial matrix protein. *Am J Hum Genet* 2004; 74: 239-252.

35. De Meirleir L, Seneca S, Lissens W, De Clercq I, Eyskens F, Gerlo E, et al. Respiratory chain complex V deficiency due to a mutation in the assembly gene *ATP12*. *J Med Genet* 2004; 41:120-124.

36. Nishino I, Spinazzola A, Hirano M. Thymidine phosphorylase gene mutations in *MNGIE*, a human mitochondrial disorder. *Science* 1999; 283:689-692.

37. Kaukonen J, Juselius JK, Tiranti V, Kyttala A, Zeviani M, Comi GP, et al. Role of adenine nucleotide translocator 1 in mtDNA maintenance. *Science* 2000; 289:782-785.

38. Spelbrink JN, Li FY, Tiranti V, Nikali K, Yan QP, Tariq M, et al. Human mitochondrial DNA deletions associated with mutations in the gene encoding Twinkle, a phage T7 gene 4-like protein localized in mitochondria. *Nature Genet* 2001; 28:223-231.

39. Van Goethem G, Dermaut B, Löfgren A, et al. Mutation of *POLG* is associated with progressive external ophthalmoplegia characterized by mtDNA deletions. *Nature Genet* 2001; 28:211-212.

40. Lanantea E, Tiranti V, Bordoni A, Toscano A, Bono F, Servidei S, et al. Mutations of mitochondrial DNA polymerase gamma A are a frequent cause of autosomal dominant or recessive progressive external ophthalmoplegia. *Ann Neurol* 2002; 52:211-219.

41. Van Goethem G, Schwartz M, Lofgren A, Dermaut B, Van Broeckhoven C, Vissing J. Novel *POLG* mutations in progressive external ophthalmoplegia mimicking

mitochondrial neurogastrointestinal encephalomyopathy. *Eur J Hum Genet* 2003; 11:547-549.

42. Luoma P, Melberg A, Rinne JO, Kaukonen JA, Nupponen NN, Chalmers RM, et al. Parkinsonism, premature menopause, and mitochondrial DNA polymerase mutations: clinical and molecular genetic study. *Lancet* 2004; 364:875-882.

43. Saada A, Shaag A, Mandel H, Nevo Y, Eriksson S, Elpeleg O. Mutant mitochondrial thymidine kinase in mitochondrial DNA depletion myopathy. *Nat Genet* 2001; 29:342-4.

44. Mandel H, Szargel R, Labay V, Elpeleg O, Saada A, Shalata A, et al. The deoxyguanosine kinase is mutated in individuals with depleted hepatocerebral mitochondrial DNA. *Nat Genet* 2001; 29:337-341.

45. Nguyen KV, Sharief FS, Chan SSL, Copeland WC, Naviaux RK. Molecular diagnosis of Alpers syndrome. *J Hepatol* 2006; 45: 108-116.

46. Spinazzola A, Viscomi C, Fernandez-Vizarra E, Carrara F, Dádamo P, et al. MPV17 encodes an inner mitochondrial membrane protein and is mutated in infantile hepatic mitochondrial DNA depletion. *Nature genetics* 2006; 38: 570-575.

47. Coenen MJ, Antonicka H, Ugalde C, Sasarman F, Rossi R, Heister JG, et al. Mutant mitochondrial elongation factor G1 and combined oxidative phosphorylation deficiency. *New Engl J Med* 2004; 351:2080-2086.

48. Miller C, Saada A, Shaul N, Shabtai N, Ben-Shalom E, Shaag A, et al. Defective mitochondrial translation caused by a ribosomal protein (MRPS16) mutation. *Ann Neurol* 2004; 56:734-738.

49. Bykhovskaya Y, Casas K, Mengesha E, Inbal A, Fischel-Ghodsian N. Missense mutation y pseudouridine synthase (PSU1) causes mitochondrial myopathy and sideroblastic anemia (MLASA). *Am J Hum Genet* 2004; 74:1303-1308.

50. Vreken P, Valianpour F, Nijtmans LG, Grivell LA, Plecko B, Wanders RJ, et al. Defective remodelling of cardiolipin and phosphatidylglycerol in Barth syndrome. *Biochem Biophys Res Commun* 2000; 279:378-382.
51. Fichera M, Lo Giudice M, Falco M, Sturnio M, Amata S, Calabrese O, et al. Evidence of kinesin heavy chain (KIF5A) involvement in pure hereditary spastic paraplegia. *Neurology* 2004; 63:1108-1110.
52. Delettre C, Lenaers G, Griffoin JM, Gigarel N, Lorenzo C, Belenguer P, et al. Nuclear gene OPA1, encoding a mitochondrial dynamin-related protein, is mutated in dominant optic atrophy. *Nat Genet* 2000; 26:207-210.
53. Zuchner S, Mersiyanova IV, Muglia M, Bissar-Tadmouri N, Rochelle J, Dadal EL, et al. Mutations in the mitochondrial GTPase mitofusin 2 cause Charcot-Marie-tooth neuropathy type 2A. *Nat Genet* 2004; 36:449-451.
54. Casari G, De Fusco M, Ciarmatori S, Zeviani M, Mora M, Fernández P, et al. Spastic paraplegia and OXPHOS impairment caused by mutations in paraplegin, a nuclear-encoded mitochondrial metalloprotease. *Cell* 1998; 93:973-983.
55. Allikmets R, Raskind WH, Hutchinson A, Schueck ND, Dean M, Koeller DM. Mutation of a putative mitochondrial iron transporter gene (ABC7) in X-linked sideroblastic anemia and ataxia (XLSA/A). *Hum Mol Genet* 1999; 8:743-749.
56. Campuzano V, Montermini L, Molto MD, Pianese L, Cossee M, Cavalcanti F, et al. Friedreich's ataxia. Autosomal recessive disease caused by an intronic GAA triplet repeat expansion. *Science* 1996; 271:1423-1427.
57. Roesch K, Curran S, Tranebjaerg L, Koehler CM. Human deafness dystonia syndrome is caused by a defect in assembly of the DDP1/TIMM8a-TIMM13 complex. *Hum Mol Genet* 2002; 11:477-486.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo está financiado por el proyecto: FIS 03/0283. Y. Campos posee un contrato del Programa de Estabilización de Investigadores del Sistema Nacional de Salud, del Instituto de Salud Carlos III y la Comunidad de Madrid (Fundación para la Investigación Biomédica Hospital 12 de Octubre).