



**Universidad
Zaragoza**

Trabajo Fin de Grado

Factores de transcripción codificados en el cromosoma 21 relacionados con la biogénesis mitocondrial: dianas para un tratamiento prenatal del síndrome de Down

Chromosome 21-encoded transcription factors involved in mitochondrial biogenesis: targets for prenatal therapy in Down syndrome

Autora

Carmen María Llorente Gallen

Directora

Nuria Garrido Pérez

Facultad de Medicina

Departamento de Bioquímica y Biología Molecular y Celular

Curso 2024-2025

ÍNDICE

TABLA DE ABREVIATURAS	1
RESUMEN	4
ABSTRACT	5
1. INTRODUCCIÓN	6
1.1. EL SÍNDROME DE DOWN	6
1.2. FISIOLÓGIA MITOCONDRIAL	8
Estructura y genómica mitocondrial:.....	8
Dinámica mitocondrial:	9
Biogénesis mitocondrial:	10
1.3. DISFUNCIÓN MITOCONDRIAL EN EL SÍNDROME DE DOWN	11
1.4. GENES DEL CROMOSOMA 21 RELACIONADOS CON LA DISFUNCIÓN DE OXPHOS	12
1.5. EL PROCESO DE NEUROGÉNESIS Y SU ALTERACIÓN EN EL SÍNDROME DE DOWN	14
1.6. APROXIMACIONES TERAPÉUTICAS PRENATALES DIRIGIDAS A <i>NR1P1</i> Y <i>RCANI</i> EN EL SÍNDROME DE DOWN	15
2. OBJETIVOS Y JUSTIFICACIÓN	17
2.1. OBJETIVOS	17
2.2. JUSTIFICACIÓN	17
3. MATERIAL Y MÉTODOS	19
3.1. DISEÑO DEL ESTUDIO	19
3.2. ESTRATEGIA DE BÚSQUEDA BIBLIOGRÁFICA Y EXTRACCIÓN DE DATOS	19
4. RESULTADOS	22
4.1. ALTERACIONES EN LA BIOENERGÉTICA MITOCONDRIAL	22
4.2. ESTRÉS OXIDATIVO Y AUMENTO DE PRODUCCIÓN DE ROS	23
4.3. ACUMULACIÓN DE H₂S EN CÉLULAS DEL SÍNDROME DE DOWN	24
4.4. ALTERACIONES EN LA DINÁMICA Y BIOGÉNESIS MITOCONDRIAL	25
4.5. ALTERACIONES EN LA NEUROGÉNESIS Y MIGRACIÓN NEURONAL	27
4.6. RELACIÓN CON LOS PROCESOS NEURODEGENERATIVOS SIMILARES A LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER	28
4.7. INTERVENCIONES TERAPÉUTICAS PARA RESTAURAR LA FUNCIÓN MITOCONDRIAL	30
5. DISCUSIÓN	34
5.1. DISFUNCIÓN MITOCONDRIAL EN EL SÍNDROME DE DOWN: ALTERACIÓN DE OXPHOS Y DE LA HOMEOSTASIS MITOCONDRIAL	34
5.2. <i>RCANI</i>	36
5.3. <i>NR1P1</i>	40
5.4. INTERVENCIONES TERAPÉUTICAS	41
6. CONCLUSIONES	45
7. BIBLIOGRAFÍA	46
ANEXOS	50

TABLA DE ABREVIATURAS

3-MTS	Enzima 3-mercaptopiruvato sulfultransferasa
ADN	Ácido desoxirribonucleico
ADNmt	Ácido desoxirribonucleico mitocondrial
ADNn	Ácido desoxirribonucleico nuclear
AOAA	Aminooxiacetato
AR	Ácido retinoico
ARN	Ácido ribonucleico
ARNr	Ácido ribonucleico ribosómico
ARNt	Ácido ribonucleico de transferencia
ATP	Adenosín trifosfato
<i>BACH1</i>	Gen del dominio BTB y del homólogo CNC 1
BF	Prosencéfalo basal
BFCN	Neuronas colinérgicas del prosencéfalo basal
CAPN	Calpaína
CBS	Enzima cistationa-beta-sintasa
CI-CV	Complejos mitocondriales I-V
CN	Calcineurina
CoQ10	Coenzima q10
CPN	Células progenitoras neuronales
CRM	Cadena respiratoria mitocondrial
CsA	Ciclosporina a
CTE	Cadena de transporte de electrones
Cyt C	Citocromo c
DAT1	Receptor de dopamina 1
DMSO	Dimetilsulfóxido
DRP1	Proteína 1 de relación con dinamina
DSCAM	Moléculas de adhesión de las células neuronales del síndrome de Down

