

# Encefalomiopatía mitocondrial, acidosis láctica y accidentes cerebrovasculares (MELAS) en edad pediátrica con la mutación A3243G en el gen del ARN<sup>t</sup><sub>Leu(UUR)</sub> del ADN mitocondrial

L. Coelho-Miranda<sup>a</sup>, A. Playan<sup>c</sup>, R. Artuch<sup>b</sup>, M.A. Vilaseca<sup>b</sup>, J. Colomer<sup>a</sup>, P. Briones<sup>c</sup>, J. Coll-Cantí<sup>d</sup>, J. Conill<sup>a</sup>, A. Sans<sup>a</sup>, A. López de Munain<sup>f</sup>, A. Solano<sup>e</sup>, M.J. Alcaine<sup>e</sup>, J. Montoya<sup>e</sup>, M. Pineda<sup>a</sup>

ENCEFALOMIOPATÍA MITOCONDRIAL, ACIDOSIS LÁCTICA Y ACCIDENTES CEREBROVASCULARES (MELAS) EN EDAD PEDIÁTRICA CON LA MUTACIÓN A3243G EN EL GEN DEL ARN<sup>t</sup><sub>Leu(UUR)</sub> DEL ADN MITOCONDRIAL

**Summary.** *Objetivos.* Evaluar tres pacientes afectos de síndrome de encefalopatía mitocondrial, acidosis láctica y accidentes cerebrovasculares (MELAS) con diagnóstico en la infancia; en especial, los síntomas iniciales y la evolución clínica durante los primeros estadios en edad pediátrica, y compararlos con los descritos en otros estudios publicados sobre el tema. *Pacientes y métodos.* Dos varones y una mujer de 10, 11 y 13 años, a quienes se realizaron determinaciones de lactato, piruvato y aminoácidos en fluidos biológicos en condiciones basales, así como, tras pruebas funcionales y de las actividades enzimáticas de la cadena respiratoria mitocondrial, en biopsia muscular. Se analizaron también las mutaciones puntuales del ADN relacionadas con MELAS en diferentes tejidos de los pacientes y en linfocitos de sus familiares de línea materna disponibles. *Resultados.* Los enfermos cumplían los criterios clínicos de síndrome de MELAS. La neuroimagen demostró los accidentes cerebrovasculares. Los estudios neurofisiológicos mostraron en un paciente una miopatía y en otro una neuropatía neuroaxonal. En dos casos, el estudio oftalmológico reveló una retinitis pigmentaria y, en el transcurso de los accidentes cerebrovasculares, se observaron fenómenos transitorios de hemianopsia homónima y ceguera cortical. La biopsia muscular mostró en todos los enfermos fibras rojo rasgadas y el estudio bioquímico, un déficit enzimático de la cadena respiratoria mitocondrial. El estudio genético molecular del ADN mitocondrial (ADNmt) detectó la presencia de la mutación puntual A3243G del gen del ARN<sup>t</sup><sub>Leu</sub> en todos los pacientes y en algunos familiares de línea materna. *Conclusiones.* En niños con episodios frecuentes de cefalea migrañosa, vómitos, epilepsia rebelde y fatiga debemos sospechar una enfermedad mitocondrial. Con la detección de mutaciones de ADNmt, el diagnóstico de MELAS puede realizarse sin que hayan aparecido aún todos los criterios clínicos que caracterizan este síndrome. [REV NEUROL 2000; 31:] [<http://www.revneurolog.com/31Num/jNumPág.pdf>]

**Key words.** Accidentes cerebrovasculares. Acidosis láctica. ADN mitocondrial. Cefalea migrañosa. Encefalopatía mitocondrial, acidosis láctica y accidentes cerebrovasculares. Epilepsia. Mutación A3243G del ARN<sup>t</sup>.

## INTRODUCCIÓN

La combinación de encefalomiopatía mitocondrial, acidosis láctica y accidentes cerebrovasculares fue descrita por primera vez por Pavlakis et al [1] en 1984 como síndrome de MELAS (del inglés *Mitochondrial myopathy, Encephalopathy, Lactic Acidosis and Stroke-like episodes*). Es uno de los síndromes mitocondriales multisistémicos mejor definidos desde el punto de vista

clínico. Los criterios invariables que lo caracterizan son episodios de accidentes cerebrovasculares antes de los 40 años, encefalopatía caracterizada por crisis epilépticas focales o generalizadas, acidosis láctica y/o fibras rojo rasgadas [2], además de dos de los siguientes síntomas: baja estatura, demencia, cefaleas recurrentes y vómitos. En 1990, Goto et al [3] comunicaron una mutación puntual del ADN mitocondrial (ADNmt) (A3243G del gen ARN<sup>t</sup><sub>Leu</sub>) vinculada al síndrome de MELAS, y desde entonces se han descrito más de ocho mutaciones puntuales específicas en el ADNmt, aunque la primera es la más común [4].

La combinación de alteraciones específicas del ADNmt con el MELAS y otros síndromes mitocondriales multisistémicos (epilepsia mioclónica con fibras rojo rasgadas—MERRF, del inglés *Myoclonic Epilepsy and Ragged-Red Fibers*—, neuropatía con ataxia y retinitis pigmentaria—NARP—, síndrome de Kearns-Sayre, etc.) ha permitido estudiar la variabilidad del fenotipo clínico, la superposición de signos clínicos característicos de otros síndromes mitocondriales y ha posibilitado su diagnóstico diferencial, así como un diagnóstico mucho más precoz de los mismos, ante la sospecha clínico/bioquímica de encefalopatía mitocondrial.

Presentamos la revisión de tres pacientes afectos de MELAS con diagnóstico en la infancia, en quienes destacamos especialmente los síntomas iniciales y la evolución clínica durante los primeros estadios en edad pediátrica.

