



*Estudio de casos:*

## DOS FAMILIAS CON MIDD Y MELAS: NIVEL DE HETEROPLASMA DE LA MUTACIÓN m.3243A>G Y PRIMER REPORTE DE LA MUTACIÓN m.3271T>C EN COLOMBIA

**Palabras clave:** MELAS; Heteroplasmia; Enfermedad mitocondrial.

**Keywords:** MELAS; Heteroplasmy; Mitochondrial Disease.

---

**Jorge L Granadillo**

Médico, Magister en Genética Humana  
Universidad Nacional de Colombia  
– Sede Bogotá – Instituto de Genética  
Bogotá, D.C. – Colombia

**Manuel Luna**

Médico Neuropediatra, Magister en Bioética  
Hospital El Tunal  
– Departamento de Pediatría –  
Bogotá, D.C. – Colombia

**Leonardo F Hernández-Reina**

Médico Neurólogo  
Fundación Universitaria de Ciencias de la Salud  
– Hospital San José –  
Departamento de Neurología  
Bogotá, D.C. – Colombia

**Clara E. Arteaga-Díaz**

Médico, Magister en Genética Humana  
Universidad Nacional de Colombia  
– Sede Bogotá –  
Instituto de Genética  
Bogotá, D.C. – Colombia

**Juan Manuel Arteaga-Díaz**

Médico Endocrinólogo  
Universidad Nacional de Colombia  
– Sede Bogotá –  
Departamento de Medicina Interna  
Unidad de Endocrinología  
Bogotá, D.C. – Colombia

**Correspondencia:**

Clara E. Arteaga-Díaz  
Instituto de Genética,  
Universidad Nacional de Colombia  
– Sede Bogotá –  
Bogotá, D.C. – Colombia.  
Correo electrónico: cearteagad@unal.edu.co

## RESUMEN

El síndrome MELAS (encefalomiopatía mitocondrial, acidosis láctica y episodios similares a isquemia cerebral) y el síndrome MIDD (diabetes y sordera de herencia materna) son enfermedades mitocondriales producidas en la mayor parte de los casos por una misma mutación: la m.3243A>G que afecta al gen MT-TL1.

Se presentan los casos de dos familias con MELAS. En la primera se detecta la mutación m.3243A>G y se determina el nivel de heteroplasmia en sangre, orina y mucosa oral, con lo que se evidencia una gran variabilidad fenotípica: la paciente tenía una mayor heteroplasmia en los tres tejidos en comparación con sus familiares oligosintomáticos y la madre tenía una glicemia elevada e hipoacusia, sugiriendo un fenotipo cercano al MIDD. En la segunda familia se detecta la mutación m.3271T>C, siendo el primer caso reportado en Colombia.

Estos hallazgos sugieren que el MIDD y el MELAS, descritos frecuentemente como entidades distintas, hacen parte de una misma entidad con expresividad variable dependiendo en parte de la heteroplasmia.

Rev Case Rep. 2016; 2(1): 27–37

## INTRODUCCIÓN

El MELAS (por sus siglas en inglés) es una enfermedad multisistémica caracterizada por la presencia de encefalomiopatía mitocondrial, acidosis láctica y episodios similares a apoplejía. Usualmente el desarrollo psicomotor inicial es normal, con inicio típicamente en la niñez. Otras manifestaciones clínicas frecuentes son: ataxia, mioclonus, coma episódico, cardiomiopatía, retinopatía pigmentaria, oftalmople-

jía, diabetes, hirsutismo, dismotilidad gastrointestinal, migrañas y nefropatía.

Esta enfermedad es causada por mutaciones del ADN mitocondrial (mtADN), siendo la más frecuente la m.3243A>G, que afecta uno de los genes del tRNA de leucina mitocondrial (MT-TL1) (1,2). Las manifestaciones clínicas de dicha mutación son altamente heterogéneas y producen diferentes presentaciones clínicas, dentro de las cuales se encuentran el MELAS, la diabetes, la sordera de herencia materna (MIDD, por sus siglas en inglés) e incluso individuos oligosintomáticos y asintomáticos. Las causas de dicha variabilidad no se comprenden del todo, pero pueden estar involucrados factores ambientales o genéticos (3-6).

