

J. Arenas  
M. A. Martín

# Intolerancias metabólicas al ejercicio

Laboratorio de enfermedades  
mitocondriales y neurometabólicas  
Centro de Investigación  
Hospital Universitario 12 de Octubre  
Madrid

Las intolerancias al ejercicio (IE) constituyen una causa frecuente de consulta médica, aunque a menudo resulta difícil llegar a un diagnóstico etiológico. Existe, sin embargo, un grupo de enfermos en los que la IE se debe a una disfunción metabólica. La enfermedad de McArdle (glucogenosis tipo V) se produce por un déficit de fosforilasa muscular. La prueba de ejercicio isquémico muestra una curva de lactato plana. Las mutaciones más frecuentes en el gen *PYGM* (gen de la miofosforilasa) en la población española son R49X y W797R. El déficit de carnitina palmitil transferasa (CPT) II da lugar a episodios recurrentes de mioglobinuria provocados por el ejercicio, el frío, la fiebre o el ayuno. El diagnóstico se basa en la demostración de una baja actividad de la enzima en el músculo. La mutación más prevalente en el gen *CPT2* es S113L. El déficit de mioadenilato desaminasa (MADA) produce cuadros de intolerancia al ejercicio moderada. La prueba de ejercicio isquémico muestra una curva de amonio plana. La mayor parte de los enfermos con déficit de MADA presentan la mutación Q12X en el gen *AMPD1*. Los déficit de la cadena respiratoria mitocondrial (CRM) se encuentran asociados en numerosos casos con IE. Esta manifestación clínica se encuentra a menudo ensombrecida por cuadros más graves. Ciertas mutaciones en los genes del ADN mitocondrial (ADNmt) que codifican proteínas que forman parte de los complejos I, III y IV, o en genes que codifican ARN de transferencia (ARNt) producen cuadros puros de IE. En ciertos enfermos que presentan cuadros de mioglobinuria asociados a tratamiento con hipolipemiantes orales se ha demostrado que la miotoxicidad se debe a una interferencia con los mecanismos de ensamblaje del complejo IV de la CRM.

#### Palabras clave:

Intolerancia al ejercicio. Mioglobinuria. Cadena respiratoria mitocondrial. Miofosforilasa. Carnitina palmitil transferasa. Miadenilato desaminasa.

*Neurología* 2003;18(6):291-302

## Metabolic intolerance to exercise

Exercise intolerance (EI) is a frequent cause of medical attention, although it is sometimes difficult to come to a final diagnosis. However, there is a group of patients in whom EI is due to a metabolic dysfunction. McArdle's disease (type V glucogenosis) is due to myophosphorylase (MPL) deficiency. The ischemic exercise test shows a flat lactate curve. The most frequent mutations in the *PYGM* gene (MPL gene) in Spanish patients with MPL deficiency are R49X and W797R. Carnitine palmitoyltransferase (CPT) II deficiency is invariably associated to repetitive episodes of myoglobinuria triggered by exercise, cold, fever or fasting. The diagnosis depends on the demonstration of CPT II deficiency in muscle. The most frequent mutation in the *CPT2* gene is the S113L. Patients with muscle adenylate deaminase deficiency usually show either a mild myopathy or no symptom. The diagnosis is based on the absence of enzyme activity in muscle and the lack of rise of ammonia in the forearm ischemic exercise test. The mutation Q12X in the *AMPD1* gene is strongly associated with the disease. Exercise intolerance is a common complaint in patients with mitochondrial respiratory chain (MRC) deficiencies, although it is often overshadowed by other symptoms and signs. Only recently we have come to appreciate that exercise intolerance can be the sole presentation of defects in the mtDNA, particularly in complex I, complex III, complex IV, or in some tRNAs. In addition, myoglobinuria can be observed in patients under statin treatment, particularly if associated with fibrates, due to an alteration in the assembly of the complex IV of the MRC.

#### Key words:

Exercise intolerance. Myoglobinuria. Mitochondrial respiratory chain. Myophosphorylase. Carnitine palmitoyltransferase. Myoadenylate deaminase.

## BIOENERGÉTICA DEL EJERCICIO

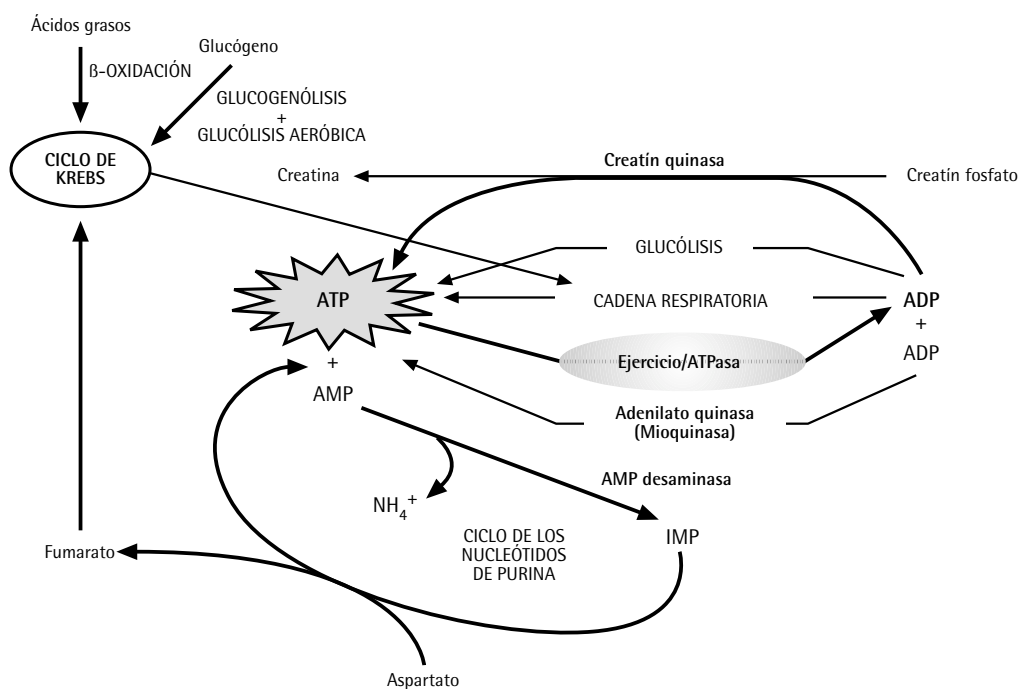
El aumento de los requerimientos de adenosín trifosfato (ATP) que se produce en el sistema osteomuscular duran-

Correspondencia:  
Joaquín Arenas  
Hospital Universitario 12 de Octubre  
Av. de Córdoba, s/n  
28041 Madrid  
Correo electrónico: jarenas@h12o.es

Recibido el 15-2-03  
Aceptado el 18-2-03

te el ejercicio físico trae consigo un incremento de su síntesis a partir de adenosín difosfato (ADP)<sup>1</sup>. Para ello la célula muscular puede poner en marcha alguno de los siguientes procesos metabólicos (fig. 1): *a) fosforilación oxidativa mitocondrial*, utilizando como sustratos el glucógeno almacenado en el músculo, la glucosa sanguínea y los ácidos grasos libres (AGL) del plasma; *b) glucólisis anaeróbica*, que conduce a la producción de lactato; *c) activación de la creatín quinasa* (CK), enzima que cataliza la formación de ATP a partir de la reserva muscular de fosfocreatina, un compues-

cas más lentas que la tasa de utilización del ATP durante el ejercicio. Consecuentemente, la disponibilidad de sustratos metabólicos y la velocidad a la que éstos pueden ser metabolizados son los factores más importantes que limitan el ejercicio muscular. En reposo, el músculo utiliza predominantemente ácidos grasos de cadena larga, representando un 70% de los requerimientos energéticos en esta fase<sup>3,4</sup>. En el otro extremo del espectro, la energía requerida para un ejercicio de gran intensidad, es decir, aquel cercano al consumo máximo de oxígeno ( $VO_{2\text{ máx}}$ ) en el ejercicio dinámico,



**Figura 1** Rutas metabólicas involucradas en la obtención de energía durante el ejercicio físico. ATP: adenosín trifosfato; ADP: adenosín difosfato; AMP: adenosín monofosfato; IMP: inosín monofosfato.

to con enlace de alta energía, y *d) reacción de la adenilato quinasa* (AK), enzima que convierte dos moléculas de ADP en una molécula de ATP y una molécula de adenosín monofosfato (AMP). Esta reacción se encuentra acoplada a la catalizada por la *mioadenilato desaminasa* (MADA), que convierte el AMP formado en inosín monofosfato (IMP). En los primeros instantes tras el comienzo del ejercicio físico, el ATP puede regenerarse a partir de las reservas de fosfocreatina y ADP por acción de la CK. La AK es una fuente adicional de regeneración de ATP, produciéndose amonio por la MADA procedente de la desaminación del AMP. La MADA, al formar parte del ciclo de los nucleótidos de purina, produce fumarato, que activa el ciclo de Krebs<sup>2</sup>. Si el ejercicio continúa, la refosforilación de ADP requiere el consumo de otros sustratos, que son metabolizados mediante rutas bioquími-

o cercano a la máxima generación de fuerza en el ejercicio isométrico, procede de la glucólisis anaeróbica<sup>3,5</sup>, en particular cuando ocurre un cambio repentino de actividad con una aceleración rápida hacia el ejercicio máximo<sup>1</sup>.