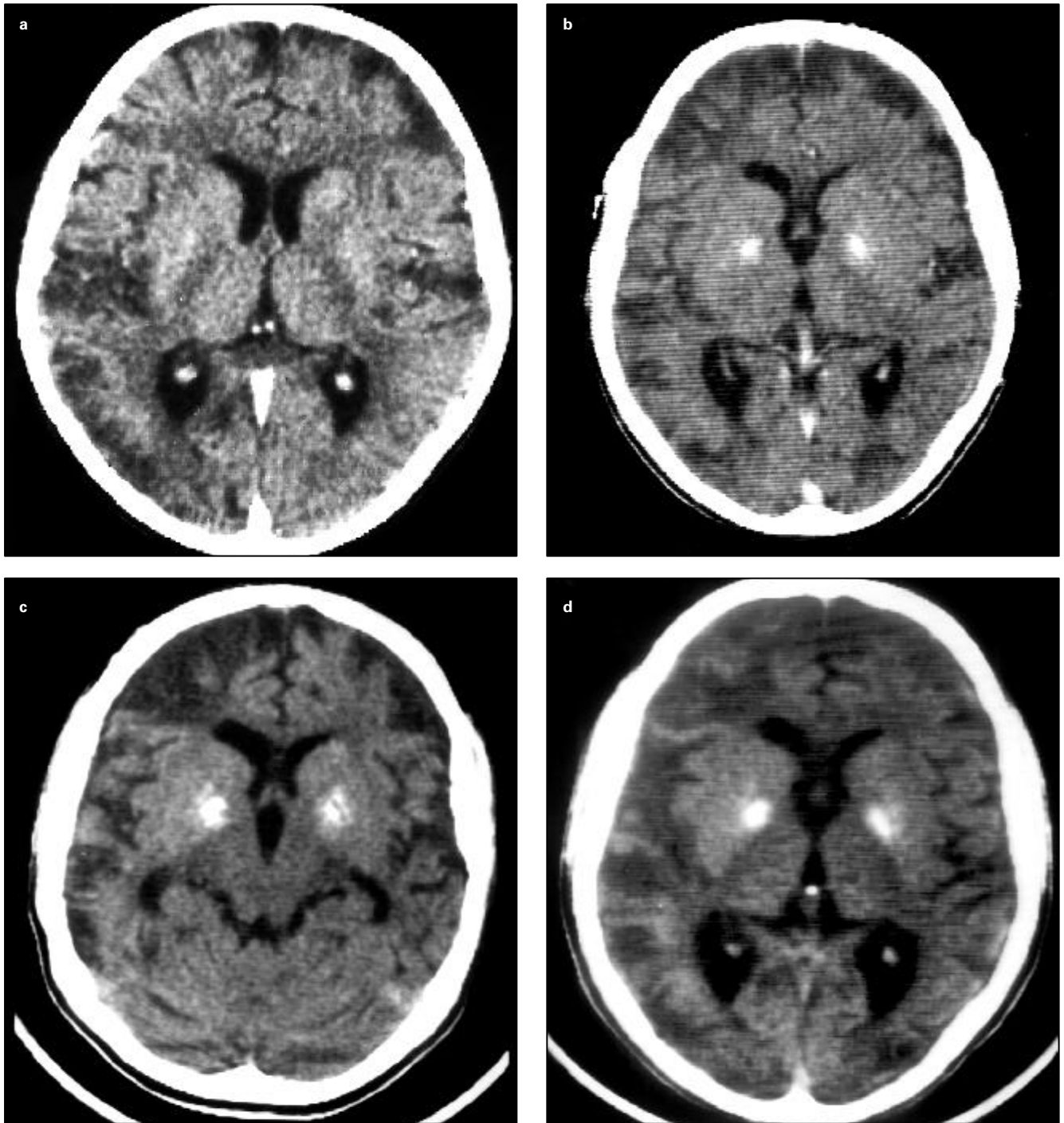
Recibido: 10.03.00. Aceptado tras revisión externa sin modificaciones: 16.03.00.

<sup>a</sup> Servicio de Neuropediatría. <sup>b</sup> Servicio de Bioquímica. Hospital Sant Joan de Déu. Universitat de Barcelona. Esplugues de Llobregat, Barcelona. <sup>c</sup> Institut de Bioquímica Clínica. Corporació Sanitària-CSIC. Barcelona. <sup>d</sup> Hospital Universitari Germans Trias i Pujol. Badalona, Barcelona. <sup>e</sup> Departamento de Bioquímica y Biología Molecular y Celular. Universidad de Zaragoza. Zaragoza. <sup>f</sup> Hospital Nuestra Señora de Aránzazu. Donostia-San Sebastián, Gipuzkoa, España.

Correspondencia: Dra. Mercè Pineda Marfà. Servei de Neuropediatria. Hospital Sant Joan de Déu. Passeig de Sant Joan de Déu, 2. E-08950 Esplugues de Llobregat, Barcelona. Fax: +34932033959. E-mail: pineda@hsjdbcn.org

Agradecimientos. Agradecemos la colaboración de los Dres. J. Vila, I. Ferrer y L. Terricabras en el estudio de las biopsias musculares. A los técnicos Juan Moreno, Montserrat Quintana, Rosa Puig y Sonia Moliner. A C. Fabrega y J. Fabrega por su labor fotográfica. Este trabajo ha sido financiado con ayudas de investigación del Fondo de Investigaciones Sanitarias (FIS 98/0049/01) y de la Diputación General de Aragón (P24/97).

© 2000, REVISTA DE NEUROLOGÍA



**Figura 1.** Caso 1. a) Tomografía axial computarizada (TAC) craneal realizada cuando el paciente tenía 11 años, donde se aprecian lesiones córtico-subcorticales difusas sin anomalías en los núcleos de la base; b) TAC craneal efectuada a los 13 años, en la que se observan hipodensidades córtico-subcorticales difusas y calcificaciones de putamen y pálido; c) TAC craneal realizada a los 15 años que muestra atrofia cerebral difusa; d) TAC craneal hecha a los 16 años, en la cual se evidencia atrofia grave difusa, intensas calcificaciones de los núcleos de la base y múltiples infartos isquémicos corticales.

