



Universidad
Zaragoza

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD Y DEL DEPORTE
GRADO EN NUTRICIÓN HUMANA Y DIETÉTICA

TRABAJO FIN DE GRADO

**INTERVENCIONES NUTRICIONALES COMO
ESTRATEGIA PALIATIVA EN ENFERMEDADES
MITOCONDRIALES
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA**

**NUTRITIONAL INTERVENTIONS AS PALLIATIVE STRATEGY IN
MITOCHONDRIAL DISEASES BIBLIOGRAPHICAL REVIEW**

AUTORA: CRISTINA GUILLÉN SEBASTIÁN

DIRECTOR: DAVID PACHEU GRAU

DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA, BIOLOGÍA MOLECULAR Y CELULAR

1. ÍNDICE	
2. RESUMEN	2
3. ABSTRACT	3
4. ABREVIATURAS	4
5. INTRODUCCIÓN	5
5.1. LA MITOCONDRIA	5
5.2. SISTEMA DE FOSFORILACIÓN OXIDATIVA.....	6
5.3. DNA MITOCONDRIAL	8
5.4. TIPOS DE MUTACIONES DEL MTDNA.....	9
5.5. ENFERMEDADES MITOCONDRIALES	11
5.6. LÍNEAS DE TRATAMIENTO	15
6. OBJETIVOS	16
7. METODOLOGÍA	17
8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	18
8.1. COENZIMA Q10.....	18
8.2. IDEBENONA	19
8.3 CREATINA	21
8.4. ÁCIDO α -LIPOICO	23
8.5. COMBINADO DE NUTRIENTES: COENZIMA Q10, CREATINA Y ÁCIDO α -LIPOICO.....	23
8.6. L - ARGININA.....	24
8.7. L - CARNITINA	27
9. CONCLUSIONES	29
10. BIBLIOGRAFÍA	31

2. RESUMEN

Las mitocondrias poseen su propio genoma, además son capaces de replicar, transcribir y traducir la información genética contenida en él. Esta molécula circular de doble cadena se denomina DNA mitocondrial y es transmitido por herencia materna, no mendeliana.

La tasa de mutaciones genéticas en este genoma es superior al DNA celular debido en parte a la exposición del DNA mitocondrial a las especies reactivas de oxígeno que se producen dentro de este orgánulo resultado de la fosforilación oxidativa. Estas mutaciones pueden provocar enfermedades tan dispares como la neuropatía óptica hereditaria de Leber (LHON) o Síndrome de encefalopatía mitocondrial, acidosis láctica y episodios stroke-like (MELAS). También se ven comprometidas sus funciones por enfermedades más comunes como la obesidad, la diabetes o cáncer.

Dado el papel central de la mitocondria en el metabolismo celular y para paliar los efectos causados por defectos en este orgánulo, diferentes intervenciones nutricionales se han llevado a cabo. Aunque su administración como tratamiento no está validada, la suplementación es uno de los recursos más utilizados en el ámbito clínico. Por ello, en esta revisión bibliográfica se han recopilado estudios en humanos sobre suplementación con siete micronutrientes con resultados favorables. Aun así, se requieren más investigaciones y más representativas para trazar un tratamiento aceptado.

Palabras clave: mitocondria, DNA mitocondrial, mutaciones, enfermedad mitocondrial, sistema de fosforilación oxidativa, terapia nutricional.

3. ABSTRACT

Mitochondria have their own genome, they have also the ability of replicating, transcribing and translating the genetic information contained in it. This circular, double-stranded molecule is called mitochondrial DNA and is transmitted through maternal, non-Mendelian, inheritance.

The rate of genetic mutations in this genome is higher than cellular DNA. In part to the exposure of mitochondrial DNA to reactive oxygen species that are produced within this organelle as a result of oxidative phosphorylation. These mutations can cause diseases as diverse as Leber's hereditary optic neuropathy (LHON) or Mitochondrial encephalopathy, lactic acidosis and stroke-like syndrome (MELAS) syndrome. Its functions are also compromised by more common diseases such as obesity, diabetes or cancer.

Given the central role of the mitochondria in cell metabolism and to alleviate the effects caused by defects in this organelle, different nutritional interventions have been carried out. Although its administration as a treatment is not validated, supplementation is one of the most used resources in the clinical field. For this reason, this bibliographic review has compiled studies in humans on supplementation with seven micronutrients with favorable results. Still, more and more representative research is required to chart an accepted treatment. Key words: mitochondria, mitochondrial DNA, mutation, mitochondrial disease, oxidative phosphorylation system, nutritional therapy.

Key words: mitochondria, mitochondrial DNA, mutation, mitochondrial disease, oxidative phosphorylation system, nutritional therapy.

4. ABREVIATURAS

Trifosfato de adenosina (ATP, adenosine triphosphate).

DNA mitocondrial (mtDNA).

Fosforilación oxidativa (OXPHOS, Mitochondrial Oxidative Phosphorylation System).

Cadena de transporte de electrones (ETC, Electron Transport Chain).

Complejo I (NADH deshidrogenasa, C-I).

Complejo III (ubiquinol - citocromo c reductasa, C-III).

Complejo IV (citocromo c oxidasa, C-VI).

Complejo II (succinato deshidrogenasa, C-II)

Coenzima Q10 (CoQ10).

Especies reactivas de oxígeno (ROS, Reactive Oxygen Species).

DNA nuclear (nDNA).

RNA mitocondrial (mtRNA).

RNA ribosomal mitocondrial (mt-rRNA).

Síndrome de encefalopatía mitocondrial, acidosis láctica y episodios stroke-like (MELAS, Mitochondrial Encephalomyopathy, Lactic Acidosis and Stroke-like episodes).

Neuropatía óptica hereditaria de Leber (LHON, Leber hereditary optic neuropathy).

Síndrome de epilepsia mioclónica asociada a fibras rojas rasgadas (MERRF, myoclonic epilepsy with ragged red fibers).

Síndrome de Kearns-Sayre (KSS, Kearns-Sayre syndrome).

Oftalmoplejía externa progresiva crónica (CPEO, Chronic Progressive External Ophthalmoplegia).

Miopatía mitocondrial (MM, Mitochondrial Myopathy).

Neuropatía, ataxia y retinitis pigmentosa (NARP, Neuropathy Ataxia Retinitis Pigmentosa).

Trimetilamina-N-óxido (TMAO).

Óxido nítrico (NO).

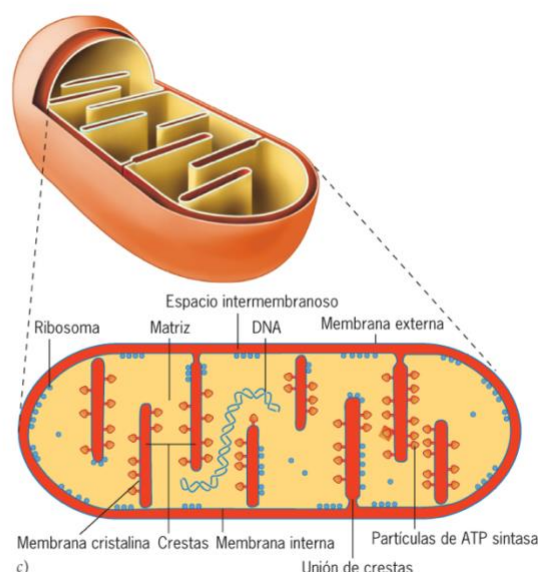
Índice de masa corporal (BMI, Body Mass Index).

5. INTRODUCCIÓN

5.1. LA MITOCONDRIA

Las mitocondrias son orgánulos citoplasmáticos de células eucariotas cuya función principal es generar trifosfato de adenosina (ATP) por el proceso de fosforilación oxidativa en condiciones aerobias. (1) Una característica fundamental de este orgánulo es que posee su propio genoma (mtDNA) así como todo lo necesario para transcribir y traducir la información genética codificada en este genoma. (2)

Estructuralmente, este orgánulo se compone de dos membranas, una interna y otra externa, que a su vez delimitan dos compartimentos diferentes: la matriz interna y el espacio intermembrana. La membrana exterior es una barrera con el citoplasma celular y contiene canales de proteínas para permitir el paso de iones y pequeñas moléculas. A diferencia de esta, la membrana interna es impermeable a estas sustancias y por tanto más selectiva, de este modo se mantiene el gradiente de protones necesario para la síntesis de ATP. En esta membrana interna encontramos cuatro complejos enzimáticos para el transporte de electrones y un quinto para la síntesis de ATP, que constituyen el sistema de fosforilación oxidativa (OXPHOS). (2) (3) Además, presenta pliegues para aumentar su superficie, llamadas crestas, que se invaginan hacia la matriz mitocondrial. En cuanto a esta última, hay que destacar la presencia del mtDNA así como proteínas responsables de su replicación y transcripción, ribosomas para su traducción y una alta concentración de enzimas para otros procesos metabólicos como la β -oxidación o el ciclo de Krebs. (4)



Fuente: Karp, Janet Iwasa, Wallace Marshall: Biología celular y molecular. Conceptos y experimentos, 8e Copyright © McGraw Hill Education. Todos los derechos reservados.

Ilustración 1: La estructura de una mitocondria (5)

5.2. SISTEMA DE FOSFORILACIÓN OXIDATIVA

Entorno al 90% del ATP generado en las células eucariotas es producido por la mitocondria. Para ello, existe un conjunto de complejos multiprotéicos llamado sistema de fosforilación oxidativa (OXPHOS), ubicado en la membrana interna de la mitocondria. La biosíntesis de este sistema está controlada genéticamente tanto por el genoma mitocondrial como por el nuclear. Esta dualidad de la información genética aumenta la probabilidad de defectos o alteraciones en el sistema OXPHOS. Estas mutaciones son la principal causa de las enfermedades mitocondriales. (6)

El sistema OXPHOS está constituido por los complejos enzimáticos multiproteínicos I a V, cuatro forman de la cadena de transporte de electrones (ETC) y el quinto es el responsable de la síntesis de ATP. La ETC esta mediada por dos portadores móviles de electrones, la coenzima Q10 (CoQ10) y el citocromo c. (1) Los complejos se encargan de reoxidar los equivalentes producidos en el complejo anterior, cediendo electrones al oxígeno molecular convirtiéndolo en agua.