Durante el ejercicio submáximo, el tipo de combustible utilizado depende de la intensidad relativa del ejercicio<sup>1</sup>, de manera que a intensidades bajas, por debajo del 50% de la  $VO_{2\text{ máx}}$ , la fuente principal de energía es la glucosa sanguínea y los AGL, a intensidades más altas aumenta la proporción de energía procedente de la oxidación de los carbohidratos y el glucógeno se convierte en un combustible importante y a una intensidad del 70 al 80% de la  $VO_{2\text{ máx}}$ , el metabolismo aeróbico del glucógeno es una fuente energética crucial, de forma que la fatiga comienza cuando los de-

pósitos de glucógeno se han agotado<sup>6</sup>. Durante el *ejercicio moderado*, que corresponde al ejercicio submáximo con tasas entre un 40–60 % de la  $VO_{2\text{ máx}}$ , el sustrato metabolizado varía con la duración del ejercicio, de forma que se produce un aumento gradual en la utilización de AGL respecto a la utilización de glucosa, hasta que en el transcurso de pocas horas la oxidación de los lípidos se convierte en la fuente principal de energía<sup>7</sup>. Cuando esto ocurre, el ejercicio es totalmente aeróbico, y por tanto la acumulación de lactato y piruvato en sangre periférica es mínima. Debido a que la disponibilidad de AGL procedentes del tejido adiposo es prácticamente ilimitada, una persona normal puede desarrollar un ejercicio dinámico moderado durante varias horas<sup>1</sup>. Además de la duración y la intensidad del ejercicio, los siguientes factores también afectan a la proporción relativa de glucosa y AGL que son utilizados: la concentración sanguínea de AGL, el flujo sanguíneo muscular, la concentración de glucógeno muscular y el estado de ayuno o ingesta<sup>4,8</sup>.

## ALTERACIONES METABÓLICAS QUE SE MANIFIESTAN COMO INTOLERANCIAS AL EJERCICIO

Las intolerancias al ejercicio (IE) constituyen una causa frecuente de consulta médica, aunque en bastantes ocasiones resulta difícil llegar a un diagnóstico etiológico. Sin embargo, en un grupo de enfermos la IE se produce como consecuencia de una disfunción en algunas de las enzimas que intervienen en las rutas metabólicas implicadas en la obtención de la energía necesaria para la contracción muscular. Las enzimopatías que cursan con este síntoma como principal característica clínica se pueden clasificar en:

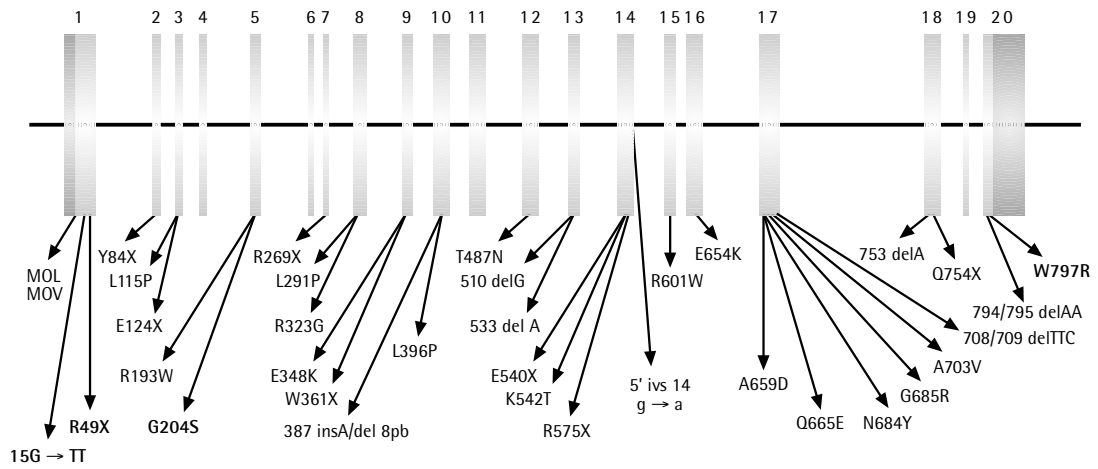
- Glucogenosis musculares: principalmente déficit de *miofosforilasa* (MPL)<sup>1,9,10</sup> y déficit de *fosfofructoquinasa* (PFK) muscular<sup>1,11</sup>. Otras glucogenosis musculares que cursan con IE son deficiencias en ciertas enzimas de la glucólisis distal (déficit de *fosfogliceratoquinasa*, *fosfogliceratomutasa* y *lactato deshidrogenasa*)<sup>1</sup>.
- Alteración del transporte mitocondrial de ácidos grasos de cadena larga: déficit de *carnitina palmitil transferasa* (CPT) II en sistema osteomuscular<sup>12,13</sup>.
- Alteración del ciclo de los nucleótidos de purina: déficit de *mioadenilato desaminasa*<sup>14,15</sup>.
- Trastornos en los complejos enzimáticos de la cadena respiratoria mitocondrial que se asocian a IE como síntoma prominente<sup>16</sup>.

## DEFICIENCIA DE MIOFOSFORILASA. GLUCOGENOSIS TIPO V. ENFERMEDAD DE McARDLE

La miofosforilasa es la isoenzima de la glucógeno fosforilasa que se expresa en el sistema osteomuscular maduro y se encarga de la degradación del glucógeno almacenado en la fibra muscular. En miocitos en cultivo y en fibras musculares regenerativas de pacientes con deficiencia de MPL<sup>17</sup>, se ha demostrado la existencia de actividad fosforilasa debida

a la presencia de una isoenzima denominada «fetal»<sup>18</sup>. La MPL en su forma activa o *fosforilasa α*, es un homodímero ( $M_2$ ) que se encuentra regulado alostéricamente por diversos efectores, destacando su activación por AMP. Además, la enzima se regula mediante una cascada enzimática de señalización intracelular.

En 1951, Brian McArdle<sup>9</sup> describió por primera vez la enfermedad (OMIM: 232600), identificándose la alteración enzimática que causaba la enfermedad en 1959<sup>19,20</sup>. El inicio se produce habitualmente en la infancia, si bien el diagnóstico se realiza en la segunda o tercera década de la vida debido a que los calambres y la mioglobinuria raramente se producen antes de los 10 años de edad. El diagnóstico después de los 50 años es raro<sup>1</sup>. Se manifiesta con mialgia, fatiga prematura y rigidez o debilidad de los músculos utilizados, síntomas que disminuyen con el reposo<sup>1,21</sup>. El tipo de ejercicio que precipita estos síntomas es breve, de alta intensidad (contracción isométrica), tal como empujar un coche parado, llevar grandes pesos, esprintar, o un ejercicio algo menos intenso pero de mayor duración (aeróbico), como subir por un monte, andar sobre arena, nadar, subir escaleras o montar en bicicleta. El ejercicio moderado, tal como andar sobre una calle sin desnivel, puede llevarse a cabo sin problemas por la mayoría de los pacientes. Una característica importante es el fenómeno de «segunda entrada» (*second wind*)<sup>22</sup>, es decir, si el paciente descansa brevemente cuando comienza la mialgia y la rigidez (fase de adaptación), éste puede continuar el ejercicio durante más tiempo (fase de segunda entrada)<sup>21</sup>. Cuando el paciente excede los límites de ejercicio que le permite la enfermedad, sufrirá calambres dolorosos que pueden llegar a producir mioglobinuria (alrededor de la mitad de los pacientes), pudiendo causar fracaso renal si las crisis son graves. Éste es un rasgo diferencial respecto a los enfermos con deficiencia de CPT muscular<sup>23</sup> donde la presencia de mioglobinuria es muy frecuente. En algunos pacientes la presentación clínica está dominada por la debilidad muscular permanente que afecta a los músculos proximales más que a los distales. La pérdida muscular es rara y solamente se ha observado en pacientes mayores<sup>24,25</sup>. También se han descrito casos muy graves con déficit de MPL de presentación neonatal<sup>26–28</sup>. Debido a que no existen problemas neurológicos en la mayoría de los pacientes jóvenes, sus quejas se consideran a menudo como «psicológicas» o mal intencionadas (evitar realizar el servicio militar, no realizar ejercicios gimnásticos en el colegio, etc.)<sup>29</sup>. Tras la obligación a realizar ejercicio en este tipo de lugares, los pacientes pueden desembocar en una crisis de mioglobinuria grave. Los niveles séricos de CK suelen estar elevados de forma persistente en la mayoría de los pacientes, un hallazgo diferencial respecto al déficit de CPT, donde la CK en períodos intercríticos se encuentra habitualmente dentro del intervalo de valores normales<sup>1,30</sup>. La prueba funcional de ejercicio isquémico en el antebrazo es de gran utilidad en la orientación diagnóstica de estas enfermedades, siempre y cuando su realización sea adecuada. En los casos con enfermedad McArdle no se produ-