e-	Electrones
EA	Enfermedad de Alzheimer
ECAR	Tasa de acidificación extracelular
EGCG	Epigallocatequina-3-galato
FADH₂/FAD	Dinucleótido de flavina y adenina reducido
fEPSP	Potencial postsináptico excitatorio de campo
FIS1	Proteína de fisión mitocondrial
GIN	Interneuronas GABAérgicas
GMDS-ER	Escalas de Desarrollo Mental de Griffiths
H₂O	Agua
H₂S	Sulfuro de hidrógeno
IM	Membrana mitocondrial interna
IMC	Índice de masa corporal
IMS	Espacio intermembrana
iPSCs	Células madre pluripotentes inducidas
LTP	Potenciación a largo plazo
M	Matriz mitocondrial
MAO-B	Enzima monoaminoxidasa B
MESOR	Estadística de estimación de ritmo de línea media
MFF	Factor de fisión mitocondrial
mitoPLD	Fosfolipasa d mitocondrial
MFN1	Proteína mitofusina 1
MFN2	Proteína mitofusina 2
mPTP	Poro de transición mitocondrial
NAD⁺	Dinucleótido de nicotinamida
NADH	Adenina reducido y oxidado
NEMGs	Expresión de genes mitocondriales codificados en el núcleo
NFAT	Factor nuclear de células t activadas
NGF	Factor de crecimiento neuronal

<i>NR1P1</i>	Gen de la proteína de interacción con receptores nucleares 1
NSQ	Núcleo supraquiasmático
O2	Oxígeno
OCR	Ratio de consumo de oxígeno
OM	Membrana mitocondrial externa
OPA1	Proteína de la atrofia óptica 1
OXPHOS	Sistema de fosforilación oxidativa
PGC-1A	Coactivador del receptor 1a activado por el proliferador de peroxisoma
PI	Fosfato
<i>PKNOX1</i>	Gen del factor de transcripción del homeodominio Prep1
CoQ	Coenzima q 10
RATÓN KO	Ratón knockout
RATÓN TG	Ratón transgénico
RATÓN WT	Ratón wild type
<i>RCAN1</i>	Gen de la proteína reguladora de la calcineurina 1
ROS	Especies reactivas de oxígeno
SAOS	Síndrome de apnea obstructiva del sueño
SD	Síndrome de Down
siRNA	ARN pequeño de interferencia
TEA	Trastorno del espectro autista
TFAM	Factor de transcripción mitocondrial A
VMAT2	Transportador vesicular de monoamina 2

RESUMEN

El síndrome de Down o trisomía del cromosoma 21, es la aneuploidía humana más prevalente y la primera causa de discapacidad intelectual de causa genética. Las células con trisomía del cromosoma 21 presentan niveles descendidos de ATP y alteraciones en las mitocondrias, produciendo un impacto negativo en el proceso de neurogénesis.

El objetivo de este trabajo es describir el papel de la sobreexpresión de los genes *NR1P1* y *RCANI*, localizados en el cromosoma 21, en la disfunción mitocondrial y su potencial como dianas terapéuticas en el periodo prenatal para el síndrome de Down.

Se ha realizado una revisión bibliográfica de artículos científicos publicados en los últimos 10 años, consultando las bases de datos PubMed, Web of Science y Scopus. Se ha sometido a los artículos a una revisión en tres fases: a) título, b) resumen y c) texto completo. Se han seleccionado 17 artículos que cumplían con los criterios de inclusión.

Diversos estudios realizados en modelos celulares humanos y animales con trisomía del cromosoma 21 han demostrado que la sobreexpresión de genes localizados en este cromosoma es responsable de la alteración de la homeostasis mitocondrial y de la disminución de la producción de energía. Intervenciones terapéuticas dirigidas a contrarrestar estos efectos han logrado restaurar la bioenergética, dinámica, biogénesis y estructura mitocondrial que, a su vez, se ha acompañado de un aumento en la proliferación y diferenciación celular y del proceso de neurogénesis, dendritogénesis y sinaptogénesis.

A pesar de estos hallazgos, hasta el momento no se han desarrollado ensayos clínicos de terapias prenatales dirigidas a restaurar estas alteraciones en gestantes de fetos con síndrome de Down. Estos datos apoyan la necesidad de realizar intervenciones terapéuticas tempranas en humanos mediante el diseño de ensayos clínicos durante el periodo fetal, en el que tiene lugar el proceso de neurogénesis, mediante el uso de fármacos que sean capaces de restaurar la función mitocondrial y mejorar el pronóstico funcional de estos individuos en su vida postnatal.