Debido a que la mutación responsable de estas enfermedades se encuentra en el genoma mitocondrial, a que cada célula tiene múltiples mitocondrias y cada mitocondria tiene múltiples copias de su ADN, es usual que no todas tengan dicha mutación y que la frecuencia de esta varíe de célula a célula, de tejido a tejido y de paciente a paciente. Este fenómeno se denomina heteroplasmia y es uno de los factores genéticos que se ha postulado como responsable de la variabilidad clínica (7).

Se han realizado estudios evaluando la asociación entre el nivel de heteroplasmia en diversos tejidos y las manifestaciones clínicas en pacientes con MELAS y sus familiares, encontrando mayores niveles de heteroplasmia en células de músculo esquelético seguido de células de sedimento urinario. Mayores niveles de heteroplasmia se relacionan con la presencia de ciertas características clínicas como miopatía, convulsiones, episodios similares a apoplejía, cardiomiopatía, talla baja y peso bajo (5).

Solo existe un estudio previo en Colombia que evaluó dos familias con MELAS y la mutación m.3243A>G, en este se analizó el comportamiento de la heteroplasmia en dichas familias y su relación con las manifestaciones clínicas (8).

Se presentan dos casos evaluados en el Instituto de Genética de la Universidad Nacional de Colombia en su sede Bogotá. El primero es una familia con MELAS y la mutación m.3243A>G, en la cual se evalúa el nivel de heteroplasmia en tres tejidos: sangre, sedimento urinario y mucosa oral; luego se hace un análisis de los resultados y su relación con el cuadro clínico de sus individuos. El segundo es otra familia con MELAS y la mutación m.3271T>C, siendo esta la primera familia reportada en Colombia con dicha mutación. Ambas familias firmaron un consentimiento informado durante su primera visita al instituto.

madamente a los tres años de edad comenzó a presentar marcha inestable y talla baja, pero con motricidad fina y lenguaje normal. A los cinco años sufrió el primer episodio convulsivo, caracterizado por pérdida de conciencia, cianosis, movimientos clónicos de la cabeza y pérdida súbita del tono en el resto del cuerpo. Seis meses después presentó su primer episodio similar a isquemia cerebral, caracterizado por crisis convulsiva asociada a pérdida de la visión. A los dos meses presentó un episodio similar y desde entonces persiste con pérdida parcial de la visión, hemiparesia izquierda, cefalea y vómito recurrentes. Actualmente se encuentra en tratamiento con levetiracetam, oxcarbacepina, carnitina y clonazepam.

Como antecedentes de importancia se encontró que la paciente es la tercera hija de una madre de 30 años, de padres no consanguíneos, de embarazo complicado solo por diabetes gestacional y con parto a término por cesárea.

La paciente presentó dificultad respiratoria del recién nacido, pero no requirió intubación ni estancia en la unidad de cuidados intensivos neonatales, y tuvo neurodesarrollo inicial aparentemente normal. Los aspectos

## INFORMACIÓN DE LOS PACIENTES

### Familia MELAS 1

La paciente era una niña de seis años al momento de la primera consulta, quien aproxi-

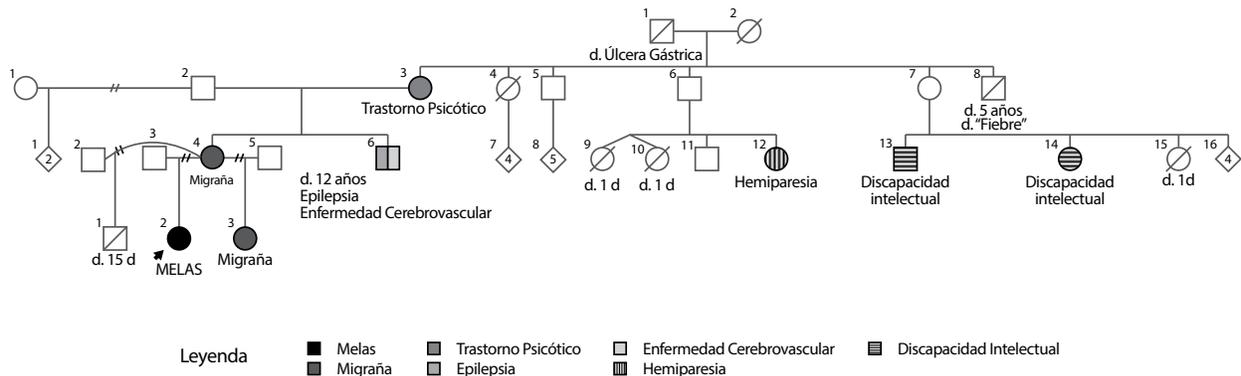


Fig 1. Árbol genealógico familia MELAS 1.