## PACIENTES

### Caso 1

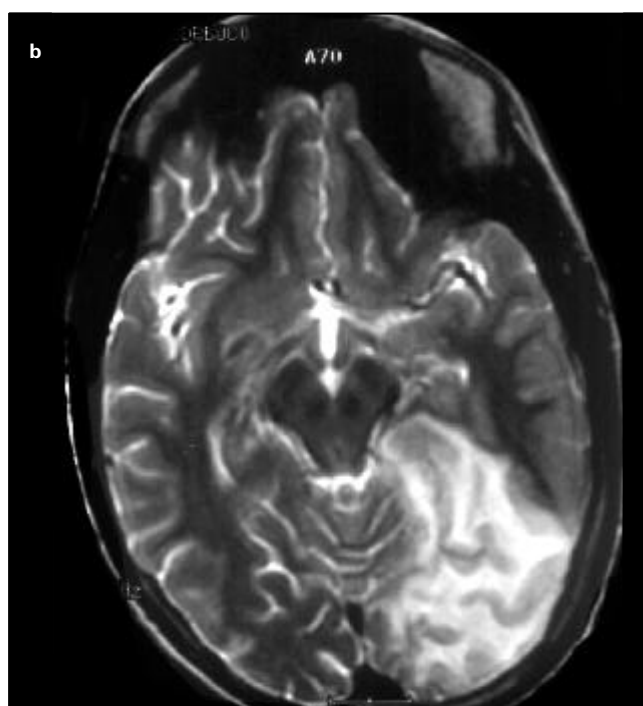
Tercer hijo de padres no consanguíneos, sin antecedentes perinatales de interés. Su desarrollo psicomotor fue normal, pero a la edad de 7 años inició brotes de ataxia, dismetría y disartria, acompañados de cefalea, vómitos y períodos de obnubilación de 3-4 días de duración, cada 4-6 meses. A los 9 años presentó períodos de irritabilidad y bradipsiquia, con disminución del rendimiento escolar. La tomografía axial computarizada (TAC) craneal fue normal. A los 11 años inició crisis convulsivas parciales, generalizadas y

especialmente mioclónicas. El electroencefalograma (EEG) registró descargas paroxísticas multifocales. En un episodio de vómitos con cefalea intensa y mioclonías erráticas de las cuatro extremidades acude a nuestro Servicio. La exploración evidenció retraso pondoestatural (-3DS), ptosis bilateral, oftalmoplejía, signos piramidales en miembros inferiores, hipoacusia bilateral, bradipsiquia y deterioro mental. Se instauró tratamiento con carbamazepina y clobazam con control de las crisis y mioclonías. La TAC craneal mostró lesiones córtico-subcorticales difusas sin anomalías en los núcleos de la base (Fig. 1a). La elevación del ácido láctico, del ácido pirúvico y de la



**Figura 2.** Caso 2. a) Resonancia magnética nuclear (RMN) realizada a los 16 años en la que se evidencia atrofia de vermis cerebeloso; b) RMN efectuada a los 17 años que muestra una imagen hipointensa en el lóbulo occipital derecho con afección de predominio cortical.

alanina en sangre (en condiciones basales y post-ejercicio), así como también en el líquido cefalorraquídeo (LCR) con hiperproteíorraquia, condujo a la sospecha de una encefalopatía mitocondrial (Tabla II). Se realizó una biopsia de músculo periférico, que mostró fibras rojo rasgadas. La microscopía electrónica evidenció inclusiones paracristalinas. El estudio enzimático apoyó el diagnóstico de encefalopatía mitocondrial. A la edad de 13 años el deterioro del paciente se hizo más evidente, con un coeficiente intelectual (CI) de 60 con el test de la escala de inteligencia de **Weschler** para niños (WISC, del inglés *Weschler Intelligence Scale for Children*). La agravación



**Figura 3.** Caso 3 a) Resonancia magnética nuclear (RMN) practicada a los 13 años y 7 meses, donde se observa una pequeña lesión isquémica temporoccipital corticobasal izquierda; b) RMN efectuada a los 13 años y 10 meses que revela un extenso infarto en territorio de la arteria cerebral posterior izquierda.

del cuadro clínico con la aparición de arreflexia osteotendinosa y atrofia muscular progresiva nos condujo a realizar una electromiografía, que mostró un trazado neurógeno con disminución de la velocidad de conducción sensitiva y motora, y confirmó la existencia de polineuropatía. En el fondo de ojo se apreció retinitis pigmentaria y la TAC craneal mostró hipodensidades córtico-subcorticales difusas y calcificaciones de putamen y pálido (Fig. 1b). A los 15 años, se evidenció además atrofia cerebral difusa (Fig. 1c). Un año más tarde, el paciente mostró un estacionamiento de la curva estaturoponderal, oftalmoplejía completa, sordera, grave amiotrofia muscular y mayor demen-

ciación. La TAC craneal a esta edad mostró atrofia difusa importante, intensas calcificaciones de los núcleos de la base y múltiples infartos isquémicos corticales (Fig. 1d). Fue *éxitus* a la edad de 16 años a causa de una septicemia. No se autorizó el estudio necrópico. Años después, el estudio genético del ADNmt reveló la presencia de la mutación A3243G de MELAS en fibroblastos del paciente, mutación que se observó también en los linfocitos maternos. Quince años después de la defunción del paciente, la madre ha desarrollado una diabetes mellitus.

### Caso 2

Hija de padres consanguíneos de segundo grado, producto de un tercer embarazo con dos abortos previos. La madre había presentado una historia de sordera, diabetes mellitus, retinitis pigmentaria, epilepsia y accidentes cerebrovasculares con deterioro mental progresivo, y fue diagnosticada *post mórtem* de enfermedad mitocondrial en la necropsia. La abuela materna y un tío materno padecían sordera, y una tía materna sufrió también accidentes cerebrovasculares. La paciente estuvo asintomática hasta la edad de 9 años cuando se detectó una pérdida progresiva de la audición y fatigabilidad, razón por la cual fue remitida a nuestro centro hospitalario a los 10 años de edad. En la exploración tan sólo se evidenciaba hipoacusia bilateral con hiperreflexia de miembros inferiores y nivel cognitivo normal. Los estudios bioquímicos mostraron elevación del ácido láctico, ácido pirúvico y de la alanina en sangre y LCR. La biopsia de músculo periférico mostró fibras rojo rasgadas. El resto de exámenes complementarios fueron normales, incluso la primera resonancia magnética nuclear (RMN) craneal (Tabla II). Se sospechó, por la sintomatología y los antecedentes maternos, un síndrome de MELAS y a los 10 años de edad se pudo confirmar por el estudio molecular en linfocitos. A los 16 años, la RMN craneal mostró atrofia de vermis cerebeloso (Fig. 2a). Un año más tarde, la paciente presentó el primer brote de accidente cerebrovascular tras un ejercicio físico intenso, junto con cefalea migrañosa, fiebre, vómitos, ataxia, convulsiones y ceguera cortical de varias semanas de duración. La RMN craneal reveló una imagen hipointensa en el lóbulo occipital derecho con afectación de predominio cortical (Fig. 2b), además de otra imagen similar de menor tamaño en el lóbulo occipital izquierdo y calcificaciones en núcleos caudados y globo pálido. Más tarde, la paciente presentó brotes sucesivos de accidentes cerebrovasculares con hemiparesia y posterior tetraparesia, que le condujeron al *éxitus* a los 22 años.