Palabras clave: síndrome de Down/trisomía del cromosoma 21, disfunción mitocondrial, fosforilación oxidativa, biogénesis mitocondrial, dinámica mitocondrial, neurogénesis, *RCANI*, *NR1P1*, terapia prenatal.

ABSTRACT

Down syndrome, or trisomy of chromosome 21, is the most prevalent human aneuploidy and the leading cause of genetic intellectual disability. Cells with trisomy of chromosome 21 exhibit decreased ATP levels and mitochondrial abnormalities, negatively impacting neurogenesis.

The objective of this study is to describe the role of overexpression of the *NRIP1* and *RCANI* genes, located on chromosome 21, in mitochondrial dysfunction and their potential as therapeutic targets in the prenatal period for Down syndrome.

A bibliographic review of scientific articles published in the last 10 years was conducted, consulting the PubMed, Web of Science and Scopus databases. The articles were subjected to a three-phase review: a) title, b) abstract and c) full text. 17 articles that met the inclusion criteria were selected.

Several studies conducted in human and animal cells models with chromosome 21 trisomy have shown that overexpression of genes located on this chromosome is responsible for altered mitochondrial homeostasis and decreased energy production. Therapeutic interventions aimed at counteracting these effects have successfully restored mitochondrial bioenergetics, dynamics, biogenesis and mitochondrial structure which, in turn, has been accompanied by an increase in cell proliferation and differentiation and the process of neurogenesis, dendritogenesis and synaptogenesis.

Despite these findings, to date, no clinical trials of prenatal therapies aimed at restoring these alterations in pregnant Down's syndrome fetuses have been conducted. These data support the need for early therapeutic interventions in humans by designing clinical trials during the fetal period, during which neurogenesis occurs, using drugs capable of restoring mitochondrial function and improving the functional prognosis of these individuals in their postnatal life.

Keywords: Down syndrome/trisomy of chromosome 21, mitochondrial dysfunction, oxidative phosphorylation, mitochondrial biogenesis, mitochondrial dynamics, neurogenesis, *RCANI*, *NRIP1*, prenatal therapy

1. INTRODUCCIÓN

1.1. El síndrome de Down

El síndrome de Down (SD) es la aneuploidía cromosómica humana más prevalente, con una incidencia estimada de 1 por cada 650-1000 nacidos vivos en todo el mundo. Es considerado la primera causa de discapacidad intelectual de origen genético. (1)(2)

Durante los últimos 30 años se han implantado y desarrollado técnicas de cribado prenatal del síndrome de Down, especialmente en países desarrollados, y se ha producido un descenso de la tasa de natalidad en la población general. Asimismo, se ha producido un aumento de la edad materna que, unido al aumento de la esperanza de vida en la población con SD, debido en gran parte, a una mejor atención sanitaria, ha propiciado que la prevalencia del síndrome de Down se haya mantenido estable. (2)(3)

Esta entidad se caracteriza por la presencia total o parcial de una copia adicional del cromosoma 21. Desde el punto de vista citogenético, el SD es resultado de una división celular anormal, en mitosis o meiosis, mediante un fenómeno de “no disyunción”, lo cual da lugar a una trisomía del cromosoma 21. Tres mecanismos son considerados responsables de esta alteración; siendo la forma de trisomía 21 completa, la más frecuente (se corresponde con un 95% de los casos); presentándose de forma menos frecuente en forma de translocación (3%) o en forma de mosaicismo (1%). (4)

La etiología de esta alteración genética es desconocida, sin embargo, se considera la edad materna avanzada (> 35 años) en el momento de la concepción como principal factor de riesgo debido a que la incidencia del Síndrome de Down aumenta exponencialmente con la edad materna. No obstante, otros factores como una edad materna y/o paterna ≤ 19 años, un IMC ≥ 25 kg/m², el consumo de tabaco y alcohol o la exposición a bisfenol A de forma transgeneracional pueden producir alteraciones en la división celular. (1) (4)

El síndrome de Down es una condición de afectación multisistémica con manifestaciones clínicas variadas y una alta carga de comorbilidades. En la ‘Tabla 1’ quedan reflejados los diferentes sistemas afectados y las manifestaciones clínicas más relevantes relacionadas con esta alteración cromosómica. (1) (3) (5) (6)

A nivel neurológico, las personas con SD presentan una reducción en la densidad neuronal, hipoplasia cerebelosa y alteraciones en el desarrollo del sistema nervioso central, lo que contribuye a la discapacidad intelectual y a trastornos neuroconductuales.