Fuente: Elaboración propia

relevantes de la historia familiar son los siguientes (Figura 1): madre con diabetes gestacional durante el embarazo; migraña en hermana media materna y posiblemente en la madre; tío materno con epilepsia a partir de los 11 años, quien al parecer falleció por una enfermedad cerebrovascular a los 12 años; prima materna en segundo grado con hemiparesia desde el nacimiento; abuela materna con historia de trastorno psiquiátrico no específico de dos años de duración caracterizado por agresividad y psicosis y ya resuelto; sin historia familiar de diabetes mellitus, cardiopatía, insuficiencia renal crónica o sordera.

Al examen físico se encontró paciente delgada (IMC=12), normocefálica, con pupilas isocóricas lentamente reactivas, movimientos oculares conservados, hipotonía generalizada con hemiparesia izquierda, pobre coordinación, ataxia de predominio truncal y reflejos rotulianos ++++/++++. Los paraclínicos eran notables por un lactato elevado (2.24 mmol/L); creatinina, nitrógeno ureico y glicemia en ayunas dentro de rangos normales. La resonancia nuclear magnética cerebral realizada durante el primer episodio similar a isquemia cerebral

reveló un infarto cerebral temporooccipital derecho, con espectroscopia que reportó en el área cortical temporooccipital derecha una disminución de los picos de N-acetilaspártato, colina y creatina y un pico dominante de lactato. El panel para condiciones protrombóticas (Factor VIII, factor C, proteína S, antitrombina III, resistencia a la proteína C, IgG e IgM) estuvo dentro de rangos normales.

La madre tenía 36 años al momento de la primera consulta y arrojó examen físico normal con índice de masa corporal (IMC) normal. La media hermana materna tenía 18 años al momento de la primera consulta e igualmente presentó examen físico e IMC normal.

Se determinó la presencia y nivel de heteroplasmia de la mutación m.3243A>G mediante el Sistema de Mutación Refractario a la Amplificación con PCR cuantitativa (ARMS-qPCR, por sus siglas en inglés) según lo descrito por Wang et al. (9). Las muestras evaluadas fueron sedimento urinario, frotis de mucosa oral y sangre periférica; los resultados de dichas pruebas se muestran en la Tabla 1. Adicionalmente, se realizaron otros exámenes complementarios, los cuales se muestran en la Tabla 2.

Tabla 1. Resultados de ARMS-qPCR para la mutación m.3243A>G en la familia MELAS 1.

Individuo	Muestra	Heteroplasmia (%)	Interpretación
Paciente	Sangre	80	+
	Orina	97	+
	Mucosa oral	90	+
Madre	Sangre	16	+
	Orina	68	+
	Mucosa oral	15	+
Hermana	Sangre	47	+
	Orina	40	+
	Mucosa oral	57	+

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 2. Exámenes complementarios en familia MELAS 1.

Individuo	Glicemia basal (mg/dL)	Creatinina en sangre (mg/dL)	Nitrógeno Ureico (mg/dL)	Tasa de filtración glomerular (mL/min/1.73 m <sup>2</sup> )	Audiometría Tonal	EKG
Paciente	81	0.331	24.9	143.5	Normal	Normal
Madre	108	1.11	17.1	63	Hipoacusia bilateral leve	Normal
Hermana	88	0.91	19.6	92	Normal	Bloqueo de rama derecha

Fuente: Elaboración propia.

### Familia MELAS 2

El paciente era un hombre de 24 años al momento de la primera consulta, quien desde los 18 años de edad inició una historia de múltiples episodios similares a isquemia cerebral asociados a epilepsia focal; la primera vez se presentó con movimientos mioclónicos del miembro superior izquierdo. Además, el paciente tenía una historia de migrañas recurrentes —que incluso habían requerido hospitalización—, disminución de la agudeza visual, vómito recurrente asociado a hernia hiatal,

enfermedad por reflujo gastroesofágico e infección por *Helicobacter pylori*; actualmente en tratamiento con clonazepam, levetiracetam, coenzima Q10 y L-carnitina.