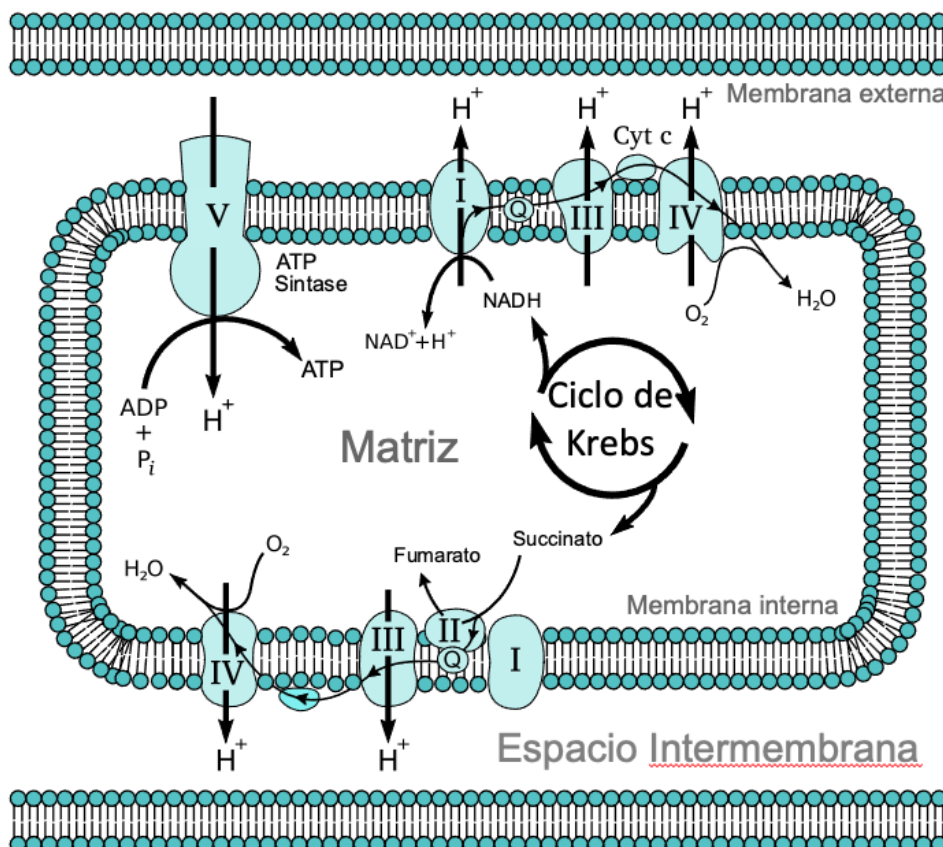


Ilustración 2: Sistema de fosforilación oxidativa (OXPHOS) (7)

El NADH cede sus electrones en el complejo I (NADH deshidrogenasa, C-I) que los capta la ubiquinona que viaja al complejo III (ubiquinol - citocromo *c* reductasa, C-III) y este cede electrones al complejo IV (citocromo *c* oxidasa, C-VI) a través del citocromo *c* para cederlos finalmente al oxígeno. En el caso de los electrones procedentes del FADH₂, entran en la cadena respiratoria a través del complejo II (succinato deshidrogenasa, C-II) que los cede a la ubiquinona para continuar hasta el O₂ a través de los complejos C-III y C-IV. Este gradiente electroquímico, derivado del bombeo de protones descrito anteriormente, se origina desde la matriz mitocondrial al espacio intermembrana por la respiración celular. Finalmente, la ATP sintasa aprovecha este retorno de protones al espacio intermembrana a favor de gradiente para sintetizar ATP. (8) (9)

Además, se libera energía en forma de calor y una fracción de electrones que reaccionan tempranamente con el oxígeno producen especies reactivas de oxígeno (ROS). (10) Por tanto la eficacia de la ETC es fundamental en el equilibrio energético global y la termogénesis corporal. La proporción de ROS originada se relaciona con el acoplamiento de la producción de ATP al consumo de oxígeno. Las ROS liberadas en la matriz mitocondrial son eliminadas por antioxidantes detoxificantes en grupos menos perjudiciales. Sin embargo, la producción es en ocasiones tan elevada que pueden acumularse y causar mutaciones en el mtDNA.

La generación de energía no es la única función de la mitocondria. Participa en diferentes procesos metabólicos de la célula como la biosíntesis de pirimidinas o aminoácidos, la regulación de apoptosis o la liberación de ROS en concentraciones normales como mensajeros secundarios para la señalización celular. Otra función característica es la convergencia de diversas rutas metabólicas, como la oxidación de glucosa a piruvato o la β-oxidación de ácidos grasos, que finalizan con la generación de acetyl-CoA. Esta molécula actúa como sustrato en el ciclo de Krebs en el que se generan distintas reacciones enzimáticas cuyos productos formarán parte de la cadena respiratoria. La acetyl-CoA también se utiliza para la formación de cuerpos cetónicos en el hígado. (10) (11)

FUNCIONES METABÓLICAS DE LAS MITOCONDRIAS	
EN TODAS LAS CÉLULAS Y TEJIDOS	ESPECÍFICAS DE CÉLULAS O TEJIDOS
FOSFORILACIÓN OXIDATIVA	METABOLISMO DEL COLESTEROL
PRODUCCIÓN DE RADICALES LIBRES	METABOLISMO DE LOS AMINOÁCIDOS Y LOS ÁCIDOS ORGÁNICOS

HOMEOSTASIS DEL CALCIO	β - OXIDACIÓN DE LOS ÁCIDOS GRASOS
APOPTOSIS (MUERTE CELULAR PROGRAMADA)	BIOSÍNTESIS DE LOS ESTEROIDES SEXUALES
	BIOSÍNTESIS DEL HEMO
	DESINTOXICACIÓN DE LOS NEUROTRANSMISORES

Tabla 1: Funciones metabólicas de las mitocondrias (12)

5.3. DNA MITOCONDRIAL

La diferencia principal entre la mitocondria y otros orgánulos es la capacidad de poseer un sistema genético propio y todas las herramientas necesarias para replicarlo, transcribirlo y traducir la información genética contenida de sus genes codificantes a proteínas.

Sin embargo, la mitocondria depende del DNA nuclear (nDNA) para expresar su material genético e incluso para la formación del propio orgánulo. Existen más de 1100 genes nucleares que codifican proteínas de localización mitocondrial. La mayoría de estas proteínas codificadas en el nDNA se sintetizan en el citoplasma y se importan al orgánulo. (9)

El mtDNA es una molécula circular de doble cadena superenrollada ubicada en la matriz mitocondrial. Cada orgánulo contiene entre 2000 y 10000 copias de mtDNA y dependiendo de la funcionalidad del tejido celular y sus requerimientos de energía, el número de mitocondrias por célula varía. La secuencia contiene un total de 37 genes, en 16569 pares de bases. Codifican 24 genes de RNA necesarios para su síntesis, de los cuales 2 genes son de RNA ribosómicos y 22 RNA de transferencia para la traducción del RNA mensajero. Los otros 13 codifican proteínas que constituyen los complejos multienzimáticos del sistema OXPHOS y la ATP sintasa. (13) (14)

La estructura del mtDNA es muy llamativa debido a la supercompactación de los genes a lo largo de la doble hebra y la distribución de la codificación de los genes es mucho mayor en la cadena pesada. Destaca la disposición de los genes uno tras otro con de 1 a 3 nucleótidos de separación o incluso de manera continua. Esto implica que no existen tramos no codificantes o intrones. Solo hay una pequeña zona no codificante en la que se encuentra el origen de la replicación de la cadena pesada, los promotores de transcripción y los elementos reguladores de la expresión. (15)

Este segundo genoma celular tiene unas características específicas que lo diferencian del nuclear. Entre ellas se encuentra que la herencia de este código genético es materna, no

mendeliana como el nDNA. Actualmente la hipótesis más fiable que explica por qué solo se heredan mitocondriales maternas es que en el espermatozoide, las mitocondrias se encuentran principalmente en el flagelo y las pocas que entran en el cigoto son degradadas. Esto provoca que todos los descendientes heredan el mismo genoma mitocondrial mientras que solo las mujeres lo transmiten a la siguiente generación.

Por otro lado, la alta tasa de mutación espontánea que presenta el mtDNA es mucho más elevada que en el nDNA. Esto podría deberse al gran número de especies reactivas de oxígeno que se producen en la OXPHOS que se liberan a la matriz mitocondrial donde se encuentra la información genética. Además, el DNA mitocondrial carece de histonas que le ofrezcan protección frente a distintas agresiones. A su vez, la ausencia de regiones intrónicas aumenta la posibilidad de que una mutación tenga un efecto funcional destacado. Esto supone también una organización y expresión distinta al genoma nuclear. Por estas mutaciones, a pesar de los pocos genes que son codificados por el genoma mitocondrial, pueden darse tantos cuadros clínicos distintos y dar lugar a patologías diversas. (16)

Otra característica diferencial es que en el caso del mtDNA es más probable que en un mismo individuo existan varias formas alélicas, lo que se denomina heteroplasmia. Esto implicaría que existen dos o más genomas mitocondriales, uno normal y el resto mutados. La expresión de unos u otros dependerá del grado de heteroplasmia y del porcentaje de DNA mutado, si no se alcanza este umbral no se manifestarán los efectos patológicos de la mutación. El umbral varía dependiendo del tejido, siendo menor en los órganos con requerimientos energéticos mayores, que por otro lado, es donde se encuentran las células con mayor número de mitocondrias. Finalmente, gracias a la segregación mitótica existe una variabilidad que nos repercute en tres posibles fenotipos: homoplásmico normal, homoplásmico mutante y heteroplásmico con porcentajes suficientes de genoma mutado. (17) (18)

5.4. TIPOS DE MUTACIONES DEL MTDNA

Como ya se ha nombrado anteriormente, el genoma mitocondrial por su localización y particularidades acumula mutaciones mucho más rápidamente que el nDNA. El mtDNA es más susceptible de ser atacado por ROS, originados en el sistema OXPHOS, que a su vez está compuesto por subunidades codificadas dentro de este genoma y, por lo tanto, las mutaciones en el mtDNA afectan a la estructura y funcionamiento del sistema de fosforilación oxidativa creándose un “circulo vicioso” de daño acumulado. (19)

Las alteraciones de genoma más habituales son las deleciones únicas y las mutaciones puntuales, ya sean en los genes codificantes de RNA mitocondrial (mtRNA) o proteínas.

Las deleciones ocurren siempre en heteroplasmia y consisten en la pérdida de un fragmento de molécula. Existe variabilidad individual y dependiendo del tejido y la necesidad de energía del mismo. El grado de heteroplasmia tiende a aumentar conforme pasa el tiempo, sin embargo, en tejidos con alto índice de recambio las mutaciones tienden a desaparecer. Este tipo de errores ocurren en pacientes esporádicos por lo que no necesariamente se ha podido heredar. Algunas enfermedades mitocondriales causadas por este tipo de alteración son el síndrome de Pearson (entorno al 90% de los casos son por esta deleción y asociados a fibras rojas rasgadas (FRR), que son fibras musculares con acumulación de mitocondrias anormales) y las miopatías oculares en el 50% de los casos también cursan junto a FRR en su biopsia muscular. (20)

En cuanto a las mutaciones puntuales en los mtRNA también se pueden dar tanto en homoplasmia como en heteroplasmia, en cuyo caso es necesitando un 80-90% de mtDNA mutado para expresarse fenotípicamente. Generalmente sí que son heredadas por vía materna y se han observado más de 100 mutaciones de este tipo. La característica más destacable de este grupo es que un mismo fenotipo puede estar causado por mutaciones en distinto genes y a su vez una misma alteración puede desencadenar una respuesta patología diferente. Este tipo de alteración es el responsable, por ejemplo, de más del 80% de los casos de MELAS por la mutación m. 3243A>G. (21)

Otro tipo de mutaciones puntuales son las originadas en genes mitocondriales que codifican proteínas. Estas se manifiestan a nivel bioquímico por defecto aislado del complejo al que pertenecen. Un ejemplo sería la atrofia óptica en el síndrome de Leber por mutación en diversos genes codificantes del C-I.