**Figura 2** Distribución de las mutaciones en el gen PYGM asociadas con enfermedad de McArdle. Los rectángulos representan a los exones (numerados). En negrita se muestran las tres mutaciones más frecuentes en la población española.

**Tabla 1** Mutaciones en el gen PYGM en 54 pacientes españoles con enfermedad de McArdle's

Nº de pacientes	Sexo (H/M)	Genotipo	
		Alelo 1	Alelo 2
21	11/10	R49X	R49X
5	3/2	R49X	G204S
3	3/0	R49X	W797R
2	1/1	R49X	T487N
2	1/1	R49X	533 delA
1	0/1	R49X	A703V
1	0/1	R49X	R601W
1	0/1	R49X	Q754X
1	0/1	R49X	E348K
1	1/0	R49X	753 delA
2	2/0	G204S	G204S
1	1/0	G204S	N684Y
6	4/2	W797R	W797R
1	1/0	A659D	A659D
		R193W	R193W
1	1/0	y	y
		794/795 delAA	794/795 delAA
1	1/0	E124X	E124X
2	1/1	753 delA	387 insA/del 8bp
1	0/1	5' ivs14 g→a	5' ivs14 g→a
1	1/0	L115P	L115P

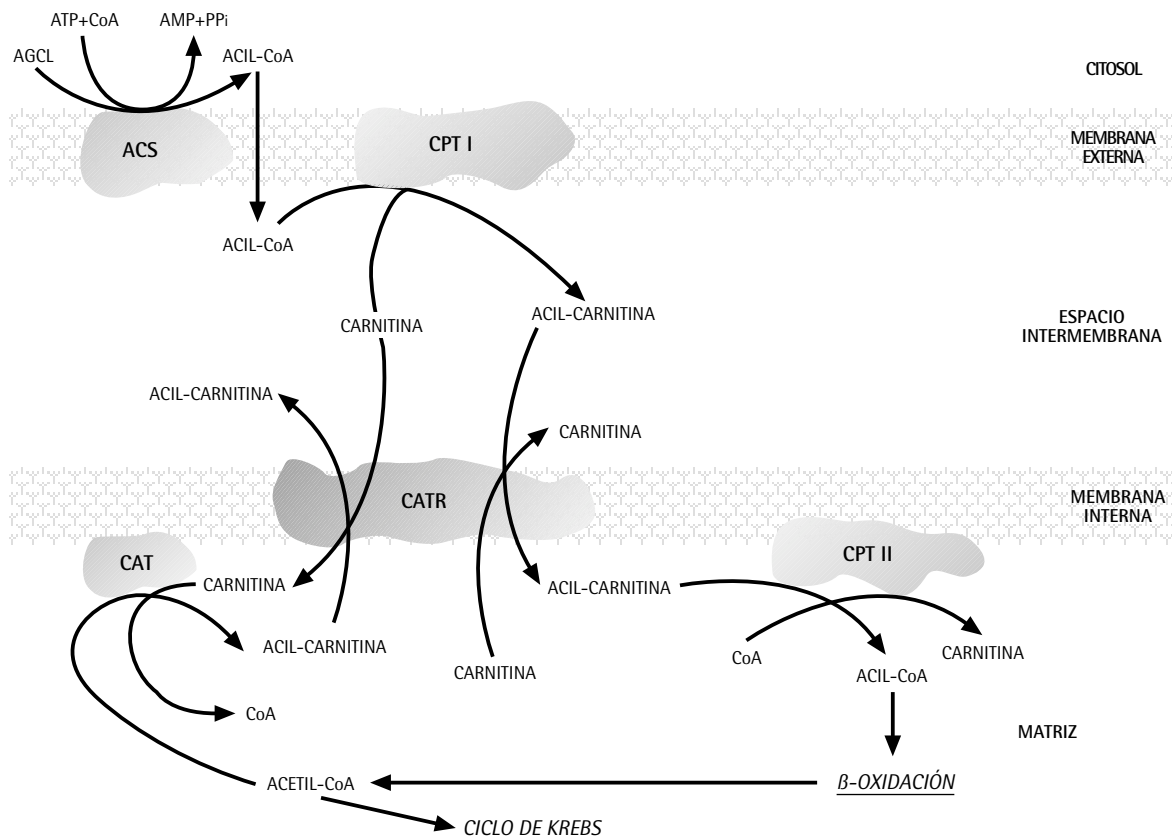
ce aumento de lactato venoso (curva plana de lactato). La biopsia muscular muestra depósitos subsarcolemales de glucógeno e histoquímicamente y bioquímicamente se demuestra el defecto enzimático.

La MPL es codificada por el gen *PYGM* que consta de 20 exones. Se han descrito varias y diferentes mutaciones en este gen<sup>31</sup> (fig. 2). Gran parte del trabajo de identificación de nuevas mutaciones ha sido llevado a cabo por nuestro grupo y por el laboratorio del Dr. A. L. Andreu<sup>32</sup>. Las lesiones moleculares más frecuentes en la población española son R49X, W797R y G204S<sup>32-34</sup> (tabla 1). La mutación «sin sentido» R49X predice la transducción de una proteína de tamaño muy reducido<sup>31</sup> que sería muy susceptible a la degradación. La mutación R49X ha sido estudiada en diferentes poblaciones encontrándose una frecuencia alélica en Estados Unidos del 64 % en 72 pacientes<sup>31,35</sup>. Por otra parte, el análisis mutacional de R49X en poblaciones europeas ha arrojado frecuencias alélicas del 81, 56 y 32 % en pacientes de origen británico (16 pacientes estudiados)<sup>36</sup>, alemán (9 pacientes)<sup>37</sup> y mediterráneo, italianos (14 pacientes)<sup>38</sup> y españoles (19 pacientes)<sup>39</sup>, respectivamente. Estos resultados han sugerido la posible existencia de un gradiente decreciente norte-sur de esta mutación en Europa. Sin embargo, en

nuestra serie de pacientes<sup>32</sup> con enfermedad de McArdle encontramos la mutación R49X en 38 de 54 pacientes (70 %), representando el 55 % de los alelos mutantes (59 de 108); estas frecuencias, en el estudio europeo con más pacientes, no apoyan la hipótesis del gradiente norte-sur. Las otras dos mutaciones más comunes son G204S (9 % de alelos) y W797R (14 % de alelos). Esta mutación únicamente se ha descrito en la población española<sup>32-34</sup>. El dato de que estas tres mutaciones representen el 78 % de los alelos posibilita el diagnóstico molecular de la enfermedad en muestras de sangre, evitando la biopsia muscular en una proporción significativa de pacientes. Por otra parte, aparentemente no se ha establecido correlación entre la severidad de los hallazgos clínicos y la presencia de un genotipo particular<sup>32</sup>.