### Caso 3

Varón, hijo de padres no consanguíneos, fruto de un quinto embarazo con dos abortos previos; parto prematuro de 36 semanas de gestación y peso de 2.000 g. La madre y la abuela eran diabéticas. El paciente tenía una hermana afecta de epilepsia rolándica benigna. El desarrollo psicomotor del niño fue normal, aunque siempre presentó fatigabilidad ante esfuerzos prolongados. A los 9 años y 10 meses, inició crisis motoras generalizadas nocturnas acompañadas de sensaciones visuales anormales, cefalea migrañosa y vómitos previos y/o poscríticos. Las crisis se agrupaban en tres o cuatro episodios con una frecuencia cada dos o tres meses. El EEG mostraba paroxismos multifocales y/o paroxismos occipitales izquierdos, que se generalizaban en sueño. El tratamiento con carbamazepina y clobazam no controló las crisis. La TAC craneal fue normal. A partir de los 13 años y 7 meses, precisó frecuentes ingresos hospitalarios debido al aumento del número de crisis. La RMN craneal había mostrado una pequeña lesión isquémica temporoccipital córtico-basal izquierda (Fig. 3a) y cambios de señal en los núcleos de la base. El examen neurológico no mostraba anomalías. Durante el último ingreso, a los 13 años y 10 meses, presentó un episodio de cefalea migrañosa intensa, con dolor ocular izquierdo, vómitos y hemianopsia homónima derecha de seis días de duración. Se detectó una elevación del lactato en sangre y en LCR (Tabla II). Los potenciales evocados visuales mostraron signos de afectación

**Tabla I.** Relación de signos y síntomas clínicos en relación con la edad del paciente.

	Caso 1	Caso 2	Caso 3
Edad/síntoma de inicio	7 años/ACV	9 años/sordera	10 años y 9 meses/epilepsia
Edad/sospecha diagnóstica	11 años/epilepsia rebelde, mioclonías ACV y acidosis láctica	10 años/necropsia materna láctica y ACV	13 años/epilepsia rebelde, cefalea migrañosa, acidosis
Inicio de ACV	7 años	17 años	13 años y 10 meses
Epilepsia	Sí	Sí	Sí
Sordera	Sí	Sí	No
Cefalea migrañosa	Sí	Sí	Sí
Edad/Signos oftalmológicos	11 años/retinitis pigmentaria y oftalmoplejía	10 años/retinitis pigmentaria 17 años/ceguera cortical transitoria	14 años/hemianopsia homónima derecha transitoria
Velocidad de conducción/EMG	Neuropatía	Normal	Miopatía
Edad de inicio del deterioro mental	13 años	18 años	No
Edad del <i>éxitus</i>	16 años	22 años	No

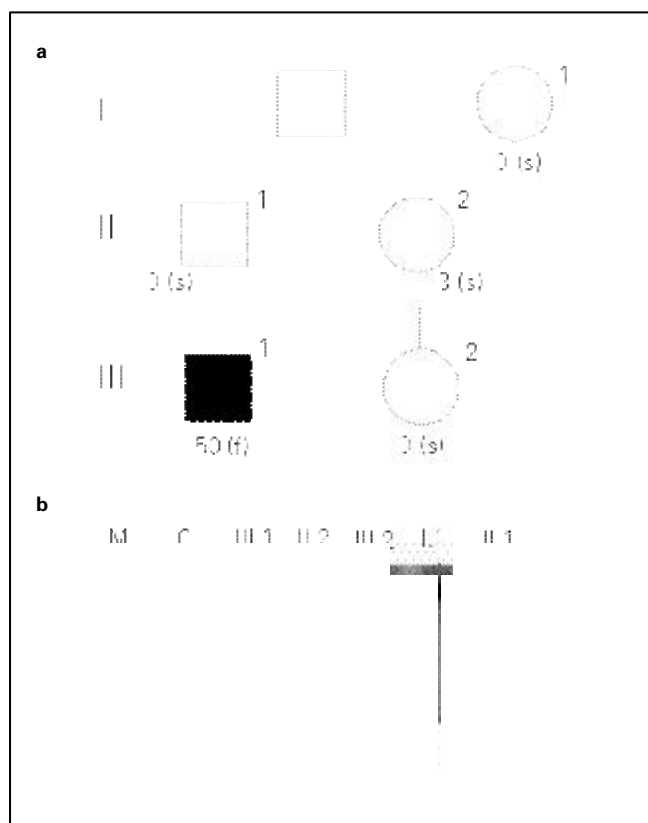
ACV: accidente cerebrovascular; EMG: electromiograma.

**Tabla II.** Resultados bioquímicos de las pruebas funcionales en sangre: basal, <sup>a</sup> post-esfuerzo y <sup>b</sup> post-sobrecarga de glucosa.

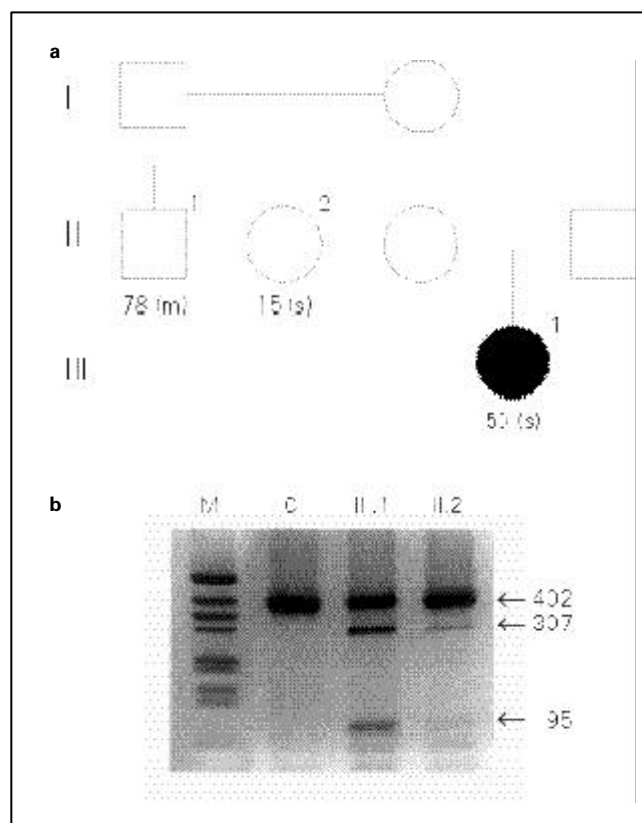
	Caso 1	Caso 2	Caso 3	Valores normales
<b>Lactato (mmol/l)</b>				
Sangre basal	4,0	4,3	1,6	0,5-1,8
Sangre post	4,2 <sup>a</sup>	6,7 <sup>a</sup>	3,3 <sup>b</sup>	
LCR	4,0	3,8	5,0	1,1-2,2
<b>Piruvato (mmol/l)</b>				
Sangre basal	0,13	0,60	0,10	0,03-0,10
Sangre post	0,17 <sup>a</sup>	0,20 <sup>a</sup>	-	
LCR	0,25	0,13	0,18	0,06-0,13
<b>Lactato/Piruvato</b>				
Sangre	30	24	16	12-30
<b>Alanina (µmol/l)</b>				
Sangre basal	381	564	411	290-410
Sangre post	742 <sup>a</sup>	566 <sup>a</sup>	360 <sup>b</sup>	
LCR	77	57	33	11-49