Como antecedentes de importancia se encontró que el paciente es el segundo hijo de madre de 34 años, de padres no consanguíneos, de embarazo y parto sin complicaciones y con neurodesarrollo inicial normal. La historia familiar es notable por la existencia de familiares maternos con diabetes mellitus, migraña y sordera (Figura 2). La madre del paciente tenía historia de enfermedad varico-

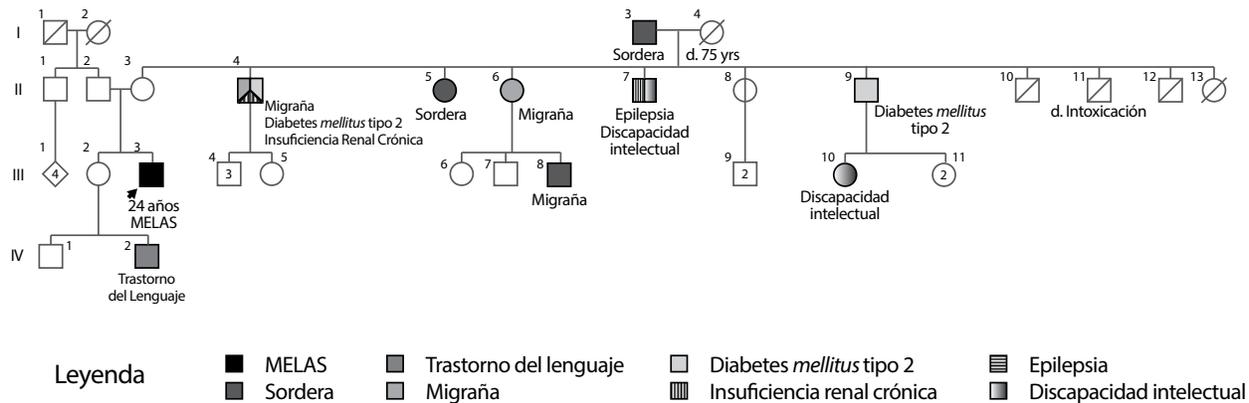


Fig 2. Árbol genealógico familia MELAS 2.

Fuente: Elaboración propia

sa de miembros inferiores y carcinoma gástrico a los 50 años de edad.

Al examen físico se encontró paciente de constitución delgada, alerta y orientado, pero con leve bradipsiquia y ánimo tendiente a plano. Por lo demás el examen neurológico fue normal, sin déficits motores o sensitivos notables. Los paraclínicos mostraron glucosa en ayunas, creatinina y nitrógeno ureico en sangre normales; ecocardiograma transesofágico sin evidencia de cardiopatía; resonancias cerebrales con múltiples infartos cerebrales, de predominio occipitotemporal basal y medial derecho; múltiples electroencefalogramas anormales que reportaron actividad lenta en hemisferio derecho y descargas polipunta y onda lenta generalizadas; ácido láctico en sangre elevado antes y después de la actividad física y potenciales evocados auditivos compatibles con hipoacusia neurosensorial periférica bilateral leve. Al paciente se le había realizado un panel de mutaciones mitocondriales en sangre periférica mediante polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción (RFLP por sus siglas en inglés), reportando la presencia de la mutación m.3271T>C relacionada con MELAS y descartando la mutación m.3243A>G, entre otras.

## DISCUSIÓN

En el presente artículo se presenta el caso de dos pacientes con MELAS asociado a dos mutaciones diferentes, ambas transiciones sujetas al fenómeno de heteroplasmia y encontradas en el gen MT-TL1, el cual hace parte del ADN mitocondrial.