Paralelamente, se pueden dar mutaciones en el DNA nuclear que codifican las subunidades necesarias para conformar los complejos de la OXPHOS así como el ensamblaje de estos. Estas alteraciones dan lugar a cuadros multisistémicos de herencia autosómica recesiva originando patologías como el síndrome de Leigh. Existen también mutaciones en los genes que codifican la comunicación intergenómica que pueden dar lugar a deleciones múltiples o depleciones en mtDNA. Por último, en el nDNA también se codifican genes encargados de la composición lipídica de las membranas mitocondriales, así como de la movilidad mitocondrial. Mutaciones en estas zonas alteran la síntesis de fosfolípidos o la acción de la kinasa entre otras disfunciones. (22)

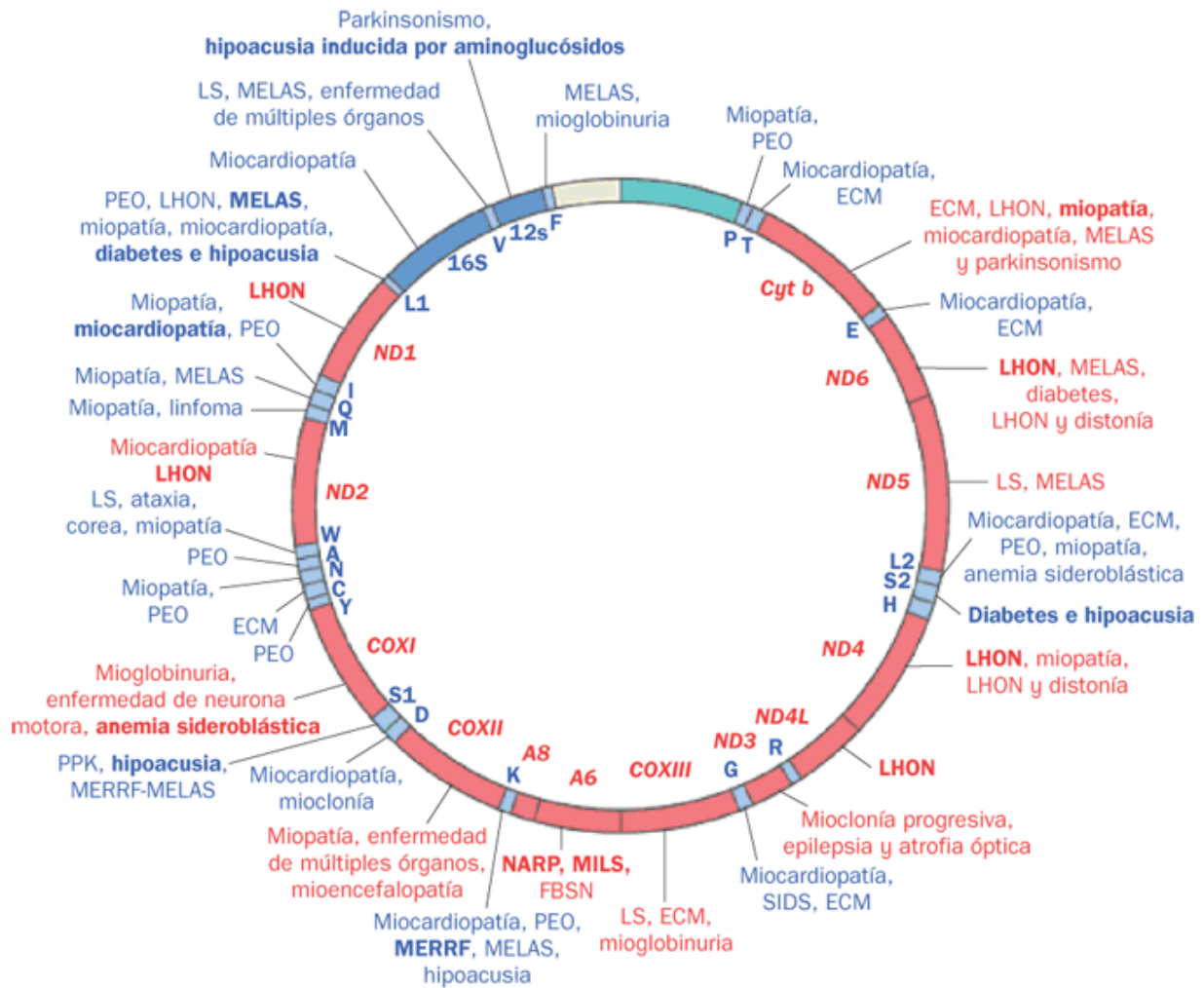


Ilustración 3: Mutaciones del genoma mitocondrial humano que causan enfermedad. (23)

5.5. ENFERMEDADES MITOCONDRIALES

Las patologías mitocondriales son un grupo heterogéneo de desordenes resultantes de la alteración en la secuencia o la expresión de proteínas mitocondriales e involucradas en el sistema de fosforilación oxidativa o el metabolismo celular. Generalmente las enfermedades se presentan como casos esporádicos pero también se han observado casos de varios familiares con la misma patología y una herencia. Los signos y síntomas de estas enfermedades son muy diversos y pueden afectar a varios órganos. En la siguiente tabla (tabla 2) se pueden observar los tejidos diana más sensibles a mutaciones mitocondriales así como las manifestaciones clínicas más comunes. (24)

ORGANOS Y SISTEMAS AFECTADOS	TIPOS DE AFECCIÓN MÁS COMUNES
NEUROLÓGICO	Apoplejía, epilepsia, cefalea migrañosa, neuropatía periférica, ataxia, distonía, neuropatía craneal (atrofia óptica, hipoacusia neurosensible, disfagia, disfasia).
RESPIRATORIO	Hipoventilación, neumonitis por aspiración.
CARDIACO	Bloqueo de conducción, miocardiopatía.
ENDOCRINO	Diabetes mellitus, insuficiencia ovárica primaria, hipotiroidismo, hipoparatiroidismo.
DIGESTIVO	Vómitos, sensación de plenitud, diarrea crónica, obstrucciones intestinales, dificultades en la motilidad del tubo.
OFTALMOLÓGICO	Cataratas, retinopatía pigmentaria, neurológicas y miopáticas (atrofia óptica, oftalmoplejia)
RENAL	Síndrome de Fanconi, síndrome nefrítico.
HEPÁTICO	Fallo hepático, hígado graso.
MIOPATÍAS ESQUELÉTICAS	Oftalmoplejia, intolerancia al ejercicio, mialgia, debilidad.

Tabla 2: Características comunes de las enfermedades relacionadas al mtDNA en adultos (25)

Una de las enfermedades mitocondriales más relevantes es la neuropatía óptica hereditaria de Leber, más conocida como LHON, que causa una deficiencia visual e incluso ceguera con atrofia óptica en adolescentes y jóvenes adultos. Los síntomas suelen comenzar en un ojo y a los 6-12 meses en el otro. En ocasiones cursa con ataxia cerebelosa o conducción cardíaca alterada. Se calcula que el 80% de la descendencia de una persona con esta patología es portadora asintomática, sin embargo, la probabilidad de afectación es cinco veces más elevada en hombres que en mujeres. En la mayoría de los casos se debe a una mutación homoplásica puntual. Las mutaciones más frecuentes se han descrito en tres genes del mtDNA que codifican proteínas relacionadas con el C-I de ETC. (26)

Otra patología muy descrita es un síndrome que cursa con encefalomiopatía mitocondrial, acidosis láctica y episodios similares a apoplejía (conocido como MELAS). Consiste en un trastorno multisistémico. Los primeros síntomas se desarrollan en niños en forma de

convulsiones acompañadas de apoplejía, vómitos o cefaleas recurrentes y anorexia. También es característico el bajo tono muscular y la debilidad de las extremidades, así como la talla baja y la intolerancia al ejercicio. Además pueden presentar eventos cardiovasculares similares a un ictus. Estos pacientes viven hasta los 10-35 años generalmente aunque se han dado casos en los que han vivido hasta seis décadas. La mayoría de los casos se dan por una transición de A a G en el nucleótido 3243 (m.3243A>G) en el gen *mt-TL1*, que codifica uno de los dos tRNA mitocondriales para leucina, generando una incapacidad de producir energía suficiente por parte del orgánulo. (27) (28)

Una de las enfermedades neurodegenerativas más agresivas que cursa en una edad muy temprana, antes del primer año de vida generalmente, es el Síndrome de Leigh de Herencia Materna (MILS). Aunque están descritos más de 70 fallos en diferentes genes asociados a esta patología, el más importante es la mutación en el gen *mt-ATP6* (m.8993T > C o 8993T > G) que codifica una subunidad para el complejo V del sistema OXPHOS. Este síndrome cursa entre otros síntomas con una encefalopatía necrosante presumiblemente por la falta de producción de energía en el cerebro. (29)

Otras enfermedades mitocondriales causadas por deleciones o duplicaciones parciales de genoma mitocondrial son el síndrome de Kearns-Sayre (KSS, Kearns-Sayre Syndrome), la oftalmoplejía externa progresiva crónica (CPEO, Chronic Progressive External Ophthalmoplegia) esporádica y el síndrome de Pearson. La esperanza de vida de los pacientes afectados por este síndrome es corta. En ocasiones una enfermedad mitocondrial puede derivar en otra, como es el caso del síndrome de Pearson que puede evolucionar a KSS. En cuanto a esta última enfermedad, las deleciones afectan a los músculos estrados, al sistema nervioso y central, al epitelio de la retina y al tejido miocárdico que generalmente es la causa de defunción en estos pacientes. La KSS suele manifestarse a partir de los 20 años y comienza con problemas oculares que se agravan por la edad, comenzando con la disminución de la agudeza visual hasta deteriorar completamente la retina. Como el resto de las patologías tienen afección multisistémica. (30)

ENFERMEDAD	FENOTIPO	MUTACIONES DEL mtDNA MÁS FRECUENTES	HOMOPLASMA (CASI SIEMPRE)	MATERNA
NARP, enfermedad de Leigh	Pérdida de la visión central que conduce a ceguera en adultos jóvenes	m.1778G>A, m.14484T>C, m.3460G>A	Heteroplásmica	Materna
MELAS	Mioencefalopatía mitocondrial, acidosis láctica y episodios similares a apoplejía; puede manifestarse sólo como diabetes mellitus	Mutación puntual de tRNA ^{leu}	Heteroplásmica	Materna
MERRF	<i>Epilepsia mioclónica, fibras musculares estriadas rasgadas, ataxia, aumento de las proteínas en LCR, Hipoacusia neurosensorial, demencia</i>	Mutación puntual de tRNA ^{leu}	Heteroplásmica	Materna
Hipoacusia	Hipoacusia neurosensorial progresiva, a menudo producida por antibióticos aminoglucósidos	Mutación m.1555A>G en rRNA 12S	Homoplásmica	Materna
	Hipoacusia neurosensorial no sindrómica	Mutación m.7445A>G en rRNA 12S	Homoplásmica	Materna
Oftalmoplejía externa progresiva (PEO) crónica	Ptosis y oftalmoplejía bilaterales de inicio tardío, debilidad muscular proximal e intolerancia al ejercicio	Deleciones o duplicaciones únicas	Heteroplásmica	En su mayor parte esporádica, mutaciones somáticas
Síndrome de Pearson	Insuficiencia pancreática, pancitopenia, acidosis láctica	Delección grande	Heteroplásmica	Esporádica, mutaciones somáticas
Síndrome de Kearns-Sayre (KSS)	Oftalmoplejía externa, bloqueo cardíaco, pigmentación retiniana, ataxia	La "delección común" de 5 kb	Heteroplásmica	Esporádica, mutaciones somáticas

LCR, líquido cefalorraquídeo; NARP, debilidad neurológica, ataxia y retinitis pigmentaria.