LCR: líquido cefalorraquídeo basal.

de la vía visual prequiasmática con mayor intensidad en el ojo izquierdo. Se realizó una segunda RMN craneal, que evidenció un extenso infarto en territorio de la arteria cerebral posterior izquierda. (Fig. 3b). Ante la sospecha de síndrome de MELAS, se practicó biopsia muscular que reveló la



**Figura 4.** Pedigrí de la familia del caso 1 y análisis de los polimorfismos de longitud de los fragmentos de restricción (RFLP) para la mutación A3243G. El ADN amplificado de 402 pb permanece intacto en el ADN normal o se corta en dos fragmentos de 307 y 95 pb en el ADN mutado, al ser digerido con la enzima de restricción Apa I. En el pedigrí se indican con símbolos en negro o blanco los pacientes o individuos asintomáticos, respectivamente, así como el porcentaje de moléculas de ADN mutadas deducidas del análisis electroforético (s: sangre; m: músculo). Las muestras de ADN de cada individuo en el análisis electroforético se corresponden con la nomenclatura del pedigrí. C: control; M: marcador de peso molecular.



**Figura 5.** Pedigrí de la familia del caso 2 y análisis de longitud de los fragmentos de restricción para la mutación A3243G. Texto y simbología igual que en la figura 4. No se muestra el análisis genético de II.1.

presencia de fibras rojo rasgadas. El estudio enzimático de la cadena respiratoria mitocondrial y el estudio genético confirmaron el diagnóstico definitivo de síndrome de MELAS. En la actualidad, el paciente tiene 14 años, sigue escolaridad normal y no presenta deterioro mental.

## MÉTODOS BIOQUÍMICOS

La determinación de lactato, piruvato y aminoácidos en diferentes fluidos biológicos en condiciones basales y tras la aplicación de pruebas funcionales, así como la determinación de las actividades enzimáticas de la cadena respiratoria mitocondrial, se realizaron de acuerdo con procedimientos previamente descritos [5-7]. Como pruebas funcionales se aplicó la prueba de esfuerzo en los casos 1 y 2, y en el caso 3 se realizó la sobrecarga oral de glucosa al no poder aplicarse la prueba de esfuerzo a este paciente [5]. El análisis de las mutaciones puntuales del ADNmt relacionadas con el MELAS se llevó a cabo a partir de muestras de sangre, de músculo o de ambas, de los pacientes y algunos de sus familiares, por medio de la amplificación de fragmentos específicos de ADNmt y digestión con la endonucleasa de restricción apropiada. En particular, para la mutación A3243G, se amplificó el ADNmt utilizando la reacción en cadena de la polimerasa con un par de oligonucleótidos cebadores que van de las posiciones 3148-3167 ('directo') y 3550-3531 ('inverso'). El fragmento de 402 pb sintetizado después de 30 ciclos se digirió con Apa I y los fragmentos de restricción obtenidos se sometieron a electroforesis en gels horizontales de agarosa al 2% con bromuro de etidio. El ADN se visualizó en un transiluminador ultravioleta y se fotografió. La cuantificación de las bandas obtenidas se realizó a partir de la

fotografía por análisis densitométrico utilizando un densitómetro Ultrosan de LKB con software GelScan XL. Asimismo, con el fin de excluir la presencia de otras mutaciones patogénicas en el ADNmt relacionadas con MELAS y con otros síndromes infantiles, se analizó la posible presencia de las mutaciones T3271C, T3291C, A11084G, A8344G, T8356C y T8993G.

## RESULTADOS

Los signos y síntomas, así como su aparición en relación con la edad de los pacientes, se resumen en la tabla I. Los resultados bioquímicos en situación basal y tras la aplicación de pruebas funcionales se presentan en la tabla II. El estudio enzimático en biopsia muscular reveló una deficiencia del complejo I de la cadena respiratoria mitocondrial en los casos 1 (29% de actividad residual) y 2 (10% de actividad residual), y un defecto de los complejos I y IV (70% y 59% de actividad residual, respectivamente) en el caso 3.

### Análisis genético-molecular

La mutación A3243G en el ADNmt crea un sitio de restricción nuevo en el fragmento de amplificación de 402 pb que puede detectarse al cortarlo con Apa I y que permite, de este modo, examinar la presencia de moléculas mutadas en los pacientes. Si la mutación está presente, se generan dos bandas de 307 y 95 pb. Las figuras 4, 5 y 6 ilustran el análisis electroforético de las muestras junto con los pedigríes de los tres pacientes y el porcentaje del ADNmt mutado. Como puede apreciarse, la mutación está presente en los tejidos de todos los pacientes analizados. El porcentaje de ADNmt mutado es relativamente bajo tanto en la sangre de los pacientes de los casos 2 y 3 (23-50%) como en los fibroblastos del caso 1, e incluso en el músculo del paciente del caso 3 (63%). Asimismo, se ha realizado el análisis en siete familiares relacionados por vía materna, de los que tres son completamente asintomáticos, dos presentan indicios de diabetes o son diabéticos y uno es sordomudo. En total, se han estudiado tejidos de 10 individuos: sólo sangre en siete individuos; fibroblastos en un sujeto; sangre y músculo en

un paciente, y sólo músculo en otro caso. En siete de los individuos se encontró heteroplasmia, es decir, coexistencia de ADNmt mutado y normal, mientras que en los tres restantes no pudieron detectarse moléculas de ADNmt mutado en sangre, ni se pudo estudiar músculo. El porcentaje de ADNmt mutado en los familiares asintomáticos o con diabetes únicamente es muy bajo (0-15%). Sólo el tío materno del caso 2, en el que pudo estudiarse músculo, presenta la mutación con un porcentaje elevado (78%). Ninguno de los pacientes presentaron alguna de las otras mutaciones puntuales estudiadas relacionadas con MELAS o de las que se presentan con más frecuencia encefalomiopatías.