En primer lugar se describe una familia con la mutación m.3243A>G, cuyo árbol genealógico evidencia la ya conocida gran heteroge-

neidad fenotípica de esta mutación y muestra unos individuos con manifestaciones leves (madre y media hermana materna) y otros con MELAS, el cuadro más severo (la paciente y muy probablemente su tío materno). Aun cuando el tamaño de la muestra es pequeño para determinar si existe una correlación entre el nivel de heteroplasmia y las manifestaciones clínicas, es evidente que en este caso la paciente presenta un nivel de heteroplasmia en los tres tejidos analizados mucho mayor que sus familiares levemente afectados, lo cual apoya la hipótesis de que el nivel de heteroplasmia está relacionado con la cantidad y severidad de las manifestaciones clínicas. Tanto la madre como la paciente presentaron niveles de heteroplasmia mayores en el sedimento urinario y menor en sangre, pero en la media hermana esto no ocurrió, es decir, en ella el tejido más afectado fue la mucosa oral, siguiéndole la sangre y el sedimento urinario.

Estudios previos muestran que, de estos tejidos, el sedimento urinario es el que suele tener mayor heteroplasmia, seguido de la mucosa oral y la sangre periférica. La causa de esto no es totalmente conocida, pero se postula que se debe probablemente a dos factores: la tasa de división celular y el umbral mutacional del tejido; p. ej., los tejidos con mayor gasto energético muestran alteraciones con menores cargas de mutaciones. Los leucocitos periféricos tienen un alto gasto energético y además se dividen rápidamente, por lo que aquellos con una alta carga mutacional serían particularmente sensibles a la disfunción mitocondrial secundaria a esta transición y estarían así sometidos a una fuerte selección negativa, lo cual resultaría en una menor heteroplasmia con el tiempo; por otro lado, el sedimento urinario está constituido por células transicionales de rápida división celular pero con menor requerimiento energético, lo

que les brinda mayor tolerancia a la disfunción mitocondrial y les permite aumentar su carga mutacional **(5,6)**.

Otros estudios han abordado el tema de la existencia de un efecto umbral en las enfermedades secundarias a mutaciones mitocondriales; es decir, un nivel de heteroplasmia a partir del cual se desarrollan manifestaciones clínicas. Se ha propuesto que este fenómeno se da debido a que las mitocondrias en condiciones normales tienen más mARNs, tARNs y cadenas respiratorias activas de las que se necesitan para una respiración normal, lo que le permite a los tejidos tolerar una carga de mutaciones mitocondriales deletéreas hasta cierto porcentaje; dicho porcentaje es el umbral **(10)**. El mejor ejemplo de esto es la mutación m.8993T>G, en la cual individuos con heteroplasmia menor al 60% —en músculo— usualmente son asintomáticos o tienen solamente una retinopatía pigmentaria leve o migrañas; individuos con heteroplasmas entre 70% y 90% desarrollan el síndrome NARP —neuropatía, ataxia y retinitis pigmentosa— e individuos con heteroplasmas mayores al 90% desarrollan la enfermedad de Leigh, un trastorno neurodegenerativo y fatal **(11)**.

En el caso del MELAS, MIDD y la mutación m.3243A>G, la correlación no es tan clara y no existe un umbral preciso, pero diversas investigaciones han encontrado un umbral fenotípico para MELAS que se encuentra entre el 60% y 90% de heteroplasmia en músculo **(10)**, lo que implica un amplio solapamiento entre individuos asintomáticos, oligosintomáticos, con MIDD y con MELAS. No se encuentran estudios que busquen determinar el valor del umbral fenotípico de esta mutación en otros tejidos.

Por otro lado, es importante resaltar que las manifestaciones fenotípicas de la mutación en cuestión no son estáticas y pueden

variar a lo largo del tiempo. En este orden de ideas, cabe analizar el caso de la madre de la niña, cuyo examen físico fue completamente normal pero en quien se encontró glucosa alterada en ayunas e hipoacusia leve; la progresión de estas alteraciones podrían llevarla a diabetes y sordera de herencia materna, cuadro que hace parte del espectro clínico de esta mutación. De hecho, este individuo presentó diabetes gestacional durante el embarazo de la paciente, situación reportada previamente por Laloi-Michelin *et al.* en un grupo de pacientes con MIDD en los que aproximadamente el 16% tuvo diabetes gestacional como presentación inicial **(12)**.

Aun cuando la mutación m.3243A>G no parece ser una causa frecuente de diabetes gestacional **(13)**, este hallazgo muestra que la disfunción mitocondrial podría jugar un papel en la fisiopatogenia de este tipo de diabetes, pues un estudio reciente muestra reducción en la expresión de proteínas mitocondriales y alteración en proteínas de señalización con calcio en el músculo esquelético de mujeres con diabetes gestacional **(14)**.