### DEFICIENCIA DE CARNITINA PALMITIL TRANSFERASA II

La *carnitina palmitil transferasa* mitocondrial es un sistema enzimático compuesto por dos enzimas: la CPT I que se encuentra unida a la membrana externa mitocondrial y la CPT II que está localizada en la membrana interna mitocondrial<sup>40,41</sup>. Este sistema, junto a la enzima *acil-CoA de cadena*



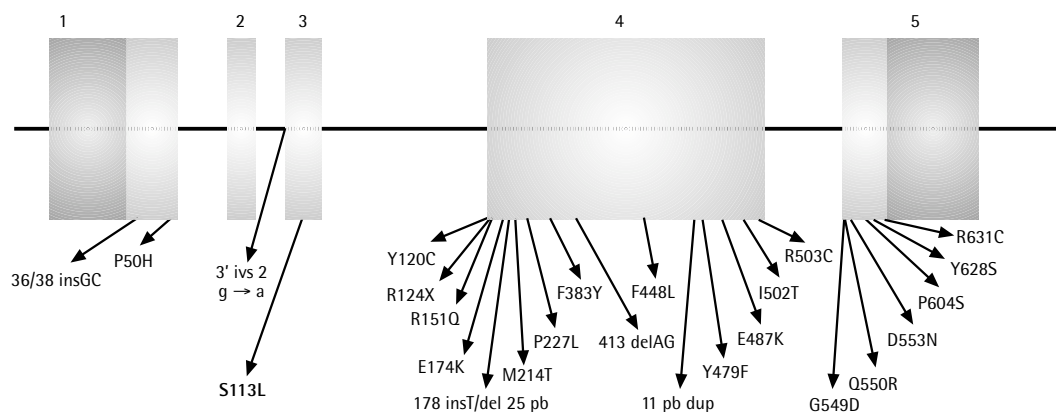
**Figura 3** Papel de la carnitina palmitil transferasa (CPT) en el metabolismo de los ácidos grasos de cadena larga. ACS: acil-CoA sintetasa; CAT: carnitina acil transferasa; CATR: carnitina-acilcarnitina translocasa

*larga sintetasa (ACS) o tioquinasa* de la membrana externa<sup>42</sup> y a la *carnitina acil carnitina translocasa (CATR)* de la membrana interna<sup>43</sup>, es el encargado de transportar los ácidos grasos de cadena larga (AGCL) citoplasmáticos hacia la matriz mitocondrial, donde son oxidados hasta acetil-CoA en el proceso cíclico de la  $\beta$ -oxidación<sup>44</sup> (fig. 3). Los ácidos grasos de cadena media y corta pueden ser transportados directamente a través de las membranas mitocondriales sin la intervención de este sistema enzimático. La CPT II es un homotetrámero con monómeros de 658 aminoácidos que contiene una secuencia amino terminal de 25 aminoácidos (péptido señal) que se libera durante su incorporación a la membrana interna mitocondrial para liberar una proteína madura de 71 kDa (CPT71)<sup>45-47</sup>.

En 1973, DiMauro y Melis-DiMauro<sup>12</sup> describieron por primera vez un paciente con deficiencia muscular de CPT. Actualmente, se acepta que el fenotipo adulto (OMIM 600650) de esta enfermedad se debe a un déficit de la isoenzima CPT II<sup>13,42,48</sup>, siendo éste el trastorno más común del metabolismo lipídico que afecta al sistema osteomuscular, del que se han descrito más de 100 pacientes<sup>48</sup>. La enfermedad se hereda de manera autosómica recesiva. Clínicamente cursa con ataques recurrentes de mialgias, calambres, rigidez muscular y desarrollo de debilidad. En los periodos intercríticos los pacientes son asintomáticos<sup>48</sup>. El tipo de ejercicio que precipita estos síntomas, en general, es de larga duración y moderada intensidad tal como correr o andar largas distancias, subir montañas, practicar juegos de pelota, bipedestación prolongada, etc. Estos pacientes pueden realizar ejercicios de alta intensidad y de corta duración sin problemas<sup>13</sup>. La presencia de mioglobinuria es más frecuente en esta patología que en otras deficiencias enzimáticas asociadas con IE<sup>23,30</sup>, con el peligro de fracaso renal agudo asociado. Otra característica destacable es que cuando se ha iniciado el ataque, éste ya no puede ser abortado mediante el reposo<sup>13</sup>, es decir no experimentan fenómeno de segunda entrada. Además del ejercicio existen otras causas que des-

encadenan los ataques de rabdomiólisis como ayuno, exposición al frío, alta ingestión de grasas, infecciones virales, fiebre, anestesia general y estrés emocional<sup>13,48</sup>. En la mayoría de los casos los primeros síntomas intermitentes comienzan durante la primera y segunda décadas de la vida. Sin embargo, el diagnóstico generalmente se establece en la segunda década<sup>30</sup>. Actualmente se han establecido dos fenotipos causados por déficit de CPT II<sup>49</sup>: neonatal-infantil y miopático adulto. La actividad de CK sérica se encuentra elevada durante los ataques de mioglobinuria y es normal durante los periodos intercríticos<sup>13</sup>. Por otra parte la prueba de ejercicio en isquemia arroja resultados normales tanto de lactato como de amonio. El hecho de que la histología muscular suele ser anodina o en pocos casos con presencia de gotas lipídicas, unido a la falta de técnicas histoquímicas para CPT, hace que el diagnóstico definitivo sea proporcionado por la determinación de la actividad enzimática en el tejido muscular y además, provoca que muchos de los pacientes con síntomas inespecíficos de miopatía metabólica se deriven hacia el estudio bioquímico de esta enzima (con nuestros datos únicamente el 10 % de los pacientes analizados tuvieron déficit de CPT<sup>50</sup>). Este dato indica que debe realizarse una cuidadosa anamnesis clínica del enfermo poniendo especial cuidado en el tipo y características del ejercicio, en ciertos agentes precipitantes de las crisis (frío, medicamentos, etc.), en la determinación de la actividad CK sérica en reposo y durante la crisis, en la observación de la presencia de mioglobinuria (el 87 % de los casos de nuestros pacientes<sup>50</sup>) y en la edad de comienzo de los síntomas, para ajustar más las sospechas clínicas antes de practicar una biopsia muscular.

El gen que codifica la CPT II se denomina *CPT2*<sup>51</sup> y contiene cinco exones. Se han descrito más de 20 mutaciones en el gen *CPT2* asociadas con fenotipo adulto muscular (la mayoría) y neonatal-infantil (fig. 4). La mutación predominante en la deficiencia de CPT II del adulto es la S113L<sup>52-54</sup>. Dicha mutación se ha observado entre el 80-95 % en pa-



**Figura 4**

Distribución de las mutaciones en el gen *CPT2* asociadas con déficit de carnitina palmitil transferasa II. Los rectángulos representan a los exones (numerados). En negrita se muestra la mutación más común en la población española.

cientes de diferentes poblaciones incluyendo la española<sup>50,55</sup>, lo que permite el diagnóstico molecular en muestras sanguíneas en gran parte de los pacientes previo a la biopsia muscular.

## DEFICIENCIA DE MIOADENILATO DESAMINASA

La mioadenilato desaminasa (MADA) es la isoenzima específica muscular de la enzima AMP desaminasa (AMPD). La MADA es un homotetrámero cuyas subunidades poseen 747 aminoácidos<sup>15</sup>. La MADA es una enzima alostérica que forma parte del ciclo de los nucleótidos de purina (fig. 1) y cataliza la desaminación de 5'-AMP a 5'-inosín monofosfato (5'-IMP) con producción de ion amonio<sup>56</sup>. Su función fisiológica debe situarse, probablemente, en el momento en el cual el aporte local de oxígeno es insuficiente para mantener la síntesis de ATP a través de la fosforilación oxidativa mitocondrial<sup>15</sup>.

El déficit enzimático de MADA (OMIM 102770) fue descrito por primera vez en 1978 por Fishbein et al.<sup>13</sup> en pacientes con síntomas musculares inducidos por el ejercicio. La forma clínica habitual cursa con IE, fatiga prematura, dolor muscular y/o calambres<sup>15,56</sup>. Los síntomas pueden comenzar en la infancia o en la edad adulta. No todos los estudios han encontrado correlación entre los síntomas inducidos por el ejercicio y la deficiencia de MADA, sino que existe una gran variabilidad clínica<sup>57</sup>. Por otra parte, se han observado individuos en algunas familias que siendo asintomáticos no presentaban actividad MADA<sup>56</sup>. La diferente expresión sintomática y el amplio rango de la edad de comienzo suscitaron dudas sobre el carácter patológico de este déficit<sup>57,58</sup>. Parte de esta controversia puede deberse a la alta prevalencia de este déficit. Se ha confirmado la presencia de déficit de MADA en alrededor del 2% de las biopsias musculares que se admiten para examen histológico<sup>59</sup> y además se ha observado déficit de MADA en torno a un 2% de la población sana<sup>60,61</sup>. Además esta alteración metabólica se ha asociado a otras deficiencias enzimáticas musculares relacionadas con IE tales como déficit de miofosforilasa<sup>62,63</sup>, déficit de fosfofructoquinasa<sup>64</sup> y deficiencia de CPT muscular<sup>65</sup>, lo cual contribuiría a la distinta presentación clínica. A causa de esta heterogeneidad clínica, se considera que la deficiencia de mioadenilato desaminasa se transmite de forma autosómica recesiva, exhibiendo penetrancia variable en la expresión fenotípica de mialgia relacionada con el ejercicio<sup>66</sup>.