## DISCUSIÓN

El síndrome de MELAS es una de las encefalomiopatías mitocondriales más comunes en la edad adulta, pero su diagnóstico no es muy frecuente en la edad pediátrica. La edad de inicio en estos tres pacientes fue entre los 7 y los 10 años, es decir, durante la primera década de vida, al igual que otros enfermos que empezaron sus síntomas antes de los 12 años [8,9].

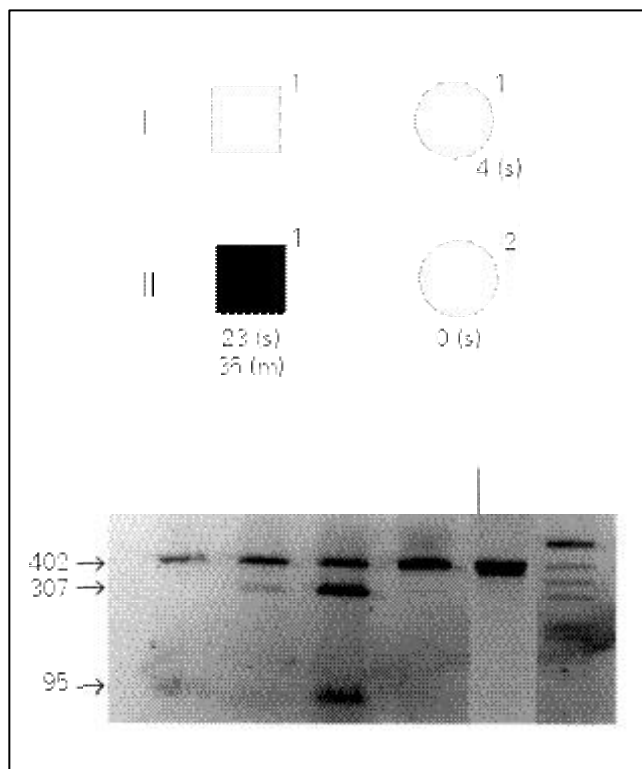
Los síntomas iniciales fueron diferentes: en el caso 1 fue un accidente cerebrovascular a la edad de 7 años, en el caso 2 una sordera completa a partir de los 9 años y en el caso 3 las crisis convulsivas que se iniciaron a los 9 años y 10 meses. La sospecha diagnóstica se planteó en nuestra serie antes de los 14 años, mientras que en la mayoría de casos descritos en las publicaciones sobre el tema la plantean entre los 20 y 40 años. La evolución clínica del síndrome de MELAS suele ser muy variable, sin embargo hay hallazgos clínicos que se presentan invariablemente a lo largo de la evolución de la enfermedad. Durante su evolución, los casos 1 y 3 presentaron cefaleas de tipo migrañoso y deterioro mental en fases avanzadas de la enfermedad. La sordera fue un síntoma común en los casos 1 y 2. En nuestros tres pacientes se constataron accidentes cerebrovasculares, con elevación del lactato en plasma y en LCR, que son algunos de los criterios mayores que definen el síndrome [9]. En los estudios basales, no siempre se puso de manifiesto la acidosis láctica; así, se mostró elevada tras esfuerzo en los casos 1 y 2, mientras que en el caso 3 se mantuvo dentro del intervalo normal en condiciones basales y posteriores a sobrecarga de glucosa. Algunos autores refieren que la sobrecarga de glucosa, como test de provocación de acidosis láctica, puede causar empeoramiento clínico en algunos enfermos [10], sin embargo en nuestro paciente no lo observamos.

Los estudios neurofisiológicos mostraron un trazado miógeno en el caso 3, el cual ya presentaba discretos signos clínicos de fatigabilidad y rechazo al deporte, mientras que en el caso 1 evidenciaron una neuropatía periférica de tipo neuroaxonal. Los casos descritos de síndrome de MELAS con polineuropatía son escasos y en su mayoría corresponden a pacientes adultos. Sin embargo, en nuestro paciente **¿el caso 1?**, la polineuropatía ya se detectó a la edad de 11 años [11,12] y las amiotrofias musculares se fueron evidenciando en los años posteriores.

Es muy poco frecuente observar retinitis pigmentaria en este síndrome; no obstante, en 1998, se describió el caso de un niño con dicha entidad cuando fue diagnosticado de MELAS a la edad de 5 años [13]. Nuestros casos 1 y 2 presentaron retinitis pigmentaria en edad prepuberal.

El EEG mostraba un ritmo de base poco organizado para su edad **¿la de quién?** y, a partir de la aparición de crisis epilépticas, también reflejaba la presencia de descargas paroxísticas; otros autores también han referido estos hallazgos [14].

Las imágenes neurorradiológicas, como las calcificaciones en los núcleos de la base [15,16] y las imágenes de infarto cerebral,



**Figura 6.** Pedigrí de la familia del caso 3 y análisis de longitud de los fragmentos de restricción para la mutación A3243G. Texto y simbología igual que en la figura 4.

que no son confinados a los territorios vasculares [17], ya han sido descritas en diferentes series. En nuestros casos, la neuroimagen (TAC y RNM craneal) fue demostrativa de accidente cerebrovascular, y la evolución, que hemos podido constatar en el caso 1 a lo largo de los años de seguimiento, es igual a la publicada por otros autores [16,18,19]. Creemos de gran importancia la realización de controles sucesivos de neuroimagen para identificar la progresión de las lesiones, puesto que nuestro caso 2—diagnosticado ya de MELAS— tan sólo mostraba atrofia cerebelosa, y la imagen de infarto no se presentó hasta pasada la pubertad, momento en que padeció un accidente cerebrovascular.