Por otro lado, un análisis más detallado de la audiometría de esta paciente revela que la hipoacusia que presenta compromete mayormente a las frecuencias más altas (6000-8000Hz), lo cual es un rasgo común de la sordera secundaria a esta mutación que compromete inicialmente a este tipo de frecuencias para progresar luego a todas. En este sentido, la hipoacusia en MIDD tiene un curso similar a la presbiacusia, con la excepción de que esta última empieza a una edad mucho más tardía; sin embargo, la hipoacusia en pacientes con MIDD suele aparecer luego de la diabetes **(15)**, lo que no es el caso en esta paciente y corrobora que la sordera no es secundaria a la hiperglicemia crónica sino probablemente a la disfunción mitocondrial

subyacente. Estos hallazgos podrían sugerir que el MIDD y el MELAS, descritos frecuentemente como entidades distintas, hacen parte de una misma entidad con expresividad variable dependiendo en parte de la heteroplasmia.

Otro importante hallazgo fue la presencia de un bloqueo de rama derecha en la media hermana de la paciente, en quien el examen físico fue también completamente normal. Siendo el miocardio un tejido de alto gasto energético y dependiente de la B-oxidación de ácidos grasos —la cual ocurre en la mitocondria— como fuente de energía, no es de extrañar que el corazón esté a menudo afectado en las enfermedades mitocondriales. Aun cuando la afectación más frecuente suele ser una miocardiopatía o incluso el síndrome de Wolf-Parkinson-White (WPW), un reporte de Hinaro *et al.* registró una prevalencia del 6% de bloqueos de conducción cardíaca en pacientes con MELAS (16) y un estudio japonés reveló una prevalencia del 10% de trastornos de conducción cardíaca en pacientes diabéticos con la mutación m.3243A>G (17). Del mismo modo, un estudio holandés obtuvo una prevalencia del 25% de anomalías electrocardiográficas en individuos asintomáticos portadores de esta mutación mitocondrial (6).

Lo anterior resalta la importancia del diagnóstico molecular de los familiares maternos de los individuos afectados, al igual que el estrecho seguimiento clínico que requieren aquellos que presenten la mutación así sus síntomas sean leves e incluso inexistentes. No existe un consenso acerca del manejo de los familiares maternos asintomáticos u oligosintomáticos, pero se considera pertinente que periódicamente sean evaluados por audiología y oftalmología y les sean realizados los siguientes paraclínicos: electrocardiogra-

ma, ecocardiograma, glicemia, insulina en sangre, péptido C en ayunas y hemoglobina A1C, todo esto con el fin de detectar tempranamente estas patologías y realizar una pronta intervención.

En segundo lugar, se presentó el caso de la familia MELAS 2 con la mutación m.3271T>C, la cual es la segunda más frecuente y responsable de aproximadamente el 7.5% de los casos de MELAS (2); también se ha reportado como causante de MIDD (14,18). Hasta donde se tiene conocimiento, este es el primer caso reportado en Colombia con esta mutación.

En esta familia no se realizó la prueba molecular a los familiares maternos ni se determinó el nivel de heteroplasmia debido a que la metodología utilizada no brinda esa información, pero el árbol genealógico reporta múltiples individuos con diabetes mellitus, sordera y migraña, manifestaciones que muy probablemente están relacionadas con la mutación y reflejan igualmente la heterogeneidad fenotípica de las mutaciones en el gen MT-TL1.

Es interesante el caso del individuo II-4, el cual presenta diabetes mellitus tipo 2, migraña e insuficiencia renal crónica. Existen reportes de individuos con la mutación m.3243A>G y patologías renales, incluidas la glomeruloesclerosis focal y segmentaria y la nefropatía tubulointersticial (1); de hecho, los individuos con MIDD tienen mayor riesgo de nefropatía diabética en comparación a aquellos con diabetes mellitus común, como se explicó previamente, probablemente porque las células de los túbulos renales tienen un alto gasto energético (19). Es importante, en futuros estudios, determinar la presencia y nivel de heteroplasmia en los diferentes miembros de esta familia, pues hasta el momento no se pudo encontrar algún estudio que evaluara la relación

entre el nivel de heteroplasma de la mutación m.3271T>C y sus manifestaciones clínicas.