Ilustración 4: Enfermedades mitocondriales por mutaciones puntuales y reordenamientos a gran escala del mtDNA (31)

Las mutaciones mitocondriales también pueden estar asociadas a otras enfermedades más comunes como son la diabetes, el Alzheimer, el Parkinson o el cáncer. La diabetes, que es la enfermedad crónica más común, esta asociada con una mutación en el mtDNA (m.3243 A > G) que además está asociada a sordera. (32) El Parkinson es una enfermedad caracterizada por la pérdida de dopamina en la sustancia negra del cerebro. Se han observado en estos pacientes altos niveles de deleciones en el mtDNA contenido en la sustancia negra de las neuronas. (33) Últimamente se ha relacionado algunas alteraciones mitocondriales con el riesgo a padecer un tumor. En un estudio sobre pacientes con cancer de próstata se observo que el 11% de la muestra tenían una alteración genética en el gen mitocondrial que codifica la subunidad 1 de la citocromo c oxidasa (mt-COI). (34)

5.6. LÍNEAS DE TRATAMIENTO

Actualmente el tratamiento de las enfermedades mitocondriales es paliativo. La diversidad clínica de una misma afección, así como la heterogeneidad genotípica y fenotípica de las mutaciones limitan las posibilidades de encontrar tratamiento curativo. Por ello, las terapias están enfocadas a aliviar los síntomas y evitar o retardar la progresión de la enfermedad.

Existen terapias farmacológicas específicas aunque lo más común son terapias de mantenimiento que consisten en intervenciones de tratamiento combinado con fármacos y dietas. Los tratamientos se basan en intentar modificar la función de la OXPHOS así como reducir el estrés oxidativo y eliminar la acumulación de metabolitos tóxicos. (11)

La terapia nutricional consiste en proporcionar a los enfermos un adecuado aporte de nutrientes y micronutrientes. Las nuevas líneas de investigación consisten en la administración de aceptores de electrones (Coenzima Q10) para enfermedades con fallo en la fosforilación oxidativa así como cofactores (creatina) y agentes capturadores de ROS (idebenona). (1)

6. OBJETIVOS

Las enfermedades mitocondriales están provocadas principalmente por trastornos en el metabolismo energético mitocondrial y están causadas por mutaciones en el DNA mitocondrial. Estas enfermedades tienen una gran heterogeneidad clínica y genética lo que dificulta su tratamiento.

El objetivo de este Trabajo Fin de Grado es analizar las intervenciones nutricionales para paliar los efectos clínicos de las mutaciones y probar su eficacia demostrada. Para ello, se ha realizado una revisión bibliográfica de estudios sobre efecto de tratamiento con micronutrientes, agentes moduladores del metabolismo y agentes antioxidantes. Se han recopilado estudios en humanos sobre suplementación con siete micronutrientes con resultados favorables. Este trabajo se ha centrado en los ensayos realizados en los últimos 20 años en el que la patología principal de los pacientes era una enfermedad mitocondrial.

7. METODOLOGÍA

Para realizar esta revisión bibliográfica se ha hecho una búsqueda de artículos de investigación en dos webs de referencia de base de datos, Pubmed y Web of Science (WoS). Ambos recursos son libres y gratuitos y contienen bibliografía multidisciplinar. Así pues, la búsqueda se realizó utilizando palabras clave como: “mitochondrial diseases”, “nutritional intervention”, “DNA mitochondrial”, “nutritional therapy”, “human mitochondrial genome”. En ocasiones indexadas por la palabra AND, por ejemplo: “mutation and mtDNA” o “mitochondrial diseases and nutritional intervention”.

Además se utilizaron buscadores online para libros y manuales, usando para estos primeros el portal de AlcorZe de la Universidad de Zaragoza (UZ), así como el acceso a la plataforma AccessMedicina de McGraw-Hill también por parte de UZ. Para los manuales españoles se utilizó el servidor de Google.

Inicialmente la búsqueda se centró en artículos de acceso libre que hubieran sido publicados en los últimos 20 años. Sin embargo, posteriormente se amplió la búsqueda de artículos utilizando el servidor Web of Science que gracias al acceso de la UZ se pudo acceder a un número mayor de artículos de acceso no libre.

Se ha realizado una revisión bibliográfica centrada en los ensayos publicados en los que la muestra eran seres humanos. Un criterio de exclusión para este trabajo fue que la patología principal de los pacientes fuera debida a una mutación en el DNA mitocondrial y no un defecto del sistema OXPHOS presente en otras patologías. Este requisito redujo los estudios encontrados significativamente.

8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La coenzima Q10, la creatina, la L-arginina o la L-carnitina, y algunos antioxidantes como el ácido α -lipóico, se han utilizado como suplementos mitocondriales para tratar enfermedades mitocondriales. Existen casos individuales documentados y algunos estudios con muestras pequeñas que no son suficientes para probar la validez de estos tratamientos. A continuación se exponen algunos de los micronutrientes más utilizados y su relevancia clínica.

8.1. COENZIMA Q10

La coenzima Q10 (CoQ10) es una benzoquinona soluble a lípidos que actúa como aceptor de electrones en los complejos C-I y C-II y transfiere electrones al C-III. Además, colabora en la estabilidad de OXPHOS. (35) Actúa como antioxidante y es de síntesis endógena aunque también se administra mediante la dieta. Es el suplemento más utilizado en enfermedades mitocondriales. Esto es en parte porque es el más estudiado, y por otro lado la importante función que ejerce tanto en el sistema OXPHOS como en la eliminación de ROS. (36)

Para relacionar las enfermedades nutricionales con el déficit de CoQ10 se llevo a cabo un estudio multicéntrico en que se evaluó la frecuencia de déficit en 76 pacientes con mutaciones mitocondriales. La muestra era heterogénea fenotípicamente. Como resultado se observo niveles bajos de CoQ10 en músculo en 26 de los pacientes. En 9 de ellos, los bajos niveles de coenzima se pudieron asociar con la presencia de una mutación en el mtDNA. Esta correlación dio pie a la investigación de la CoQ10 como tratamiento de las enfermedades mitocondriales. (37)

En un estudio se observaron los efectos de suministrar CoQ10 a altas dosis a 30 personas con enfermedades mitocondriales entre los cuales estaban 15 MELAS, 11 CPEO y 1 LHON. Se realizó un ensayo cruzado aleatorio controlado por placebo en el que se suministraron 1200 mg/día durante 60 días. Al final se realizaron analíticas de sangre de factores bioquímicos como lactato, CoQ10, bilirrubina o creatina quinasa. Además se realizaron cuestionarios de calidad de vida y actividades diarias así como una medición de la saturación de oxígeno o de la fuerza de agarre y la composición corporal. El estudio concluyó que los pacientes suplementados reducían el aumento del lactato post ejercicio, aumentaron los niveles de CoQ10 en plasma y disminuyó el contenido de colina en la materia gris. Sin embargo, no se observaron grandes cambios en la capacidad aeróbica, ni hubo más parámetros que se vieran modificados sus valores de manera significativa. (38)

El grupo de investigación liderado por *Kerr* presentaron en 2013 el diseño de un ensayo clínico aleatorizado, doble ciego por control cruzado. En 2017 se publicaron los datos obtenidos del estudio. La muestra consistía en 24 pacientes diagnosticados con diversas mutaciones del mtDNA que alteraban la función de la cadena de transporte de electrones y presentaban deficiencias en los complejos C-I, C-III o C-IV. Se les administró vía oral 10mg/Kg diarias durante seis meses. Sin embargo, se estableció una dosis máxima de 400mg diarios. Al finalizar el primer periodo de seis meses se invirtieron los fármacos, es decir, los que tomaban placebo pasaron a tomar CoQ10 y viceversa. Simultáneamente también se les dio un coctel de otros micronutrientes: tiamina, riboflavina, ácido ascórbico y L-carnitina. Al finalizar el estudio solo quedaron 15 de los 24 pacientes y en la hipótesis inicial se esperaba una muestra de 40, todo esto hizo que los parámetros observados no fueran significativos. (39) (40)

En la actualidad se está realizando un estudio en fase tres en niños para determinar la eficacia de suplementación con CoQ10 en enfermedades mitocondriales infantiles. En 2012 se publicó el diseño del estudio como método para aumentar el número de muestra invitando a otros profesionales a colaborar en la búsqueda de tratamientos nutricionales y farmacológicos en estas patologías y de esta manera incluir a sus pacientes en el estudio. El ensayo se realizará de manera aleatoria, usando el método de doble ciego. A unos pacientes se les administrará placebo y a los pacientes que se les administre CoQ10 será por vía oral y de forma líquida durante seis meses. En el ensayo participan cuatro centros de tratamiento distintos. Se valorará tanto la función motora como la calidad de vida de los pacientes. Dado que el estudio aún se está llevando a cabo los resultados del mismo aun no han sido publicados. (41)

8.2. IDEBENONA

Otra benzoquinona que se utiliza para el tratamiento de enfermedades mitocondriales es la idebenona. Sus funciones son similares a las que realiza la CoQ10. Se ha demostrado su eficacia en la enfermedad de LHON. Su eficacia podría ser debida a su actuación como antioxidante y transportador de electrones. (42)

En un estudio realizado en 2011 se demostró la eficacia de este suplemento para mejorar la agudeza visual. Se realizó un ensayo aleatorio multicéntrico de doble ciego con placebo en el que se suplementó con 900mg diarios durante 24 semanas. El tamaño de la muestra era de 85 pacientes con una de las siguientes mutaciones: m.3460G> A, m.11778G> A y m.14484T> C, todas asociadas a LHON. Aunque no se obtuvo un resultado significativo de la recuperación de

la agudeza visual en general, si que se observo una mejora en pacientes con agudezas visuales discordantes por lo que son estos especialmente los más beneficiados con la suplementación. No se observaron efectos adversos a su administración. (43)

Siguiendo los resultados anteriores, una serie de investigadores quisieron probar la confusión de colores como síntoma temprano de enfermedad de LHON. Se investigo la capacidad terapéutica de suplementación oral de idebenona a 900mg/día en 39 pacientes con diagnostico reciente de LHON. Se realizo un estudio de intervención aleatorizado, doble ciego y controlado con placebo. La suplementación se realizo a 28 pacientes y a 11 se les dio placebo durante seis meses. Al finalizar el estudio se encontró una correlación significativa entre la suplementación y una mejora de la visión de los colores en comparación con los pacientes con placebo. Destacar que los pacientes con agudeza visual discordante tuvieron un efecto positivo mayor. Los autores concluyeron que la idebenona puede proteger a los pacientes de LHON de la pérdida de visión de colores, especialmente de los que tienen mayor riesgo de perdida de esta. (44)

En 2016 se realizo un estudio doble ciego, controlado por placebo aleatorizado en el que participaron 27 pacientes diagnosticados de MELAS. La finalidad del estudio era probar la eficacia de la administración de idebenona para paliar los síntomas asociados a la enfermedad. Durante un mes se les administro el micronutriente por vía oral o placebo. En el caso del suplemento se estudio también la dosis recomendada. Para ello, algunos recibieron 900mg/día y otro grupo 2500mg/día durante cuatro semanas. Para medir la efectividad del tratamiento se valoro la concentración de lactato y la puntuación de la escala de gravedad de la fatiga al finalizar la suplementación. Seis pacientes abandonaron el estudio. Se observaron algunos efectos adversos como trastornos intestinales, cardiacos, del sistema nervioso e incluso renales. En cuanto a los resultados se observo una disminución de la concentración de lactato tanto en los pacientes administrados con dosis bajas y en el grupo placebo, en contraposición, los que tomaron dosis altas aumentaron estos valores. Cabe destacar que la suplementación supuso un descenso de los marcadores de riesgo de fatiga en ambas dosis y en el grupo control aumento. (45) (46)

Aunque el tratamiento con bezoquinonas para enfermedades mitocondriales esta aceptado, no existe un consenso concreto de la dosis o el periodo de tiempo de administración recomendado así como la vía de suplementación. En el consenso internacional del tratamiento de LHON de 2017 se sugirió que la dosis debe ser entorno a 300mg/día. También se llego a la conclusión de que la ubiquinona es mal absorbida en el intestino y es insoluble en agua. (47)

8.3 CREATINA

La creatina es un antioxidante que unido a un fosfato forman la fosfocreatina dentro de las mitocondrias. Sirve para almacenar energía metabólica y ayuda al transporte de ATP y fosfatos desde la matriz mitocondrial hasta el citoplasma. Puede ser endógena o derivada de la dieta y se acumula en los tejidos que requieren mayores cantidades de energía. Se ha observado en miopatía mitocondrial (MM) una reducción de la fosfocreatina en el músculo esquelético. (48)

La suplementación con creatina aumenta los niveles de fosfocreatina tanto en pacientes sanos como en enfermos mitocondriales. Los atletas que practican deportes de resistencia de corta duración o alta intensidad la utilizan como suplemento dietético para aumentar el rendimiento muscular. Sin embargo, se debe realizar suplementación con L-creatina con cuidado en pacientes con enfermedades renales o hepáticas por el riesgo a originarse cristales.