La tinción histoenzimática para la adenilato parece ser un indicador muy fiable y útil en el diagnóstico de déficit de MADA<sup>15</sup>. Alrededor de la mitad de los casos presentan aumentos moderados de CK sérica<sup>15</sup>. La prueba de ejercicio en isquemia se basa en el hecho de que la producción de amonio muscular durante el ejercicio se encuentra drásticamente disminuida en condiciones anaeróbicas como consecuencia de la inactividad de la MADA (curva de amonio plana). Se suele determinar simultáneamente la concentra-

ción de lactato como indicador del grado de isquemia alcanzado durante la prueba<sup>15</sup>.

La MADA está codificada por el gen *AMPD1* que contiene 16 exones. El gen *AMPD1* produce dos tipos de transcritos en el sistema osteomuscular adulto: un transcrito denominado «normal» y un ARNm «alternativo» que se sintetiza al ser eliminado el miniexón 2 durante el mecanismo de *splicing*<sup>67</sup>, codificando ambos transcritos una proteína funcional. La alteración molecular más común asociada a déficit de MADA<sup>68</sup> es la mutación «sin sentido» Q12X en el exón 2 del gen *AMPD1* que predice la biosíntesis de una proteína de tamaño muy reducido fácilmente degradable. Por otra parte, se ha observado esta mutación en el 12% de la población caucasiana. Morisaki et al.<sup>67</sup> han intentado explicar por qué es posible que la mutación Q12X no provoque síntomas en algunos individuos homocigotos, afirmando que la síntesis del ARNm «alternativo» que elimina el exón 2 y que produce una proteína funcional, puede llevar a un «rescate fenotípico». En un estudio reciente<sup>69</sup> en la población alemana se ha encontrado la misma frecuencia de este alelo mutante tanto en la población general como en pacientes con síntomas neuromusculares, llegando a la conclusión de que la deficiencia de MADA es una variante genética inocua, hecho que ha alimentado la controversia sobre las consecuencias patogénicas del déficit de MADA<sup>70</sup>. En nuestra casuística hemos observado 6 pacientes con déficit histoquímico de MADA, lo que representa el 1,5% del total de biopsias con sospecha de miopatía metabólica analizadas<sup>71</sup>. Estos 6 pacientes resultaron homocigotos para Q12X. En dos de ellos se identificó una deficiencia de miofosforilasa, resultando ambos homocigotos para la mutación R49X del gen *PYGM*; y en otro sujeto, cuyo fenotipo clínico predominante sugería una enfermedad mitocondrial con oftalmoplejía progresiva externa, presentó la mutación heteroplásmica A3243G en el ARNt-Leu(UUR) en el ADN mitocondrial<sup>71</sup>. Además encontramos un porcentaje de heterocigosis de Q12X del 17,3% en nuestra población. Estos datos permiten deducir que la mutación Q12X posiblemente produzca un efecto clínico moderado, que dicha mutación es frecuente en la población española, y por ello, frecuentemente asociada con otras enfermedades metabólicas, y que el efecto clínico de la combinación de las deficiencias de MADA y MPL parece ser nulo. Recientemente, se han descrito dos mutaciones en *AMPD1* asociadas con déficit de MADA en un paciente con debilidad muscular y atrofia<sup>72</sup>.

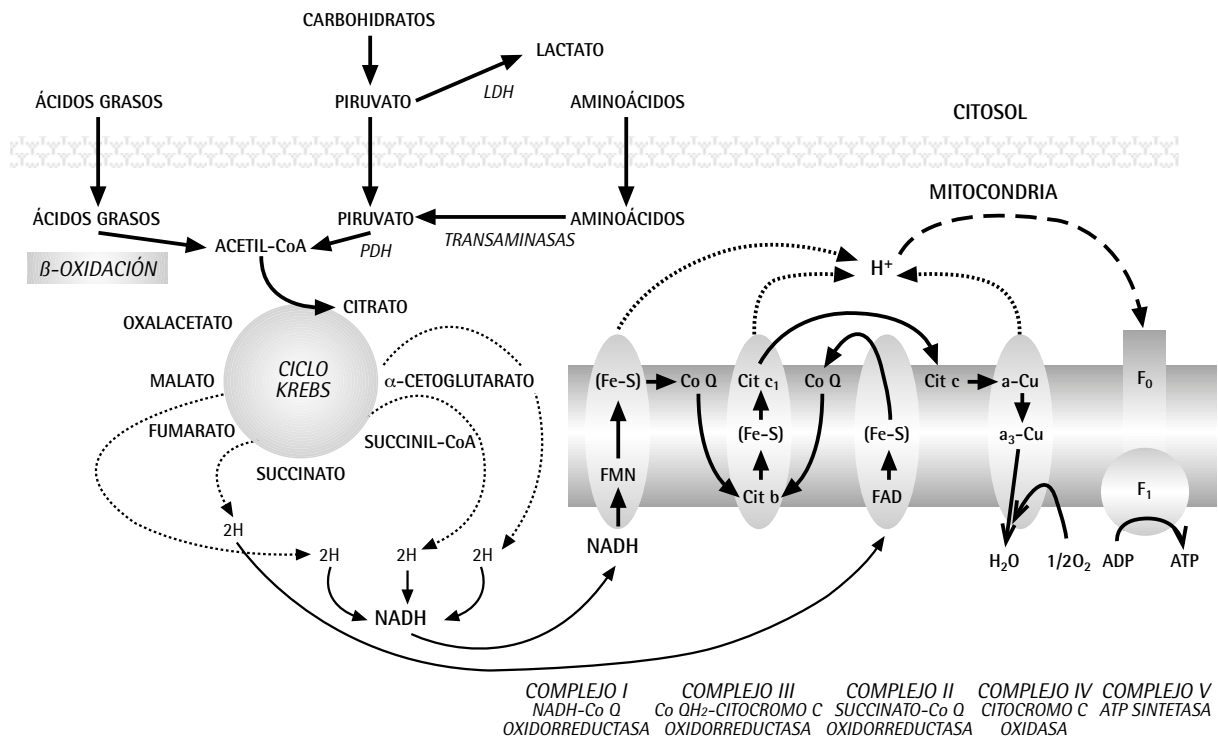
## ALTERACIONES DE LA CADENA RESPIRATORIA MITOCONDRIAL

Hasta hace poco tiempo no se ha prestado suficiente atención a los defectos de la cadena respiratoria mitocondrial (CRM) como causas de mioglobinuria e IE, aunque la mayoría de la energía contenida en glúcidos y lípidos es liberada en forma de ATP por la acción de la CRM<sup>73</sup>. La CRM esta compuesta por 5 complejos enzimáticos multiméricos

(I-V) localizados en la membrana interna mitocondrial. Su función primordial es producir energía al sintetizar el complejo V el ATP necesario para cubrir las demandas celulares. Dicho cometido se lleva a cabo gracias a la energía electroquímica contenida en un gradiente protónico que se genera a través de la membrana interna mitocondrial cuando son oxidados los equivalentes reductores derivados del metabolismo de compuestos energéticos (carbohidratos y lípidos). Dicha reacción se realiza de forma escalonada gracias al transporte electrónico a través de los complejos I o II, III y IV y de dos moléculas intermediarias, el coenzima Q y el citocromo c, de la CRM para sintetizar agua a partir de oxígeno molecular<sup>74</sup> (fig. 5).

existen varias copias por célula y cuyas características genéticas son peculiares. La heteroplasmia, el efecto umbral, la segregación mitótica y la herencia materna (aunque actualmente existe cierto debate sobre este hecho<sup>76</sup>) son particularidades del ADNmt conocidas y establecidas<sup>75,76</sup>.

Los trastornos del ADNmt se pueden clasificar como aquellos que afectarían a la síntesis proteica en su conjunto, que incluyen grandes reagrupamientos y mutaciones puntuales en los genes de ARNt y ARNr, y aquellos en los que están involucrados los genes que codifican proteínas estructurales<sup>75</sup>. Aunque en general las mutaciones en genes ARNt



**Figura 5** Generación de ATP mediante la cadena respiratoria mitocondrial. PDH: complejo piruvatodeshidrogenasa, LDH: lactato deshidrogenasa, NADH: nicotín adenina dinucleótido, FAD: flavín adenina dinucleótido, cit: citocromo, FMN: flavín mononucleótido, Fe-S: proteínas con centros de hierro-azufre; a-Cu: centros de hemo a-cobre.