Adicionalmente, vale resaltar que ambos pacientes presentaron isquemias cerebrales que comprometían regiones posteriores de la corteza cerebral. Esto es clásico en el MELAS y la razón de esta distribución se desconoce actualmente.

Betts *et al.* realizaron un estudio molecular y neuropatológico en dos individuos con MELAS, en los cuales encontraron evidencia de disfunción mitocondrial en los vasos sanguíneos de las leptomeninges y la corteza cerebral, pero dicha disfunción no se circunscribió a una región cerebral específica. Los autores en dicho trabajo propusieron la hipótesis de que los episodios de isquemia cerebral están relacionados no solamente a la disfunción mitocondrial de los vasos sanguíneos, sino también a un fenómeno relacionado con las migrañas —común en pacientes con MELAS— y denominado depresión cortical propagada (DCP).

La DCP es una onda de despolarización cortical que se origina en la región occipital y se distribuye luego anteriormente sobre la corteza cerebral, seguida inmediatamente de un periodo de inhibición de la actividad eléctrica. Este fenómeno se acompaña de cambios en el flujo vascular cortical, presentando inicialmente una hiperemia de aproximadamente tres a cuatro minutos de duración, seguido de una leve hipoperfusión por aproximadamente una a dos horas. Esta hipoperfusión, en conjunto con la disfunción mitocondrial subyacente, predispondría a isquemias cerebrales en las regiones posteriores de la corteza cerebral (20).

En conclusión, los casos expuestos corroboran la gran variabilidad clínica de las mutaciones del gen MT-TL1 encontradas en

estas familias, sobre todo en el caso de la mutación m.3243A>G en la familia MELAS 1 cuya heteroplasma podría explicar su amplio espectro fenotípico dentro del cual el MELAS y el MIDD están incluidos

## FINANCIACIÓN

El estudio fue financiado por la “Convocatoria para el estímulo a la investigación a través de proyectos y trabajos de investigación en los Posgrados de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Colombia - Apoyo a la Investigación en Salud - 2012”.

## CONFLICTO DE INTERESES

Ninguno declarado por los autores.

## REFERENCIAS

1. **Hirano M, Pavlakis SG.** Mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis, and stroke-like episodes (MELAS): current concepts. *J Child Neurol.* 1994;9(1):4-13. <http://doi.org/ffwh5f>.
2. **DiMauro S, Hirano M.** MELAS. In: Pagon RA, Adam MP, Ardinger HH, Wallac SE, Amemiya A, Bean LJH, et al. editors. GeneReviews. Seattle: University of Washington; 2001 [updated 2013 Nov 21; cited 2016 AprApr 28]. Available from: <http://goo.gl/DWVjAQ>.
3. **van den Ouweland JM, Lemkes HH, Ruitenbeek W, Sandkuijl LA, de Vijlder MF, Struyvenberg PA, et al.** Mutation in mitochondrial tRNA(Leu)(UUR) gene in a large pedigree with maternally transmitted type II