Una técnica para estimar la capacidad OXPHOS del musculo esquelético es utilizar la tasa de recuperación de creatina libre. En un estudio con 13 pacientes con enfermedades mitocondriales variadas y un grupo control de 14 voluntarios sanos se observo que los enfermos tenían una tasa post entreno más prolongada que el grupo control y una disminución de la creatina libre. Por tanto, se sugirió una menor capacidad de OXPHOS en estos pacientes y por tanto menor energía metabólica. Se sugirió que si se suplementaba con creatina, aumentarían los niveles de fosfocreatina y mejoraría la fosforilación oxidativa. (49)

La creatina podría ser un biomarcador adicional de enfermedades mitocondriales. Un estudio de cohorte utilizo a 33 pacientes con patologías mitocondriales. En comparación con el grupo sano, 9 de los participantes tenían alterado la concentración de creatina plasmática lo cual no fue significativo para verificar que la esta molécula es un marcador. Sin embargo, la especificidad del estudio era aceptable (83%) por lo que podría resultar útil para reforzar el diagnostico de estas enfermedades. (50)

En un ensayo controlado de diseño cruzado aleatorio, 7 pacientes con citopatía mitocondrial fueron administrados con creatina durante dos semanas a 5g / dos veces al día y una semana más con 2g / dos veces al día. A los pacientes se les controló la actividad diaria, la fuerza de agarre y de contracción, la dorsiflexión y pruebas derivadas de la medición de lactato pre y post ejercicio. Los resultados mostraron una disminución significativa del lactato post ejercicio, un aumento significativo de la fuerza de agarre y la dorsiflexión. Por ello, concluyeron que existía un aumento de la fuerza y de la potencia aeróbica y anaeróbica en ejercicios de alta intensidad en pacientes con citopatías mitocondriales tras la suplementación. Sin embargo, no hubo

cambios ni en la actividad diaria ni en la composición corporal. (51) Años más tarde, otro estudio siguiendo esta aproximación obtuvo resultados parecidos al realizar una intervención con creatina a 4 niños con encefalopatías mitocondriales (dos con KSS, uno con MELAS y otro con neuropatía, ataxia y retinitis pigmentosa (NARP)) concluyendo que los suplementos de creatina podrían tener beneficios en los efectos clínicos de las enfermedades mitocondriales. (52)

Se realizó un ensayo aleatorio cruzado controlado por placebo en 13 pacientes con CPEO y 3 con MM para probar la seguridad y eficacia de la creatina en este tipo de enfermedades. Recibieron 20g diarios divididos en cuatro tomas de suplemento durante cuatro semanas. A continuación, los sujetos estuvieron 29 días sin tomar ni suplemento ni placebo y después se les administró la fórmula contraria durante otras cuatro semanas. Es decir, a los que inicialmente tomaron creatina se les dio placebo y viceversa. Se evaluó la capacidad motora, pruebas de fuerza, pruebas de tiempo, se controlaron parámetros como la motilidad ocular o la velocidad de los movimientos oculares guiados. Se puntuó tanto el ejercicio aeróbico como anaeróbico y la concentración de lactato antes y después del entrenamiento. El uso de la creatina como suplemento se toleró bien salvo en dos casos que experimentaron calambres, pero no hubo efectos significativos en las personas tratadas con respecto al rendimiento durante ejercicio o los movimientos oculares. (53)

También se ha realizado un estudio cruzado de doble ciego controlado por placebo en el que los 15 sujetos sufrían las enfermedades KSS o CPEO como resultado de diversas deleciones en el mtDNA. Se les suministró 150g/kg diarios en seis semanas, y se les realizaron pruebas biomédicas y analíticas además de comprobar como evolucionaba el grado de la disfunción mitocondrial (que era severa). Al final del estudio no se observaron cambios significativos en la fosforilación oxidativa del músculo esquelético de los pacientes, no mejoró la recuperación de fosfocreatina tras el entrenamiento ni los valores de lactato. Tampoco se observaron efectos adversos al tratamiento. (54)

En un estudio retrospectivo se analizó el efecto de la creatina en cinco personas jóvenes con diversas encefalopatías mitocondriales (2 pacientes KSS, dos MELAS y uno NARP). Se demostró que la suplementación con creatina mejoraba la función oxidativa aeróbica en estos pacientes. De hecho, los 5 pacientes aumentaron su rendimiento máximo durante el ejercicio, así como de la potencia muscular en acciones prolongadas. El grado de mejora varía dependiendo del genotipo de cada paciente y de la conformación bioquímica de sus fibras musculares. (55)

8.4. ÁCIDO α -LIPOICO

El ácido α -lipoico es un antioxidante natural, que actúa como cofactor redox de la piruvato deshidrogenasa y la α -cetoglutarato deshidrogenasa. Actúa eliminando ROS y por lo tanto puede ser fundamental en las enfermedades mitocondriales. Además, mejora la absorción de fosfocreatina. Se sintetiza endógenamente. (56)

Se ha estudiado la administración de suplementación con ácido α -lipoico en otras enfermedades asociadas a desequilibrios oxidativos como la diabetes o patologías cardiovasculares, sin embargo, hasta ahora no se ha podido establecer asociación entre la suplementación y una mejora en las manifestaciones de las enfermedades. En un estudio sobre suplementación en diabetes con una muestra superior a 200 pacientes y un grupo control con placebo similar se suplementó con 600mg/día pero no se encontró relación significativa con ninguno de los parámetros observados. Como hipótesis se dedujo que esta no correlación podía deberse al aumento de la inflamación y el estrés oxidativo propios de la patología. (57) Aun así, el ácido α -lipoico se ha utilizado en combinados de nutrientes para las enfermedades mitocondriales como en el siguiente estudio.

8.5. COMBINADO DE NUTRIENTES: COENZIMA Q10, CREATINA Y ÁCIDO α -LIPOICO

Una de las estrategias de intervención más comunes es el llamado “cóctel mitocondrial” de administración oral, que está diseñado para contrarrestar el deterioro de la función mitocondrial. (58)

En un estudio retrospectivo realizado por la *United Mitochondrial Disease Foundation* se calculó que los cócteles nutricionales utilizados en tratamientos para enfermedades nutricionales tienen entorno a cuatro compuestos. Sin embargo, no se han esclarecido beneficios claros a la combinación de nutrientes. (59)

Se realizó un estudio con 16 personas con enfermedades mitocondriales (CPEO, KSS, MELAS, LHON). Este estudio fue monitorizado aleatoriamente por doble ciego y controlado por placebo. El cóctel de suplementos contenía creatina (3g), ácido α -lipoico (300mg) y CoQ10 (120mg). Se realizaron dos tomas del suplemento diarias durante dos meses. Se tomaron mediciones sobre la capacidad vital, el volumen aspirado forzado, la masa libre de grasa o la masa corporal. También se midió la capacidad de realizar ejercicio y la dorsiflexión del tobillo y valores bioquímicos como los de lactato plasmáticos. Como resultado del estudio, los niveles de lactato descendieron con el tratamiento al igual que la dorsiflexión del tobillo. En el caso de los

enfermos de MELAS se obtuvieron también mejoras a nivel de la composición corporal y un aumento de la masa libre de grasa, el agua corporal y disminución del tejido graso. Aunque los resultados fueron prometedores para una intervención nutricional paliativa de enfermedades mitocondriales, los investigadores apuntan que la heterogeneidad del tratamiento en las distintas enfermedades mitocondriales estudiadas supone un obstáculo a tener en cuenta en futuras aproximaciones. (60)

8.6. L - ARGININA

La L-arginina es un aminoácido esencial y precursor del óxido nítrico (NO), clave para la expresión génica por ser activador de algunas enzimas metabólicas. Está involucrada en el crecimiento y la síntesis de creatina. Este aminoácido es de síntesis endógena y se encuentra con gran demanda metabólica en situaciones de estrés o enfermedad. (61)

Aun no se ha establecido un consenso sobre la relevancia clínica y su uso como suplementación. A pesar de que su uso no este validado, es comúnmente utilizado para el tratamiento preventivo de accidentes de tipo cerebrovascular en la enfermedad mitocondrial de MELAS. La eficacia de este tratamiento se podría relacionar con la vasodilatación cerebral y la función endotelial, debido a un aumento en la disponibilidad de NO ya que se ha observado una relación entre la deficiencia de este intermediario y los eventos similares a ictus. (62) Además de la insuficiencia de energía y la acumulación de ROS también se relacionan con esta patología. La sobredosis de suplementación de L-arginina puede derivar en una superproducción de NO y originar hipotensión e hiponatremia que puede conllevar a mielosis central o periférica. (63)

Un estudio realizado por *Koga* y colaboradores, analizaron los efectos de la administración intravenosa de L-arginina (500mg/kg) en tres pacientes con MELAS, cuando sufrieron una fase aguda de ictus. Su hipótesis fue que los episodios similares a este accidente cardiovascular en pacientes con MELAS, se deben a un deterioro en la dilatación de las arterias intracerebrales. Se observó una disminución de la gravedad de los síntomas relacionados con el ictus, mejoría en la circulación sanguínea vascular y reducción de lesiones tisulares. Los niveles de L-arginina plasmática post-tratamiento fueron valores normales. (64)

El mismo grupo publicó en 2007 otro estudio más amplio con 24 pacientes de MELAS de un hospital de Japón. Durante el periodo del estudio estos pacientes presentaron 34 episodios cardiovasculares y fueron tratados con L-arginina o placebo a las tres horas de presentar síntomas. Se administró vía intravenosa durante 15 minutos una de las siguientes soluciones:

L-arginina en 24 de los casos, placebo en 6 y D-arginina en los otros 4. Se evaluaron a los 15 minutos, a los 30 minutos y a las 24 horas parámetros bioquímicos como la concentración plasmática del lactato, arginina, piruvato o NO. También se midió la hemostasia cerebral y se evaluaron síntomas como dolor de cabeza, discapacidad clínica o vómitos. Tras el tratamiento con L-arginina hubo una mejora de todos los síntomas cerebrovasculares. Dos de los pacientes reflejaron simplemente dolor de cabeza tras una rápida infusión de la solución. Se observó a los 30 minutos un descenso de la presión arterial y un aumento de los niveles plasmáticos de citrulina así como valores máximos en la concentración de NO significativamente mayores respecto al grupo placebo. A las 24 horas de la intervención, los valores de piruvato y lactato estaban normalizados y la arginina plasmática, la citrulina y el NO volvieron a los valores de fase interictal.