Los complejos enzimáticos de la CRM constan de diferentes subunidades proteicas que pueden estar codificadas por ADN nuclear (ADNm) o por ADN mitocondrial (ADNmt)<sup>75</sup>. Todas las subunidades del complejo II son codificadas por ADNm; por el contrario los complejos I, III, IV y V están sometidos a un control genético dual. En particular 7 subunidades del complejo I, una del III, 3 del IV y 2 del V son codificadas por ADNmt. El ADNmt es una molécula circular de aproximadamente 16,5 kb de la que

están asociadas con enfermedades multisistémicas, se han descrito casos donde únicamente un tejido está afectado, normalmente el sistema osteomuscular<sup>78</sup>. En estos casos la expresión fenotípica es la de una miopatía con debilidad, hipotonía, fatiga o IE, pero raramente mioglobulinuria, posiblemente porque la naturaleza más debilitante de la enfermedad evita que el paciente realice ejercicio de alta intensidad o durante largos periodos de tiempo, protegiéndoles del daño muscular. Una excepción la representa el caso de un



paciente con la mutación A606G-ARNtPhe que desarrolló pigmenturia tras ejercicio prolongado, junto a una sordera neurosensorial, con historia familiar de herencia materna<sup>79</sup>. La presencia de mioglobinuria también se ha asociado a déficit de coenzima Q10 pero asociada a patología cerebral: convulsiones, ataxia o retraso mental; en este caso la biopsia muestra fibras rojo-rasgadas (RRF), gotas lipídicas y déficit del complejo III<sup>16</sup>. Así parece que la IE, una queja frecuente de los pacientes con trastornos de la CRM, puede estar enmascarada por otros síntomas más graves.

Sin embargo, se han observado recientemente casos de pacientes con miopatía mitocondrial donde los únicos síntomas son IE, mialgia y mioglobinuria. Varios complejos (I, III o IV) pueden verse afectados, pero lo más habitual es un déficit de complejo III<sup>16</sup>. Clínicamente son pacientes difíciles de identificar porque datos de laboratorio como la CK y el lactato séricos son normales, e incluso el electromiograma puede ser normal. La bicicleta ergométrica y la P31-RM aportan datos claves que sugieren un defecto de la fosforilación oxidativa. También se han observado mutaciones en los genes mitocondriales del complejo IV (COXI y COXIII) en pacientes con IE y mioglobinuria con déficit único del complejo IV y presencia de RRF<sup>81,82</sup>. Además, se han descrito 2 pacientes con IE y lactato aumentado con déficit único de complejo I<sup>83,84</sup>. En ambos se definió la lesión molecular en genes mitocondriales de subunidades del complejo I (ND4 y ND1). Por otra parte, en 1996 se identificó una mutación «sin sentido» en el citocromo b en un paciente con IE y déficit de complejo III<sup>85</sup>. Posteriormente, y en un periodo de tiempo relativamente corto (1998-2000), se identificaron mutaciones en el citocromo b en una serie de pacientes con miopatía aislada e IE como principales características clínicas. El citocromo b es la única subunidad codificada por ADNmt del complejo III<sup>16,73</sup>. Únicamente 2 pacientes presentaron episodios de mioglobinuria. Todos estos enfermos compartían un fenotipo bioquímico y morfológico común consistente en fibras RRF COX positivas y déficit único del complejo III. Las mutaciones se encontraron sólo en el músculo y no en otros tejidos ni en cultivo de mioblastos, hecho que sugiere que las mutaciones son somáticas, es decir, surgen y se acumulan en tejidos posmitóticos durante la replicación del ADNmt, por tanto dichas mutaciones solamente pueden ser detectadas en sistema osteomuscular. La reciente descripción de una mutación en una de las subunidades del complejo I asociada a IE<sup>76</sup>, en un paciente cuyo ADNmt muscular procedía del padre (posible herencia paterna) y cuyo ADNmt del resto de los tejidos provenía del ADNmt de la madre, ha puesto sobre el tapete que las mutaciones aparentemente somáticas que se expresan como IE al ejercicio puedan realmente fijarse sobre el genoma mitocondrial paterno. Este hecho abre nuevas vías de investigación en este apasionante campo de la genética mitocondrial.

Recientemente hemos descrito 1 paciente que presentó mioglobinuria tras 3 semanas con terapia combinada de cerivastatina y gemfibrozilo recuperándose tras la retirada de

ambos medicamentos<sup>86</sup>. La histología muscular mostró RRF COX negativas y bioquímicamente mostró un déficit del complejo IV. Estos resultados nos condujeron a la búsqueda de mutaciones o polimorfismos en los genes que codifican las 3 subunidades mitocondriales de la COX, no encontrando variaciones con la secuencia consenso. Por otra parte, el análisis por *immunoblot* de estas subunidades mostró una reducción en torno al 65 % de las subunidades I y II respecto a controles. Se ha sugerido que las estatinas inhiben parcialmente la hidroximetil glutaril coenzima A (HMG-CoA) reductasa causando una depleción secundaria de intermediarios metabólicos como el farnesilo formado durante la síntesis de colesterol y ello se ha relacionado con la miotoxicidad<sup>87</sup>. La subunidad COX I está asociada con el centro binuclear hemo a y hemo a3-CuB, mientras que la COX II contiene el centro CuA del complejo IV. El hemo a-a3 contiene una cadena de farnesilo que es utilizada por su lipofilia para mantener unido el hemo de manera correcta a la COX I<sup>88</sup>; por tanto, una depleción de farnesilo podría causar inestabilidad de la COX I degradándose posteriormente, dato consistente con la reducción observada de esta subunidad; además parece que COX I es utilizada como andamio para el ensamblaje correcto de otras subunidades durante la biogénesis del complejo IV, lo que es concordante con la reducción similar que se observó en COX I y COX II. Dado que la histoquímica de COX o que el análisis de la CRM no se realiza habitualmente en pacientes con mioglobinuria y terapia con cerivastatina, no es posible conocer si el mecanismo sugerido de miotoxicidad puede ser relevante en otros pacientes.

#### AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido realizado gracias a los proyectos de investigación del Fondo de Investigación Sanitaria (FIS 01/1426) y del Ministerio de Ciencia y Tecnología (SAF 01/ 0122).

#### BIBLIOGRAFÍA

1. DiMauro S, Tsujino S. Nonlysosomal glycogenoses. En: Engel AG, Franzini-Amstrong C, editores. *Myology*, 2ª ed. New York: McGraw-Hill, 1995;1554-76.
2. Gross M. Clinical heterogeneity and molecular mechanisms in inborn muscle AMP deaminase deficiency. *J Inher Metab Dis* 1997;20:186-92.
3. Felig P, Wahren J. Fuel homeostasis in exercise. *N Engl J Med* 1975;293:1078-84.
4. Di Donato S. Disorders of lipid metabolism affecting skeletal muscle: Carnitine deficiency syndromes, defects in the catabolic pathway, and Chanarin disease. En: Engel AG, Franzini-Amstrong C, editores. *Myology*, 2ª ed. New York: McGraw-Hill, 1995;1587-609.
5. Havel RJ. Caloric homeostasis and disorder of fuel transport. *N Engl J Med* 1972;287:1186-92.
6. Layzer RB. Muscle metabolism during fatigue and work. *Baillieres Clin Endocrinol Metab* 1990;4:441-59.