La presencia de fibras rojo rasgadas es característica en este síndrome, aunque en fases muy tempranas de la enfermedad tan sólo pueden encontrarse agregados subsarcolémicos. Todos nuestros pacientes presentaron fibras rojo rasgadas en la biopsia muscular con la tinción de Gomori y, además, la aparición de inclusiones paracrystalinas en el estudio con microscopio electrónico en el caso 1.

El estudio bioquímico de la cadena respiratoria mitocondrial reveló una deficiencia del complejo I en los dos primeros casos y de los complejos I y IV en el tercer caso, al igual que otros pacientes referidos en las publicaciones médicas al respecto [7,8].

En todos los tres casos, el análisis genético molecular reveló la presencia de la mutación puntual A3243G en el gen del ARN<sup>t</sup><sup>Leu</sup> del ADNmt en forma heteroplásmica. El porcentaje de moléculas mutadas detectado es relativamente bajo (23-50%), si bien en la mayor parte de los casos el análisis se realizó en muestras de sangre o fibroblastos y no en el tejido más afectado. En la familia 3 pudo estudiarse una muestra de músculo del paciente, el cual mostraba—como era de esperar—una presencia más elevada de la

mutación (63%), sin embargo, este valor resulta también relativamente bajo para el músculo. Ello podría explicarse por el hecho de que los tres pacientes estaban en edad pediátrica y cabría esperar que, con el tiempo, aumentara la proporción de la mutación en los tejidos más afectados.

Actualmente, se conocen por lo menos ocho mutaciones en el ADNmt relacionadas con el síndrome de MELAS, pero la más frecuente, en un 80-85% de los pacientes estudiados hasta ahora, es la mutación A3243G del gen ARN<sup>t<sub>Leu</sub></sup> [3,19,20]. El mecanismo de patogenidad de esta mutación se ha estudiado en híbridos transmitocondriales que contienen mitocondrias de pacientes con MELAS. Así, se ha encontrado que la presencia de esta mutación provoca defectos en la actividad respiratoria y en la síntesis de proteínas mitocondriales componentes de la cadena respiratoria [22,23]. Este defecto puede ser la causa de la deficiencia en la actividad de los complejos respiratorios encontrada en todos los casos. La mutación se encuentra presente en cuatro de los siete familiares relacionados por vía materna que hemos estudiado. El bajo porcentaje de la mutación hallado se debe a que en la mayor parte de los casos el tejido analizado ha sido sangre. De hecho, en el único caso en el que se ha estudiado una muestra de músculo (II.1 del caso 2, adulto), el porcentaje de la mutación es el más alto

(78%). En el caso 1, es muy posible que la mutación sea de reciente aparición –en la segunda generación estudiada–, aunque no puede descartarse la presencia de la misma en otro tipo de tejido y, por lo tanto, en los oocitos de la abuela.

Asimismo, la ausencia de mutación en III.2 del caso 1 y en II.2 del caso 3 puede deberse a que no está presente en el tejido estudiado, pero podría estarlo en otros tejidos, o a las características propias de la herencia de las mutaciones en el ADNmt, que refleja un cuello de botella en la ovogénesis temprana, la cual puede producir grandes diferencias en el porcentaje de la mutación entre los distintos hermanos y entre generaciones [24,25].

En resumen, ante niños con episodios frecuentes de cefalea migrañosa, vómitos, epilepsia rebelde y fatiga, debemos pensar en una enfermedad mitocondrial, especialmente cuando existe una historia familiar materna de diabetes, sordera, epilepsia y/o demencia.

Los casos diagnosticados de síndrome de MELAS en la infancia son poco frecuentes. Con el desarrollo de técnicas de biología molecular y el conocimiento de las mutaciones de ADNmt, el diagnóstico de síndrome de MELAS puede realizarse antes de que hayan aparecido todos los criterios clínicos que caracterizan a este síndrome.