A su vez, se compararon parámetros bioquímicos para determinar la alteración de la concentración plasmática de L-arginina y NO en pacientes con MELAS. Para ello, se compararon los resultados biomédicos de los 24 pacientes anteriores con una muestra control de 72 niños sanos. Como resultado se obtuvo una disminución significativa de la concentración de L-arginina y citrulina en el grupo a estudio respecto al control. Además, comparando los valores de L-arginina respecto a la citrulina destaca que en fase aguda las concentraciones del primero son más bajas que cuando no cursa ningún evento, sin embargo, en el segundo la concentración no varía de forma significativa entre fases. (65)

Simultáneamente se realizó otro estudio sobre el tratamiento prolongado con este aminoácido. Se administró a seis pacientes MELAS suplementación oral de L-arginina durante 12-18 meses a dosis de 150-300mg/kg/día. Los pacientes fueron monitorizados cada dos semanas clínica y bioquímicamente. La finalidad era reducir la frecuencia de eventos cardiovasculares en la enfermedad mitocondrial. Los resultados fueron una mejora significativa de la función endotelial, así como normalidad en los niveles séricos del aminoácido y un descenso significativo de la frecuencia y la gravedad de los episodios asociados a MELAS. (66)

Por último, en 2018, este grupo publicó el seguimiento de 15 pacientes a los que se les había administrado L-arginina vía intravenosa y a 10 pacientes con suplementación oral. El estudio comenzó con la recogida de voluntarios para el estudio en 2009. El periodo de reclutamiento duró dos años y fueron sometidos a una de las dos intervenciones. A los 7 años de la administración se evaluó los síntomas asociados a efectos cardiovasculares en el caso de vía intravenosa y a los que tomaron suplementación oral la presencia o no de algún evento y la magnitud del mismo. Los resultados fueron una disminución de la incidencia y la gravedad de

ictus en pacientes suplementados oralmente mientras que los pacientes que recibieron una intervención intravenosa mejoraron los síntomas principales: náuseas o vómitos, alteración de la conciencia visual y dolor de cabeza. Además en ninguna de las dos intervenciones se observaron efectos adversos. (67)

Un estudio piloto retrospectivo publicado en 2020 narra el tratamiento con L-arginina a tres hermanos con la mutación (m.3243A>G) en el gen *mt-TL1* que se corresponde con el síndrome MELAS. Se les pauto una única dosis intravenosa seguido de seis semanas de tratamiento oral en un periodo libre de síntomas de la enfermedad. Se observó que todos restauraron los niveles de L-arginina en suero pero no hubo alteraciones en la concentración de lactato como se había contemplado en otros estudios. La suplementación con L-arginina también ralentizó la acidificación, aumentó la proporción fósforo/fosfocreatina y bajo el tiempo de recuperación de proteína C reactiva tras un ejercicio moderado. En una de las pacientes hubo una reducción del flujo sanguíneo cerebral después del tratamiento. Estos resultados se asociaron con un mejor aprovechamiento de los sustratos energéticos y una disminución de las señales bioquímicas que aumentan el flujo en pacientes no tratados. (68)

También existen artículos relacionados con la combinación del tratamiento de L-arginina con citrulina. En pacientes MELAS, la citrulina puede aumentar la producción de NO. Un estudio utilizando una cohorte de 10 sujetos diagnosticados con MELAS y controles emparejados por sexo, edad y el índice de masa corporal (BMI) evaluó la producción de esta molécula en utilizando este combinado. Se utilizó una técnica de infusión de isótopos estables para medir el metabolismo de estos dos precursores y el NO. Estos parámetros se midieron antes y después de la suplementación. El estudio fue controlado por un grupo control al que no se le administro ningún suplemento, simplemente se controló la dieta 48 horas antes de tomar las medidas de los valores de L-arginina y citrulina y NO en pacientes sanos. En cuanto al grupo con MELAS, se realizó primero una intervención dietética antes de la infusión que consistía principalmente en una dieta controlada en proteínas 1g/kg y era baja en nitritos y nitratos. 48 horas después se procedió a coger la primera muestra y a continuación se les suministroo vía oral el suplemento de L-arginina 10mg/kg cada 4 horas durante 48 horas y se realizó la segunda infusión de isotopos. El grupo MELAS volvió a pasar por el mismo proceso una semana después, pero esta vez se les administro citrulina. Los resultados mostraron que los sujetos MELAS tienen una menor síntesis de NO debido en parte a un flujo reducido de citrulina, menor síntesis endógena de L-arginina y una concentración de ambas sustancias disminuida. Además se observó aclaramiento de la L-arginina. Después del estudio se concluyó que ambas suplementaciones aumentaban la tasa de síntesis de L-arginina de novo, los valores en plasma y la producción de

NO, especialmente en la suplementación con citrulina. Así pues, la combinación de estos suplementos podría reducir algunas características clínicas del síndrome de MELAS como la debilidad muscular, migraña, eventos cerebrovasculares o diabetes. (69)

La suplementación de L-arginina y citrulina no está avalada científicamente como tratamiento para la enfermedad de MELAS, principalmente por la falta de estudios a gran escala con una muestra representativa así como la variedad de en cuanto a dosis y metodología de los estudios ya realizados. Aun así, se han publicado varios estudios de casos clínicos aislados en el que se usa L-arginina como tratamiento para enfermos MELAS. En Italia se ha documentado un caso con 20 años de duración en el que, aunque el deterioro de la enfermedad no ha sido frenado, los investigadores reflejan una posible disminución de los eventos cerebrovasculares, así como una mejoría en cuanto a los síntomas referidos. Además, no se observaron efectos adversos a la administración prolongada. (70) Otro caso a destacar es una intervención en un niño de 10 años con un diagnóstico de MELAS que sufrió un evento parecido a un ictus y al que se le detectaron varias mutaciones genéticas. En esta situación, se le administró L-arginina por vía intravenosa, durante las primeras 24 horas el paciente recibió 500mg/kg/día dividido en 3 dosis, al día siguiente se redujo la dosis a 2000mg/kg/día en tres tomas durante 48 horas finalmente se le suplementó con 1g dos veces al día a lo largo de 6 meses. Se observó una mejoría del cuadro clínico post ictus y se continuó el tratamiento vía oral. Los autores reflejan una función preventiva de la suplementación de L-arginina respecto a los síntomas asociados a MELAS, sin embargo, el deterioro cognitivo que implica la enfermedad continuó avanzando. (71)

8.7. L - CARNITINA

La L-carnitina es un sustrato mitocondrial fundamental para la translocación de ácidos grasos desde el citosol a la matriz mitocondrial durante la β -oxidación y colabora en el metabolismo de carbohidratos. (72) Además, puede prevenir el agotamiento de coenzima A (CoA) eliminando el exceso de compuestos de acilo tóxicos. Se ha concluido que e los errores en la cadena respiratoria derivan en una reducción de la L-carnitina libre en plasma y un aumento de la escerificada. También es un antioxidante que reduce el estrés metabólico en las células. (73) Aunque es una sustancia endógena, la mayoría se obtiene de la dieta.

La suplementación con este aminoácido a personas con citopatías mitocondriales previsiblemente podría suponer un mejor aprovechamiento de los nutrientes incorporados, que esta molécula ayuda a sintetizar o introducir en la mitocondria y por tanto conllevaría una mejora clínica y nutricional del paciente. (74) Este tratamiento en enfermedades mitocondriales

puede provocar una eliminación de los acilos tóxicos acumulados, así como una restauración de la concentración plasmática de la L-carnitina libre. (75)

En un ensayo cruzado, aleatorio controlado con placebo de doble ciego, se estudió el efecto de la L-carnitina en 12 pacientes con CPEO y un grupo control de 10 individuos, relacionándolo con su tolerancia al ejercicio. Se asignó aleatoriamente una suplementación diaria de 3 gramos de L-carnitina o placebo. Se valoró el estado clínico, la composición corporal, pruebas respiratorias y de fuerza así como límite de tolerancia antes de empezar el estudio y a los dos meses de empezar el tratamiento. Los pacientes con CPEO presentaron un descenso del peso corporal, de la masa libre de grasa y del músculo periférico en comparación con sus resultados previos. También mejoraron su límite de tolerancia y el consumo de oxígeno durante el ejercicio, así como una disminución de la relación de intercambio de gases en comparación con el grupo placebo. Como resultado los autores afirman que la suplementación con L-carnitina puede mejorar en estos pacientes no solo la tolerancia al ejercicio sino la capacidad aeróbica y no expusieron efectos adversos. (76)

En otro estudio sobre la aparición de deficiencia de L-carnitina plasmática en MM se observó que de los 48 sujetos estudiados 21 tenían una deficiencia de esta molécula e incluso 4 de ellos tenían una deficiencia total del aminoácido libre. A su vez, se observó un aumento de la concentración plasmática de Acil-Carnitina de cadena corta y larga comparado con el grupo control. A los enfermos con deficiencia se les suplemento con L-carnitina con una dosis de 200mg/kg/día en cuatro dosis diarias. La suplementación mejoró los síntomas de debilidad muscular en 19 de los pacientes e incluso otras patologías derivadas como la miocardiopatía (en las 8 personas que la padecían) o su encefalopatía (1 persona). Por lo tanto, en este estudio se estableció una relación de la insuficiencia de L-carnitina plasmática con la detección precoz de enfermedades mitocondriales y así mismo su tratamiento con suplementación de esta molécula. (77)

Sin embargo, no se ha llegado a validar el uso de suplementación con este aminoácido debido a los riesgos que presenta su administración. Se ha observado un incremento en el riesgo cardiovascular si los niveles de L-carnitina están altos en ayuno. Además, es precursor del trimetilamina-N-óxido (TMAO) que esta directamente relacionado con el aumento del riesgo cardiovascular. En modelos de estudio de ratón se observó que la suplementación crónica de L-carnitina en dieta aumentaba la síntesis de TMAO lo que significo en un amento de padecer arterioesclerosis. (78) (79)

9. CONCLUSIONES

El uso de intervenciones nutricionales como tratamiento paliativo en enfermedades mitocondriales está generalizado. Esto se debe principalmente a la función de los micronutrientes como cofactores en la fosforilación oxidativa. Aunque sea una práctica habitual su uso, es necesaria una mayor investigación sobre este tipo de intervenciones para su validación, así como determinar en que casos son efectivos y asegurar una buena terapia.

Lo primero que se debe destacar es la dificultad para definir las enfermedades mitocondriales. Esto es debido a la gran variabilidad fenotípica en cada patología y que una misma enfermedad puede derivar de alteraciones en distintos genotipos. Esto supone un reto para encontrar un tratamiento para todos los enfermos de una misma mutación y a su vez, una dificultad para tratar un mismo signo clínico o síntoma común entre varias enfermedades mitocondriales. Estas características suponen el primer reto para diseñar estudios con suficiente relevancia para validar un tratamiento.

En cuanto a los estudios que se han llevado a cabo, existen tres factores clave que dificultan conseguir la evidencia científica suficiente para aprobar un tratamiento. Primero, las muestras de la mayoría de los estudios no son significativas. Por un lado, la cantidad de pacientes observados no es suficiente para ser relevante. Por otro lado, existen estudios con muestras de una única patología o con varios pacientes de distintas enfermedades.