7. Arenas J, Ricoy JR, Encinas ER, Pola P, D'Iddio S, Zeviani M, et al. Carnitine in muscle, serum and urine of non-professional athletes: Effects of physical exercise, training, and L-carnitine administration. *Musc Nerv* 1991;14:598-601.
8. Layzer RB. How muscles use fuel. *N Engl J Med* 1991;324:411-2.
9. McArdle B. Myopathy due to a defect in muscle glycogen breakdown. *Clin Sci* 1951;10:13-35.
10. Schmidt R, Hammaker L. Hereditary absence of muscle phosphorylase (McArdle's syndrome). *N Engl J Med* 1961;264:223-6.
11. Tarui S, Okuno G, Ikura Y, Tanaka T, Suda M, Nishikawa M. Phosphofructokinase deficiency in skeletal muscle: A new type of glycogenosis. *Biochem Biophys Res Commun* 1965;19:517-23.
12. DiMauro S, Melis-DiMauro P. Muscle carnitine palmitoyltransferase deficiency and myoglobinuria. *Science* 1973;182:929-31.
13. Zierz S. Carnitine palmitoyltransferase deficiency. En: Engel AG, Franzini-Amstrong C, editores. *Myology*, 2ª ed. New York: McGraw-Hill, 1994;1577-86.
14. Fishbein WN, Armbrustmacher VW, Griffin JL. Myoadenylate deaminase deficiency: A new disease of muscle. *Science* 1978;299:545-8.
15. Fishbein WN. Myoadenylate deaminase deficiency. En: Engel AG, Banker BQ, editores. *Myology*. New York: McGraw-Hill, 1986;1745-62.
16. Andreu AL, Hanna MG, Reichmann H, Bruno C, Penn AS, Tanji K, et al. Exercise intolerance due to mutations in the cytochrome b gene of mitochondrial DNA. *N Engl J Med* 1999;341:1037-44.
17. Servidei S, DiMauro S. Disorders of glycogen metabolism. *Neurol Clin* 1989;7:159-78.
18. DiMauro S, Arnold S, Miranda AF, Rowland LP. McArdle disease: The mystery of reappearing phosphorylase activity in muscle culture. A fetal isoenzyme. *Ann Neurol* 1978;3:60-6.
19. Mommaerts WF, Illinworth B, Pearson CM, Guillory RJ, Seraydarian KA. A functional disorder of muscle associated with the absence of phosphorylase. *Proc Natl Acad Sci USA* 1959;45:791-7.
20. Schmidt R, Mahler R. Chronic progressive myopathy with myoglobinuria. Demonstration of a glycogenolytic defect in the muscle. *J Clin Invest* 1959;38:2044-58.
21. DiMauro S, Servidei S, Tsujino S. Disorders of carbohydrate metabolism: Glycogen Storage diseases. En: Rosenberg RN, Prusiner SB, DiMauro S, Barchi RL, editores. *The Molecular and Genetic Basis of Neurological Disease*, 2ª Ed. Boston: Butterworth-Heinemann, 1996;1067-97.
22. Braakhekke JP, Bruin MI, Stegeman DF, Wevers RA, Binkhorst RA, Joosten EM. The second wind phenomenon in McArdle's disease. *Brain* 1986;109:1087-101.
23. Tonin P, Lewis P, Servidei S, DiMauro S. Metabolic causes of myoglobinuria. *Ann Neurol* 1990;27:181-5.
24. Engel WK, Eyerman EL, Williams HZ. Late-onset type of skeletal muscle phosphorylase deficiency: A new familial variety with completely and partially affected subjects. *N Engl J Med* 1963;268:135.
25. Pourmand R, Sanders DB, Corwin HM. Late-onset McArdle's disease with unusual electromyographic findings. *Arch Neurol* 1983;40:374-97.
26. DiMauro S, Hartlage P. Fatal infantile form of muscle phosphorylase deficiency. *Neurology* 1978;28:1124-9.
27. De La Maza M, Patten BM, Williams JC, Chambers JP. Myophosphorylase deficiency: A new cause of infantile hypotonia simulating infantile muscular atrophy. *Neurology* 1983;33:1383-7.
28. Milstein JM, Herron TM, Haas JE. Fatal infantile phosphorylase deficiency. *J Child Neurol* 1989;4:186-8.
29. DiMauro S, Bresolin N. Phosphorylase deficiency. En: Engel AG, Banker BQ, editores. *Myology*. New York: McGraw-Hill, 1986;1585-1601.
30. Di Mauro S, Papadimitriou A. Carnitine palmitoyltransferase deficiency. En: Engel AG, Banker BQ, editores. *Myology*. New York: McGraw-Hill, 1986;1697-708.
31. Tsujino S, Shanske S, DiMauro S. Molecular genetic heterogeneity of myophosphorylase deficiency (McArdle disease). *N Engl J Med* 1993;329:241-5.
32. Martin MA, Rubio JC, Buchbinder J, Fernandez-Hojas R, del Hoyo P, Teijeira S, et al. Molecular heterogeneity of myophosphorylase deficiency (McArdle's disease): A Genotype-Phenotype Correlation Study. *Ann Neurol* 2001;50:574-81.
33. Rubio JC, Martín MA, Campos Y, Auciello R, Cabello A, Arenas J. A missense mutation W797R in the myophosphorylase gene in Spanish patient with McArdle's disease. *Musc Nerv* 2000;23:129-31.
34. Fernández R, Navarro C, Andreu AL, Bruno C, Shanske S, Gamez J, et al. A novel missense mutation (W797R) in the myophosphorylase gene in Spanish patients with McArdle's disease. *Arch Neurol* 2000;57:217-9.
35. El-Schahawi M, Tsujino S, Shanske S, DiMauro S. Diagnosis of McArdle's disease by molecular genetic analysis of blood. *Neurology* 1996;47:579-80.
36. Bartram C, Edwards RH, Clague J, Beynon RJ. McArdle's disease: a nonsense mutation in exon 1 of muscle glycogen phosphorylase gene explains some but not all cases. *Hum Mol Genet* 1993;2:1291-3.
37. Vorgerd M, Kubisch C, Burwinkel B, Reichmann H, Mortier W, Tettenborn B, et al. Mutation analysis in myophosphorylase deficiency (McArdle's disease). *Ann Neurol* 1998;43:326-31.
38. Martinuzzi A, Tsujino S, Vergani L, Schievano G, Cadaldini M, Bartoloni L, et al. Molecular characterization of myophosphorylase deficiency in a group of patients from Northern Italy. *J Neurol Sci* 1996;137:14-9.
39. Andreu A, Bruno C, Gamez J, Shanske S, Cervera C, Navarro C, et al. Molecular genetic analysis of McArdle's disease in Spanish patients. *Neurology* 1998;51:260-2.
40. Murthy MS, Pande SV. Malonyl-CoA binding site and the overt carnitine palmitoyltransferase activity reside on the opposite sides of the outer mitochondrial membrane. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987;84:378-82.
41. Murthy MS, Pande SV. Characterization of a solubilized malonyl-CoA-sensitive carnitine palmitoyltransferase from the mitochondrial outer membrane as a protein distinct from the malonyl-CoA-insensitive carnitine palmitoyltransferase of the mitochondrial inner membrane. *Biochem J* 1990;268:599-604.
42. Kerner J, Hoppel C. Genetic disorders of carnitine metabolism and their nutritional management. *Ann Rev Nutr* 1998;18:179-206.
43. Pande SV. A mitochondrial carnitine acylcarnitine translocase system. *Proc Natl Acad Sci USA* 1975;72:883-7.