- diabetes mellitus and deafness. *Nat. Genet.* 1992;1(5):368-71. <http://doi.org/fnhkqj>.
4. **Sproule DM, Kaufmann P.** Mitochondrial encephalopathy, lactic acidosis, and strokelike episodes: basic concepts, clinical phenotype, and therapeutic management of MELAS syndrome. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2008;1142:133-58. <http://doi.org/c584zj>.
  5. **Ma Y, Fang F, Yang Y, Zou L, Zhang Y, Wang S, et al.** The study of mitochondrial A3243G mutation in different samples. *Mitochondrion.* 2009;9(2):139-43. <http://doi.org/b5rtg7>.
  6. **de Laat P, Koene S, van den Heuvel LP, Rodenburg RJ, Janssen MC, Smeitink JA.** Clinical features and heteroplasmy in blood, urine and saliva in 34 Dutch families carrying the m.3243A > G mutation. *J. Inherit. Metab. Dis.* 2012;35(6):1059-69. <http://doi.org/bjn8>.
  7. **Dimauro S, Davidzon G.** Mitochondrial DNA and disease. *Ann. Med.* 2005;37(3):222-32. <http://doi.org/cc6dfx>.
  8. **Parra-Marin MV, Cornejo-Ochoa JW, Duque-éVélez CE, Ruiz-Linares A, Bedoya-Berrio G.** Comportamiento de la mutación mtDNA A3243G en dos familias antioqueñas de pacientes diagnosticados con el síndrome MELAS. *Iatreia.* 2010;23(1):21-33.
  9. **Wang J, Venegas V, Li F, Wong LJ.** Analysis of Mitochondrial DNA Point Mutation Heteroplasmy by ARMS Quantitative PCR. In: *Current Protocols in Human Genetics*. New York: John Wiley & Sons Inc.; 2001.
  10. **Rossignol R, Faustin B, Rocher C, Malgat M, Mazat JP, Letellier T.** Mitochondrial threshold effects. *Biochem. J.* 2003;370(3):751-62. <http://doi.org/c9tnsb>.
  11. **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 strokelike episodes: prevalence of the mutation in an adult population. *Am. J. Hum. Genet.* 1998;63(2):447-54. <http://doi.org/b7tp8g>.
  12. **Guillausseau PJ, Dubois-Laforgue D, Massin P, Laloi-Michelin M, éBellanné-Chantelot C, Gin H, et al.** Heterogeneity of diabetes phenotype in patients with 3243 bp mutation of mitochondrial DNA (Maternally Inherited Diabetes and Deafness or MIDD). *Diabetes Metab.* 2004;30(2):181-6. <http://doi.org/cnm7kc>.
  13. **Malecki M, Klupa T, Wanic K, Frey J, Cyganek K, Sieradzki J.** Search for mitochondrial A3243G tRNA(Leu) mutation in Polish patients with type 2 diabetes mellitus. *Med. Sci. Monit.* 2001;7(2):246-50.
  14. **Murphy R, Turnbull DM, Walker M, Hattersley AT.** Clinical features, diagnosis and management of maternally inherited diabetes and deafness (MIDD) associated with the 3243A>G mitochondrial point mutation. *Diabet. Med.* 2008;25(4):383-99. <http://doi.org/dnnpjh>.
  15. **Guillausseau PJ, Massin P, Dubois-LaForgue D, Timsit J, Virally M, Gin H, et al.** Maternally inherited diabetes and deafness: a multicenter study. *Ann. Intern. Med.* 2001;134(9 Pt 1):721-8. <http://doi.org/bjn9>.
  16. **Katulanda P, Groves CJ, Barrett A, Sheriff R, Matthews DR, McCarthy MI, et al.** Prevalence and clinical characteristics of maternally inherited diabetes and deafness caused by the mt3243A > G mutation in young adult diabetic subjects in Sri Lanka. *Diabet. Med.* 2008;25(3):370-4. <http://doi.org/cngqtj>.
  17. **Suzuki S, Oka Y, Kadowaki T, Kanatsuka A, Kuzuya T, Kobayashi M, et al.** Clinical features of diabetes mellitus with the mitochondrial DNA 3243 (A-G) mutation in Japanese: maternal inheritance and mitochondria-related complications. *Diabetes Res. Clin. Pract.* 2003;59(3):207-17. <http://doi.org/ccr7d8>.
  18. **Tsukuda K, Suzuki Y, Kameoka K, Osawa N, Goto Y, Katagiri H, et al.** Screening of patients

with maternally transmitted diabetes for mitochondrial gene mutations in the tRNA[Leu(UUR)] region. *Diabet Med.* 1997;14(12):1032-7. <http://doi.org/b5bhs9>.

19. **Massin P, Dubois-Laforgue D, Meas T, Laloi-Michelin M, Gin H, Bauduceau B, et al.** Retinal and renal complications in patients with a mutation of mitochondrial DNA at position 3,243 (maternally inherited diabetes and deafness). A case-control study. *Diabetologia.* 2008;51(9):1664-70. <http://doi.org/cqtwb5>.
20. **Saker PJ, Hattersley AT, Barrow B, Hammersley MS, Horton V, Gillmer MD, et al.** UKPDS 21: low prevalence of the mitochondrial transfer RNA gene (tRNA(Leu(UUR))) mutation at position 3243bp in UK Caucasian type 2 diabetic patients. *Diabet. Med.* 1997;14(1):42-5. <http://doi.org/bmwg47>.