Otro factor que impide la comparación de estudios de un mismo suplemento para una misma manifestación clínica a una mutación mitocondrial es la diversidad de metodología. En cuanto a los factores de medición, en la mayoría de ellos se evalúa la composición corporal, la concentración de lactato, la intolerancia al ejercicio o valores de composición corporal. Sin embargo, tanto las técnicas de medición como algunos parámetros medidos y el momento del estudio en el que se miden son distintos. Respecto a estudios sobre un mismo nutriente también existe variabilidad sobre la forma de administración, la cantidad y de la duración del tratamiento.

Existe una falta de estudios de seguimiento a pacientes suplementados. Se debe recordar que la mayoría de las patologías mitocondriales tienen una esperanza de vida reducida lo que dificulta este tipo de rastreo.

Entre las publicaciones utilizadas en esta revisión, algunos investigadores destacaban la falta de financiación. Por un lado, destacaban las dificultades ya nombradas y por otro resaltaban que existe una devaluación de los tratamientos nutricionales por la existencia en el mercado de

suplementos dietéticos que se compran sin necesidad de receta, lo que dificulta conseguir financiación para organizar ensayos clínicos ciegos necesarios para la validación de los tratamientos. (36) (41)

En ocasiones, el diseño de los estudios se ve comprometido por la disponibilidad de recursos materiales y económicos tanto del estudio como de los pacientes. Un ejemplo sería el primer estudio de *Koga* que se realizó en un único hospital, lo que limitó en gran medida el tamaño de la muestra e implicó una falta de aleatoriedad. Sin embargo, los estudios sucesivos que realizaron contaron con mayor financiación, así como una muestra mucho mayor obtenida de varios centros médicos. (65) (67)

Algunos autores reflejan que existe una falta de estudios clínicos de calidad que relacionen directamente las mutaciones particulares con los tratamientos. Cada día existen más técnicas para obtener datos genéticos y es importante que los investigadores de todo el mundo tengan acceso a estos datos para tratar casos similares. Esto refleja la importancia de crear una base conjunta de pacientes con enfermedades metabólicas, así como de publicar casos individuales que, aunque tengan poca relevancia a nivel institucional pueden ayudar al tratamiento de otro paciente con un cuadro clínico similar. (42)

A pesar de que los suplementos nutricionales no están validados para las enfermedades mitocondriales, a excepción de la idebenona en el síndrome de LHON, actualmente son una de las principales vías de tratamiento paliativo. Su uso se justifica con la eficacia observada en otras enfermedades que generalmente comparten cuadros clínicos con las patologías mitocondriales. Este es el caso de eventos cardiovasculares en enfermedades como MELAS, encefalopatías de diversa índole que comparten la disfunción mitocondrial y otras patologías que presentan fallos en la OXPHOS, que presumiblemente, tengan una etiología multifactorial.

Por último, hay que destacar la importancia de encontrar tratamientos para estas patologías. En estos artículos se puede observar la función principalmente paliativa de los suplementos nutricionales en el tratamiento de enfermedades mitocondriales. Es necesario para su validación realizar estudios con pacientes con un gran diseño, la financiación oportuna y una muestra representativa.

10. BIBLIOGRAFÍA

1. Skorecki KL CBSKL, &CBHSL, aBHC. Harrison. Principios de Medicina Interna. 20th ed. New York, NY: McGraw-Hill Education; 2018.
2. Poulton J. Mitochondrial DNA and genetic disease. Arch Dis Child. 1988 Aug;63(8):883-5.
3. Montoya, J., López-Gallardo, E., Emperador, S., Ruiz-Pesini, E. Enfermedades del ADN mitocondrial. Monografía XXXVI: Sistema mitocondrial: un reto en la medicina humana. Monografías de la Real Academia Nacional de Farmacia. 2012. P. 119-154.).
4. Attardi, G. & Schatz, G. Biogenesis of mitochondria. Annu Rev Cell Biol; 1988; 4, 289-333.
5. Ilustración 1. CAPÍTULO 5 Respiración aeróbica y la mitocondria, Iwasa J, Marshall W. Biología celular y molecular. Conceptos y experimentos, 8e; 2020.
6. Iwasa J, Marshall W. Biología celular y molecular. Conceptos y experimentos, 8e; 2020.
7. Tang JX, Thompson K, Taylor RW, Oláhová M. Mitochondrial OXPHOS Biogenesis: Co-Regulation of Protein Synthesis, Import, and Assembly Pathways. Int J Mol Sci. 2020 May 28;21(11):3820.
8. Ilustración 2. Mitochondrial electron transport chain—Etc4-gl.svg
9. Wallace DC, Shoffner JM, Trounce I, Brown MD, Ballinger SW, Corral-Debrinski M, Horton T, Jun AS, Lott MT. Mitochondrial DNA mutations in human degenerative diseases and aging. Biochim Biophys Acta. 1995 May 24;1271(1):141-51.
10. Montoya Villarroya J. Del genoma mitocondrial a la enfermedad [Internet]. Prensas Universitarias de Zaragoza; 2010. (Colección Paraninfo. San Braulio 2010).
11. Gort Mas L., García-Villoria J. El auge de las enfermedades mitocondriales. Educación continuada en el laboratorio clínico Ed. Cont. Lab. Clin 33: 42 – 52, SEQC
12. Tabla 1. Funciones metabólicas de las mitocondrias. (1)
13. Gorman GS, Chinnery PF, DiMauro S, Hirano M, Koga Y, McFarland R, Suomalainen A, Thorburn DR, Zeviani M, Turnbull DM. Mitochondrial diseases. Nat Rev Dis Primers. 2016 Oct 20;2:16080.
14. Zhang H, Burr SP, Chinnery PF. The mitochondrial DNA genetic bottleneck: inheritance and beyond. Essays Biochem. 2018 Jul 20;62(3):225-234.
15. Taanman JW. The mitochondrial genome: structure, transcription, translation and replication. Biochim Biophys Acta. 1999 Feb 9;1410(2):103-23.

16. Mazat JP, Rossignol R, Malgat M, Rocher C, Faustin B, Letellier T. What do mitochondrial diseases teach us about normal mitochondrial functions...that we already knew: threshold expression of mitochondrial defects. *Biochim Biophys Acta*. 2001 Mar 1;1504(1):20-30.
17. Zeviani M, Di Donato S. Mitochondrial disorders. *Brain*. 2004 Oct;127(Pt 10):2153-72.
18. Goffart, S. and Wiesner, R.J.; Regulation and Co-Ordination of Nuclear Gene Expression During Mitochondrial Biogenesis. *Experimental Physiology*; 2003; 88: 33-40.
19. Bratic A, Larsson NG.; The role of mitochondria in aging.; *J Clin Invest*; 2013 Mar; 123(3):951-7.
20. Greaves LC, Taylor RW.; Mitochondrial DNA mutations in human disease.; *IUBMB Life*.; 2006 Mar; 58(3):143-51.
21. Alston CL, Rocha MC, Lax NZ, Turnbull DM, Taylor RW.; The genetics and pathology of mitochondrial disease.; *J Pathol*. 2017 Jan;241(2):236-250.
22. Campos Y., Pineda M., García Silva MT., Montoya J., Antoni L., Andreu; Protocolo de diagnóstico y tratamiento de las enfermedades mitocondriales. *Hospital Universitario* 12 de Octubre.
23. Ilustración 3. Capítulo 472 DNA mitocondrial y enfermedades y rasgos hereditarios, Jameson J, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Loscalzo J. *Harrison. Principios de Medicina Interna*, 20e; 2018.
24. Richard H. Haas, Sumit Parikh, Marni J. Falk, Russell P. Saneto, Nicole I. Wolf, Niklas Darin and Bruce H. Cohen; Mitochondrial Disease: A Practical Approach for Primary Care Physicians; *Pediatrics* December 2007, 120 (6) 1326-1333; DOI:
25. Tabla 2. Características comunes de las enfermedades relacionadas al mtDNA en adultos. Tabla propia.
26. Nikoskelainen E. New aspects of the genetic, etiologic, and. clinical puzzle of Leber's disease. *Neurology* 1984; 34:1482-4.
27. Gómez Seijo Á, Castro Orjales MJ, Pastor Benavent JA. MELAS: claves del diagnóstico y tratamiento en la Unidad de Cuidados Intensivos. *Medicina intensiva*. 2008 Apr;32(3):147-50.
28. Ayman W. El-Hattab, Adekunle M. Adesina, Jeremy Jones, Fernando Scaglia, MELAS syndrome: Clinical manifestations, pathogenesis, and treatment options, *Molecular Genetics and Metabolism*; 2015; Volume 116, Issues 1–2; Pages 4-12.

29. Yan C, Duanmu X, Zeng L, Liu B, Song Z. Mitochondrial DNA: Distribution, Mutations, and Elimination. *Cells*. 2019 Apr 25;8(4):379.
30. R E Giles, H Blanc, H M Cann, D C Wallace; Maternal inheritance of human mitochondrial DNA; *Proceedings of the National Academy of Sciences* Nov 1980, 77 (11)
31. Ilustración 4. J. Larry Jameson, Anthony S. Fauci, Dennis L. Kasper, Stephen L. Hauser, Dan L. Longo, Joseph Loscalzo+ CUADRO 472-3 Enfermedades mitocondriales por mutaciones puntuales y reordenamientos a gran escala del mtDNA
32. Susumu Suzuki, Yoshitomo Oka, Takashi Kadowaki, Azuma Kanatsuka, Takeshi Kuzuya, Masashi Kobayashi, Tokio Sanke, Yutaka Seino, Kishio Nanjo; Clinical features of diabetes mellitus with the mitochondrial DNA 3243 (A–G) mutation in Japanese: Maternal inheritance and mitochondria-related complications; *Diabetes Research and Clinical Practice*; Volume 59, Issue 3; 2003; Pages 207-217
33. Bender, A.; Krishnan, K.J.; Morris, C.M.; Taylor, G.A.; Reeve, A.K.; Perry, R.H.; Jaros, E.; Hersheson, J.S.; Betts, J.; Klopstock, T.; et al. High levels of mitochondrial DNA deletions in substantia nigra neurons in aging and Parkinson disease. *Nat. Genet.* 2006, 38, 515.
34. Petros, J.A.; Baumann, A.K.; Ruiz-Pesini, E.; Amin, M.B.; Sun, C.Q.; Hall, J.; Lim, S.; Issa, M.M.; Flanders, W.D.; Hosseini, S.H.; et al. mtDNA mutations increase tumorigenicity in prostate cancer. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2005, 102, 719–724.
35. Genova ML, Lenaz G. New developments on the functions of coenzyme Q in mitochondria. *Biofactors*. 2011 Sep;37(5):330-54.
36. Haas RH. The evidence basis for coenzyme Q therapy in oxidative phosphorylation disease. *Mitochondrion*. 2007 Jun 1;7: S136-45.
37. Sacconi, S., Trevisson, E., Salviati, L., Aymé, S., Rigal, O., Redondo, A. G., ... & Desnuelle, C. (2010). Coenzyme Q10 is frequently reduced in muscle of patients with mitochondrial myopathy. *Neuromuscular Disorders*, 20(1), 44-48.
38. Glover EI, Martin J, Maher A, Thornhill RE, Moran GR, Tarnopolsky MA. A randomized trial of coenzyme Q10 in mitochondrial disorders. *Muscle & nerve*. 2010 Nov;42(5):739-48.
39. Kerr, D.S. (2013). Review of clinical trials for mitochondrial disorders: 1997-2012. *Neurotherapeutics* 10: 307–319.
40. Kerr, D.S., deGrauw, T.J., and Feigenbaum, A.S. (2017). Phase III trial of coenzyme Q10 in mitochondrial disease: [clinicaltrials.gov, NCT00432744](https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT00432744).