44. Brierley LL. Carnitine. *Ann Rev Biochem* 1988; 57:261-283.
45. Finocchiaro G, Taroni F, Rocchi MLiras Martin A, Colombo I, Tarelli GT, et al. cDNA cloning, sequence analysis, and chromosomal localization of the gene for human carnitine palmitoyltransferase. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991;88:661-5 (corrección 10.981).
46. Woeltje KF, Esser V, Wis BC, Cox WF, Mc Paul MJ, Slaughter MJ, et al. Cloning, sequencing, and expression of a cDNA encoding rat liver mitochondrial carnitine palmitoyltransferase II. *J Biol Chem* 1990;265:10720-5.
47. Brown NF, Esser V, González AD, Evans CT, Slaughter CA, Foster DW, et al. Mitochondrial import and processing of rat liver carnitine palmitoyltransferase II defines the amino terminus of mature protein: possibility of differential modification of the rat and human isoforms. *J Biol Chem* 1991;266:15446-9.
48. Di Donato S. Diseases associated with defects of beta-oxidation. En: Rosenberg RN, Prusiner SB, DiMauro S, Barchi RL, editores. *The Molecular and Genetic Basis of Neurological Disease*, 2ª ed. Boston: Butterworth-Heinemann, 1996;939-56.
49. Thuillier L, Sevin C, Demaugre F, Brivet M, Rabier D, Droin V, et al. Genotype/phenotype correlation in carnitine palmitoyltransferase II deficiency: lessons from a compound heterozygous patient. *Neuromusc Disord* 2000;10:200-5.
50. Martín MA, Rubio JC, Bustos F, Del Hoyo P, Campos Y, García A, et al. Molecular analysis in Spanish patients with muscle carnitine palmitoyltransferase deficiency. *Musc Nerv* 1999;22:941-3.
51. Britton CH, Schultz RA, Zhang B, Esser V, Foster DW, McGarry JD. Human liver mitochondrial carnitine palmitoyltransferase I: characterization of its cDNA and chromosomal localization and partial analysis of the gene. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995;92:1984-8.
52. Taroni F, Verdiero E, Fiorucci S, Cavadini P, Finocchiaro G, Uziel G, et al. Molecular characterization of inherited carnitine palmitoyltransferase II deficiency. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992;89:8429-43.
53. Kaufmann P, El-Schahawi M, DiMauro S. Carnitine palmitoyltransferase II deficiency: Diagnosis by molecular analysis of blood. *Mol Cell Biochem* 1997;174:237-9.
54. Taggart RT, Samil D, Apolito C, Valduvitiu GD. Novel mutations associated with carnitine palmitoyltransferase II deficiency. *Hum Mutat* 1999;13:210-20.
55. Martín MA, Rubio JC, del Hoyo P, García A, Bustos F, Campos Y, et al. Identification of novel mutations in Spanish patients with muscle carnitine palmitoyltransferase II deficiency. *Hum Mutat* 2000;15:579-578 (Mutation In Brief On Line #332).
56. Gross M. Clinical heterogeneity and molecular mechanisms in inborn muscle AMP deaminase deficiency. *J Inher Metab Dis* 1997;20:186-92.
57. Mercelis R, Martín JJ, de Barys T, Van der Berghe G. Myoadenylate deaminase deficiency: absence of correlation with exercise intolerance in 452 biopsies. *J Neurol* 1987;234:385-9.
58. Shumate JB. Myoadenylate deaminase deficiency - a nonfamilial, nondisease? *Neurology* 1983;33:1533-4.
59. Sabina RL, Swain JI, Holmes EW. Myoadenylate deaminase deficiency. En: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, editores. *The Metabolic Basis of Inherited Disease*, 6ª Ed. New York: McGraw-Hill, 1989;1077-184.
60. Norman B, Glenmark B, Jansson E. Muscle AMP deaminase deficiency in 2 % of healthy population. *Musc Nerv* 1995;18:239-41.
61. Norman B, Mahnke-Zizelman DK, Vallis A, Sabina RL. Genetic and other determinants of AMP deaminase activity in healthy adult skeletal muscle. *J Appl Physiol* 1998;85:1273-8.
62. Tsujino S, Sahnke S, Carroll JE, Sabina RL, DiMauro S. Double-trouble: Combined myophosphorylase and AMP deficiency in a child homozygous for non-sense mutations at both loci. *Neuromusc Disord* 1995;5:263-6.
63. Rubio JC, Martín MA, Bautista J, Campos Y, Segura D, Arenas J. Association of genetically proven deficiencies of myophosphorylase and AMP deaminase: a second case of «double trouble». *Neuromusc Disord* 1997;7:387-9.
64. Bruno C, Minetti C, Shanske S, Morreale G, Bado M, Cordone G, et al. Combined defects of muscle phosphofructokinase and AMP deaminase in child with myoglobinuria. *Neurology* 1998;50:296-8.
65. Reuschenbach C, Zierz S. Mutant carnitine palmitoyltransferase deficiency associated with myoadenylate deaminase deficiency in skeletal muscle. *J Pediatr* 1988;112:600-3.
66. Sabina RL. Myoadenylate deaminase deficiency: A common inherited defect with heterogeneous clinical presentation. *Neurol Clin North Am* 2000;18:185-94.
67. Morisaki H, Morisaki T, Newby LK, Holmes EW. Alternative splicing: a mechanism for phenotypic rescue of a common inherited defect. *J Clin Invest* 1993;91:2275-80.
68. Morisaki T, Gross M, Morisaki H, Pongratz D, Zöllner N, Holmes EW. Molecular basis of AMP deaminase deficiency in skeletal muscle. *Proc Nat Acad Sci USA* 1992;89:6457-61.
69. Verzijl HT, van Engelen BG, Luyten JA, Steenbergen GC, van den Heuvel LP, ter Laak HJ, et al. Genetic characteristics of myoadenylate deaminase deficiency. *Ann Neurol* 1998;44:140-3.
70. Fishbein WN. Primary, secondary, and coincidental types of myoadenylate deaminase deficiency. *Ann Neurol* 1999;45:547.
71. Rubio JC, Martín MA, del Hoyo P, Bautista J, Campos Y, Segura D, et al. Molecular analysis of Spanish patients with AMP deaminase deficiency. *Musc Nerv* 2000;23:1175-8.
72. Abe M, Higuchi I, Morisaki H, Morisaki T, Osame M. Myoadenylate deaminase deficiency with progressive muscle weakness and atrophy caused by new missense mutations in AMPD1 gene: case report in a Japanese patient. *Neuromuscul Disord* 2000;10:472-7.
73. Arenas J, Campos Y, Martín MA, DiMauro S, Andreu AL. How wide are mitochondria involved in exercise intolerance? En: Desnuelle C, DiMauro S, editores. *Mitochondrial disorders, from pathophysiology to acquired defects*. Paris: Springer-Verlag, 2002;255-6.
74. DiMauro S, Bonilla E. Mitochondrial encephalomyopathies. En: Rosenberg RN, Prusiner SB, DiMauro S, Barchi RL, editores. *The molecular and genetic basis of neurological disease*. Boston: Butterworth-Heinemann, 1997;201-35.
75. Leonard JV, Shapira AHV. Mitochondrial respiratory chain disorders I: mitochondrial DNA defect. *Lancet* 2000; 355:299-304.
76. Schwartz M, Vissing J. Paternal inheritance of mitochondrial DNA. *N Engl J Med* 2002;347:576-80.
77. Smeitnik J, van de Heuvel L, DiMauro S. The genetics and pathology of oxidative phosphorylation. *Nat Rev Genet* 2001;2:342-52.
78. DiMauro S, Andreu AL. Mutations in mtDNA: are we scraping the bottom of the barrel? *Brain Pathol* 2000;10:431-41.

79. Chinnery PF, Johnson MA, Taylor RW, Lightowlers RN, Turnbull DM. A novel mitochondrial trna phenylalanine mutation presenting with acute rhabdomyolysis. *Ann Neurol* 1997;41:408-10.
80. Sobreira C, Hirano M, Shanske S, Keller RK, Haller RG, Davidson E, et al. Mitochondrial encephalomyopathy with coenzyme Q10 deficiency. *Neurology* 1997;48:1238-43.
81. Keightley A, Hoffbuhr KC, Burton MD, Salas VM, Johnston WSW, Penn AMW, et al. A microdeletion in cytochrome c oxidase (COX) subunit III associated with COX deficiency and recurrent myoglobinuria. *Nat Genet* 1996;12:410-5.
82. Karadimas CL, Greenstein P, Sue CM, Joseph JT, Tanji K, Haller RG, et al. Recurrent myoglobinuria due to a nonsense mutation in the COX I gene of mitochondrial DNA. *Neurology* 2000;55:644-9.
83. Andreu AL, Tanji K, Bruno C, Hadjigeorgiou GM, Sue CM, Jay C, et al. Exercise intolerance due to a nonsense mutation in the mtDNA ND4 gene. *Ann Neurol* 1999;45:820-3.
84. Musumeci O, Andreu AL, Shanske S, Bresolin N, Comi GP, Rothstein R, et al. Intragenic inversion of mtDNA: A new type of pathogenic mutation in a patient with mitochondrial myopathy. *Am J Hum Genet* 2000;66:1900-4.
85. Dumoulin R, Sagnol I, Ferlin T, Bozon D, Stepien G, Mousson B. A novel gly290asp mitochondrial cytochrome b mutation linked to a complex III deficiency in progressive exercise intolerance. *Mol Cell Probes* 1996; 10:389-91.
86. Arenas J, Fernández-Moreno MA, Molina JA, Fernández V, del Hoyo P, Campos Y, et al. Myoglobinuria and COX deficiency in a patient taking crivastatin and gemfibrozil. *Neurology* 2003;60:124-36
87. Flint O, masters B, Gregg R, Durham S. HMG-CoA reductase inhibitor-induced myotoxicity: pravastatin an lovastatin inhibit the geranylgeranylation of the low molecular weight proteins in neonatal rat muscle cell culture. *Toxicol Appl Pharmacol* 1997;145:99-100
88. Tsukihara T, Aoyama H, Yamashita E, Tomizaki T, Yamaguchi H, Shinzawa-Itoh K, et al. The whole structure of 13-subunit oxidized cytochrome c oxidase at 2.8 Å. *Science* 1996; 272:1136-44.