#### BIBLIOGRAFÍA

1. Pavlakis SG, Phillips PC, DiMauro S, et al. Mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis and stroke-like episodes (MELAS): a distinctive clinical syndrome. *Ann Neurol* 1984; 16: 481-8.
2. Hirano M, Ricci E, Koenigsberger MR, et al. MELAS: an original case and clinical criteria for diagnosis. *Neuromuscul Disord* 1992; 2: 125-35.
3. Goto Y, Nonaka I, Horai S. A mutation in the tRNA(Leu)(UUR) gene associated with the MELAS subgroup of mitochondrial encephalomyopathies. *Nature* 1990; 13: 651-3.
4. DiMauro S, Andreu AL, Bonilla E. Encefalomiopatías mitocondriales: ¿Hacia dónde vamos? *Rev Neurol* 1999; 28: 164-8.
5. Artuch R, Pavía C, Playán A, et al. Multiple endocrine involvement in two paediatric patients with Kearns-Sayre syndrome. *Horm Res* 1998; 50: 99-104.
6. Artuch R, Pineda M, Vilaseca MA, Briones P, Ribes A, Colomer J, et al. Deficiencias de la cadena respiratoria y metabolismo del piruvato en pacientes pediátricos: evaluación de las pruebas bioquímicas de selección. *Rev Neurol* 1998; 26: 38-42.
7. Briones P, Vilaseca MA, Ribes A, et al. A new case of multiple mitochondrial enzyme deficiencies with decreased amount of heat shock protein 60. *J Inher Metab Dis* 1997; 20: 569-77.
8. Koo B, Becker LE, Chuang S, et al. Mitochondrial encephalomyopathy, lactic acidosis, stroke-like episodes (MELAS): clinical, pathological, radiological, and genetic observations. *Ann Neurol* 1993; 34: 25-32.
9. Hirano M, Pavlakis SG. Mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis and stroke-like episodes (MELAS): current concepts. *J Child Neurol* 1994; 9: 4-13.
10. Damian MS, Reichmann H, Schutz HJ, et al. Stroke-like episodes in familial mitochondrial encephalomyopathy: clinical and biochemical aspects. *J Neurol* 1991; 238: 83-6.
11. Erro E. Síndrome de MELAS con neuropatía periférica. *Neurología* 1995; 10: 117.
12. Chu CC, Huang CC, Fang W, et al. Peripheral neuropathy in mitochondrial encephalomyopathies. *Eur Neurol* 1997; 37: 110-5.
13. Edmar A, Lombès A, Renouil M, et al. Syndrome MELAS chez un enfant de 5 ans: caractéristiques cliniques, biologiques et génétiques. *Arch Pediatr* 1998; 5: 1000-3.
14. Fujimoto S, Mizuno K, Shibata H, et al. Serial electroencephalographic findings in patients with MELAS. *Pediatr Neurol* 1999; 20: 43-8.
15. Valanne L, Ketonen L, Majander A, et al. Neuroradiologic findings in children with mitochondrial disorders. *Am J Neuroradiol* 1998; 19: 369-77.
16. Miyamoto A, Oki J, Takahashi S, et al. Serial imaging in MELAS. *Neuroradiology* 1997; 39: 427-30.
17. Forster CH, Hübner J, Müller-Hocker J, et al. Mitochondrial angiopathy in a family with MELAS. *Neuropediatrics* 1992; 23: 165-8.
18. Vivancos J, Botía E. Enfermedades mitocondriales y patología vascular cerebral. *Rev Neurol* 1995; 23: S106-12.
19. Del Olmo A, González A, Tornero C, Taberner P, Poyatos C, Cerdà M. Síndrome de MELAS: estudio clínico, patológico y de neuroimagen. *Rev Neurol* 1995; 23: 410-3.
20. Mariotti C, Savarese N, Suomalainen A, et al. Genotype to phenotype correlations in mitochondrial encephalomyopathies associated with the A3243G mutation of mtDNA. *J Neurol* 1995; 242: 304-12.
21. Goto Y, Horai S, Matsuoka T, et al. Mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis, and stroke-like episodes (MELAS): a correlative study of the clinical features and mitochondrial DNA mutation. *Neurology* 1992; 42: 545-50.
22. Chomyn AA, Martinuzzi M, Yoneda A, Daga O, Hurko D, Johns ST, et al. MELAS mutation in mtDNA binding site for transcription termination factor causes defects in protein synthesis and in respiration but no change in levels of upstream and downstream mature transcripts. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1992; 89: 4221-5.
23. King MP, Koga Y, Davidson M, Schon EA. Defects in mitochondrial protein synthesis and respiratory chain activity segregate with the transfer RNA<sup>(Leu)(UUR)</sup> mutation associated with mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis, and stroke-like episodes. *Mol Cell Biol* 1992; 12: 480-90.
24. Jenuth JP, Peterson AC, Fu K, Shoubridge EA. Random genetic drift in the female germline explains the rapid segregation of mammalian mitochondrial DNA. *Nat Genet* 1996; 14: 146-51.
25. Poulton J, Marchington DR. Prospects for DNA-based prenatal diagnosis of mitochondrial disorders. *Prenat Diagn* 1996; 16: 1247-56.

ENCEFALOMIOPATÍA MITOCONDRIAL, ACIDOSIS LÁCTICA Y ACCIDENTES CEREBROVASCULARES (MELAS) EN EDAD PEDIÁTRICA CON LA MUTACIÓN A3243G EN EL GEN DEL ARN<sup>tLeu(UUR)</sup> DEL ADN MITOCONDRIAL

**Resumen.** *Objetivos.* Evaluar tres pacientes afectos de síndrome de encefalopatía mitocondrial, acidosis láctica y accidentes cerebrovasculares (MELAS) con diagnóstico en la infancia; en especial, los síntomas iniciales y la evolución clínica durante los primeros estadios en edad pediátrica, y compararlos con los descritos en otros estudios publicados sobre el tema. *Pacientes y métodos.* Dos varones y una mujer de 10, 11 y 13 años, a quienes se realizaron determinaciones de lactato, piruvato y aminoácidos en fluidos biológicos en condiciones basales, así como, tras pruebas funcionales y de las actividades enzimáticas de la cadena respiratoria mitocondrial, en biopsia muscular. Se analizaron también las mutaciones puntuales del ADN relacionadas con MELAS en diferentes tejidos de los pacientes y en linfocitos de sus familiares de línea materna disponibles. *Resultados.* Los enfermos cumplían los criterios clínicos de síndrome de MELAS. La neuroimagen demostró los accidentes cerebrovasculares. Los estudios neurofisiológicos mostraron en un paciente una miopatía y en otro una neuropatía neuroaxonal. En dos casos, el estudio oftalmológico reveló una retinitis pigmentaria y, en el transcurso de los accidentes cerebrovasculares, se observaron fenómenos transitorios de hemianopsia homónima y ceguera cortical. La biopsia muscular mostró en todos los enfermos fibras rojo rasgadas y el estudio bioquímico, un déficit enzimático de la cadena respiratoria mitocondrial. El estudio genético molecular del ADN mitocondrial (ADNmt) detectó la presencia de la mutación puntual A3243G del gen del ARN<sup>tLeu</sup> en todos los pacientes y en algunos familiares de línea materna. *Conclusiones.* En niños con episodios frecuentes de cefalea migrañosa, vómitos, epilepsia rebelde y fatiga debemos sospechar una enfermedad mitocondrial. Con la detección de mutaciones de ADNmt, el diagnóstico de MELAS puede realizarse sin que hayan aparecido aún todos los criterios clínicos que caracterizan este síndrome. [REV NEUROL 2000; 31:] [<http://www.revneurolog.com/31Num/jNumPág.pdf>]

**Palabras clave.** Accidentes cerebrovasculares. Acidosis láctica. ADN mitocondrial. Cefalea migrañosa. Encefalopatía mitocondrial, acidosis láctica y accidentes cerebrovasculares. Epilepsia. Mutación A3243G del ARNt.

ENCEFALOMIOPATÍA MITOCONDRIAL, ACIDOSIS LÁCTICA Y ACCIDENTES CEREBROVASCULARES (MELAS) EN EDAD PEDIÁTRICA CON LA MUTACIÓN A3243G EN EL GEN DEL ARN<sup>tLeu(UUR)</sup> DEL ADN MITOCONDRIAL

**Resumo.** [REV NEUROL 2000; 31:] [<http://www.revneurolog.com/31Num/jNumPág.pdf>]

**Palavras chave.**

---

Apreciada Dra. Pineda,

Le rogamos complete las referencias bibliográficas subrayadas incluyendo el nombre de todos los autores hasta un máximo de seis (si los hubiera), pues así lo indican las normas para la publicación de trabajos en Revista de Neurología. Por otro lado, le agradeceríamos que nos indicara dónde debe ubicarse la cita n.º 21, ya que no se encuentra insertada a lo largo del texto. Muchas gracias.