41. Stacpoole, P. W., deGrauw, T. J., Feigenbaum, A. S., Hoppel, C., Kerr, D. S., McCandless, S. E., ... & Tang, P. H. Design and implementation of the first randomized controlled trial of coenzyme Q10 in children with primary mitochondrial diseases. *Mitochondrion*; 2012. 12(6), 623-629.
42. Slone J, Gui B, Huang T. The current landscape for the treatment of mitochondrial disorders. *Journal of Genetics and Genomics*. 2018 Feb 20;45(2):71-7.
43. Klopstock T., Yu-Wai-Man P., Konstantinos Dimitriadis, Jacinthe Rouleau, Suzette Heck, Maura Bailie, Alaa Atawan, Sandip Chattopadhyay, Marion Schubert, Aylin Garip, Marcus Kernt, Diana Petraki, Christian Rummey, Mika Leinonen, Günther Metz, Philip G. Griffiths, Thomas Meier, Patrick F. Chinnery, A randomized placebo-controlled trial of idebenone in Leber's hereditary optic neuropathy; *Brain*; 2011; Volume 134, Issue 9, Pages 2677–2686
44. Rudolph, G., Dimitriadis, K., Büchner, B., Heck, S., Al-Tamami, J., Seidensticker, F., ... & Klopstock, T. Effects of idebenone on color vision in patients with leber hereditary optic neuropathy. *Journal of Neuro-Ophthalmology*; 2013; 33(1), 30.
45. Liufu T, Wang Z. Treatment for mitochondrial diseases. *Reviews in the Neurosciences*. 2021;32(1): 35-47.
46. Hirano, M.; Study of idebenone in the treatment of mitochondrial encephalopathy lactic acidosis & stroke-like episodes (MELAS); 2016; Michio Hirano, Columbia University; ClinicalTrials.gov Identifier: NCT00887562
47. Carelli V, Carbonelli M, Irenaeus F, Kawasaki A, Klopstock T, Lagrèze WA, La Morgia C, Newman NJ, Orssaud C, Pott JW, Sadun AA. International consensus statement on the clinical and therapeutic management of Leber hereditary optic neuropathy. *Journal of Neuro-ophthalmology*. 2017 Dec 1;37(4):371-81.
48. Kreider RB, Stout JR. Creatine in health and disease. *Nutrients*. 2021 Feb;13(2):447.
49. DeBrosse C, Nanga RP, Wilson N, D'Aquila K, Elliott M, Hariharan H, Yan F, Wade K, Nguyen S, Worsley D, Parris-Skeete C. Muscle oxidative phosphorylation quantitation using creatine chemical exchange saturation transfer (CrCEST) MRI in mitochondrial disorders. *JCI insight*. 2016 Nov 3;1(18).
50. Pajares S, Arias A, García-Villoria J, Briones P, Ribes A. Role of creatine as biomarker of mitochondrial diseases. *Molecular genetics and metabolism*. 2013 Feb 1;108(2):119-24.

51. Tarnopolsky MA, Roy BD, MacDonald JR. A randomized, controlled trial of creatine monohydrate in patients with mitochondrial cytopathies. *Muscle Nerve*. 1997; 20:1502–1509.
52. Borchert A, Wilichowski E, Hanefeld F. Supplementation with creatine monohydrate in children with mitochondrial encephalomyopathies. *Muscle Nerve*. 1999; 22:1299–1300.
53. Klopstock T, Querner V, Schmidt F, Gekeler F, Walter M, Hartard M, Dipl-Stat MH, Gasser T, Pongratz D, Straube A, Dieterich M. A placebo-controlled crossover trial of creatine in mitochondrial diseases. *Neurology*. 2000 Dec 12;55(11):1748-51.
54. Kornblum C, Schröder R, Müller K, Vorgerd M, Eggers J, Bogdanow M, Papassotiropoulos A, Fabian K, Klockgether T, Zange J. Creatine has no beneficial effect on skeletal muscle energy metabolism in patients with single mitochondrial DNA deletions: a placebo-controlled, double-blind 31P-MRS crossover study. *European journal of neurology*. 2005 Apr;12(4):300-9.
55. Komura K, Hobbiebrunken E, Wilichowski EK, Hanefeld FA. Effectiveness of creatine monohydrate in mitochondrial encephalomyopathies. *Pediatric neurology*. 2003; 1;28(1):53-8.
56. Rochette, L., Ghibu, S., Richard, C., Zeller, M., Cottin, Y., & Vergely, C. Direct and indirect antioxidant properties of α -lipoic acid and therapeutic potential. *Molecular nutrition & food research*, 2013. 57(1), 114-125.
57. Haritoglou, C., Geress, J., Hammes, H. P., Kampik, A., Ulbig, M. W., & RETIPON Study Group. Alpha-lipoic acid for the prevention of diabetic macular edema. *Ophthalmologica*, 2011. 226(3), 127-137.
58. Tarnopolsky MA. The mitochondrial cocktail: rationale for combined nutraceutical therapy in mitochondrial cytopathies. *Advanced drug delivery reviews*. 2008 Oct 1;60(13-14):1561-7.
59. Finsterer, J.; Clinical therapeutic management of human mitochondrial disorders.; *Pediatric Neurology*; 2020.
60. Rodriguez MC, MacDonald JR, Mahoney DJ, Parise G, Beal MF, Tarnopolsky MA. Beneficial effects of creatine, CoQ10, and lipoic acid in mitochondrial disorders. *Muscle & nerve*. 2007 Feb;35(2):235-42.

61. Mangoni, A. A., Rodionov, R. N., McEvoy, M., Zinellu, A., Carru, C., & Sotgia, S. New horizons in arginine metabolism, ageing and chronic disease states. *Age and ageing*, 2019. 48(6), 776-782.
62. El-Hattab, A. W., Emrick, L. T., Hsu, J. W., Chanprasert, S., Almannai, M., Craigen, W. J., ... & Scaglia, F. Impaired nitric oxide production in children with MELAS syndrome and the effect of arginine and citrulline supplementation. *Molecular genetics and metabolism*, 2016. 117(4), 407-412.
63. El-Hattab, A. W., Adesina, A. M., Jones, J., & Scaglia, F. MELAS syndrome: Clinical manifestations, pathogenesis, and treatment options. *Molecular genetics and metabolism*, 2015. 116(1-2), 4-12.
64. Koga Y. , Ishibashi M. , Ueki I. , Yatsuga S. , Fukiyama R. , Akita Y. , Matsuishi T. ; Effects of l-arginine on the acute phase of strokes in three patients with MELAS. *Neurology*; 2002; 58 (5), 827-828.
65. Koga Y. , akita Y., Nishioka J., yatsuga S., Povalko N., Katayama K., Matsuishi T. MELAS and L-arginine therapy. *Mitochondrion* 2007; 7: 133-139.
66. Koga, Y., Povalko, N., Nishioka, J., Katayama, K., Kakimoto, N. and Matsuishi, T. MELAS and l-arginine therapy: pathophysiology of stroke-like episodes. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 2010, 1201: 104-110.
67. Koga, Y., Povalko, N., Inoue, E., Nakamura, H., Ishii, A., Suzuki, Y., ... & Fujii, K. Therapeutic regimen of L-arginine for MELAS: 9-year, prospective, multicenter, clinical research. *Journal of neurology*, 2018, 265(12), 2861-2874.
68. Rodan LH, Poublanc J, Fisher JA, Sobczyk O, Mikulis DJ, Tein I; L-arginine effects on cerebrovascular reactivity, perfusion and neurovascular coupling in MELAS (mitochondrial encephalomyopathy with lactic acidosis and stroke-like episodes) syndrome. *PLoS ONE* 2020; 15(9): e0238224
69. El-Hattab, A. W., Emrick, L. T., Hsu, J. W., Chanprasert, S., Almannai, M., Craigen, W. J., ... & Scaglia, F. Impaired nitric oxide production in children with MELAS syndrome and the effect of arginine and citrulline supplementation. *Molecular genetics and metabolism*, 2016; 117(4), 407-412.
70. Wei, Y., Cui, L., & Pen, B. L-Arginine prevents stroke-like episodes but not brain atrophy: a 20-year follow-up of a MELAS patient. *Neurological Sciences*, 2019; 40(1), 209-211.

71. Siddiq, I., Widjaja, E., & Tein, I. Clinical and radiologic reversal of stroke-like episodes in MELAS with high-dose L-arginine. *Neurology*, 2015. 85(2), 197-198.
72. Stephens, Francis & Constantin, Tim & Greenhaff, Paul. Stephens FB, Constantin-Teodosiu D, Greenhaff PL.; New insights concerning the role of carnitine in the regulation of fuel metabolism in skeletal muscle. *J Physiol* 581: 431-444. *The Journal of physiology*. 2007, 581. 431-44.
73. Li, JL., Wang, QY., Luan, HY. et al. Effects of L-carnitine against oxidative stress in human hepatocytes: involvement of peroxisome proliferator-activated receptor alpha. *J Biomed Sci*, 2012; 19, 32
74. VIRMANI, A., GAETANI, F. and BINIENDA, Z. Effects of Metabolic Modifiers Such as Carnitines, Coenzyme Q10, and PUFAs against Different Forms of Neurotoxic Insults: Metabolic Inhibitors, MPTP, and Methamphetamine. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 2005, 1053: 183-191.
75. Parikh S., Saneto R., Falk M.J., Anselm I., Cohen B.H., Hass R; A modern approach to the treatment of mitochondrial disease. *Current Treatment Options in Neurology*; 2009; 11:414.
76. Gimenes, AC; Bravo, DM; Napolis, LM; Mello, MT; Oliveira, ASB; Neder, JA; Nery, LE. Effect of L-carnitine on exercise performance in patients with mitochondrial myopathy. *Brazilian journal of medical and biological research*; 2015; Volume: 48 Issue: 4 Pages: 354-362
77. Campos, Yolanda & Huertas, Rosa & Lorenzo, Gustavo & Bautista-Lorite, Juan & Gutiérrez-Rivas, Eduardo & Aparicio, Manuel & Alesso, Luis & Arenas, Joaquin. Plasma carnitine insufficiency and effectiveness of L-carnitine therapy in patients with mitochondrial myopathy. *Muscle & nerve*. 1993. 16. 150-3.
78. Koeth RA, Wang Z, Levison BS, Buffa JA, Org E, Sheehy BT, Britt EB, Fu X, Wu Y, Li L, Smith JD, DiDonato JA, Chen J, Li H, Wu GD, Lewis JD, Warrier M, Brown JM, Krauss RM, Tang WH, Bushman FD, Lusis AJ, Hazen SL. Intestinal microbiota metabolism of L-carnitine, a nutrient in red meat, promotes atherosclerosis. *Nature Medicine*. 2013; 19(5):576–85.
79. Yao, M. E., Liao, P. D., Zhao, X. J., & Wang, L. Trimethylamine-N-oxide has prognostic value in coronary heart disease: a meta-analysis and dose-response analysis. *BMC cardiovascular disorders*, 2020; 20(1), 1-9.