(7) Además, existe un mayor riesgo de epilepsia y una predisposición a la enfermedad de Alzheimer de aparición temprana, existiendo una mayor prevalencia de la enfermedad en individuos con SD, con síntomas que aparecen antes de los 65 años, y se estima que aproximadamente 3 de cada 4 personas con SD mayores de 60 años muestran evidencia clínica de demencia. (8)

En cuanto al sistema musculoesquelético, es común la presencia de hipotonía muscular y laxitud ligamentosa, lo que puede afectar el desarrollo motor. (1)

Las malformaciones cardíacas congénitas presentan una elevada incidencia en este grupo de la población, especialmente los defectos del tabique auriculoventricular. (1)

Otras manifestaciones como los trastornos respiratorios del sueño, especialmente el síndrome de apnea obstructiva del sueño (SAOS), y las alteraciones en la audición y visión, pueden ser factores agravantes de la discapacidad intelectual.

Las condiciones de salud crónicas que coexisten con el fenotipo del SD deben ser diagnosticadas y tratadas de forma temprana para mitigar los posibles efectos nocivos en el desarrollo cognitivo, que sufre alteraciones desde el periodo fetal. (1) (5)

Tabla 1. Manifestaciones clínicas del Síndrome de Down.

Sistema	Manifestaciones clínicas
Cardiovascular	Cardiopatías congénitas.
Endocrino	Hipotiroidismo congénito o adquirido, diabetes mellitus tipo 2.
Gastrointestinal	Atresia duodenal, enfermedad de Hirschprung.
Hematológico	Leucemia.
Inmunológico	Mayor susceptibilidad a infecciones, mayor incidencia de enfermedades autoinmunes.
Musculoesquelético	Hipotonía muscular, alteraciones craneofaciales, laxitud ligamentosa.
Neurológico	Discapacidad intelectual, hipoplasia cerebelosa, menor densidad neuronal, riesgo de enfermedad de Alzheimer temprana, epilepsia, trastorno del espectro autista (TEA).
Respiratorio	SAOS, hipertensión pulmonar persistente, infecciones respiratorias de repetición, neumonía por aspiración.

Fuente: elaboración propia.

1.2. Fisiología mitocondrial

Estructura y genómica mitocondrial:

La mitocondria es un orgánulo localizado en el citoplasma celular. Se constituye por una membrana mitocondrial externa y una membrana mitocondrial interna, esta última replegada dando lugar a las crestas mitocondriales. Estas membranas dan lugar a dos compartimentos: el espacio intermembrana y la matriz mitocondrial. En la matriz mitocondrial se encuentra el ADN mitocondrial (ADNmt), las proteínas necesarias para su replicación y transcripción, los ribosomas y numerosas enzimas implicadas en procesos metabólicos. (9)

El genoma mitocondrial humano codifica 37 genes, de los cuales 13 corresponden a proteínas que forman parte del sistema OXPHOS, 22 corresponden al ARN de transferencia (ARNt) y 2 al ARN ribosómico (ARNr) imprescindibles para la síntesis proteica mitocondrial. La mayoría de las proteínas mitocondriales son codificadas por el genoma nuclear (ADNn), incluidas aquellas necesarias para la replicación, transcripción y traducción del ADNmt, así como las implicadas en el ensamblaje y la estructura de los complejos mitocondriales que forman parte del sistema de fosforilación oxidativa (OXPHOS). (10)

Fosforilación oxidativa (OXPHOS):

La mitocondria desempeña un papel central en la bioenergética celular, siendo su función principal la producción de energía en forma de adenosín trifosfato (ATP) mediante el proceso de fosforilación oxidativa (OXPHOS). Este sistema se compone por la cadena de transporte de electrones (CTE) y la ATP sintasa (complejo V de OXPHOS, CV), localizados en la membrana mitocondrial interna. (9) (11)

La CTE se compone por cuatro complejos proteicos numerados del I al IV (CI-CIV), el citocromo C y la coenzima Q (CoQ10). (11)

La fosforilación oxidativa se inicia en el complejo I, conocido como NADH deshidrogenasa (ubiquinona oxidorreductasa), que cataliza la oxidación de NADH a NAD⁺. Esta oxidación genera electrones que son transferidos a la ubiquinona (coenzima Q10), la cual los transporta al complejo III o citocromo C reductasa. Este complejo cede

los electrones al citocromo C (cyt C), que los entrega al complejo IV o citocromo C oxidasa, que finalmente los transfiere al oxígeno, el aceptor final de electrones, formando agua. Por otro lado, el complejo II, conocido como succinato deshidrogenasa, transfiere los electrones de la oxidación del succinato a la coenzima Q10, que los transporta hacia el complejo III, siguiendo el mismo trayecto que los electrones provenientes del NADH. (9) (11)

El paso de los electrones por los complejos mitocondriales I, III y IV produce un bombeo de protones desde la matriz mitocondrial al espacio intermembrana, lo que genera un gradiente de protones que sirve como impulsor para la síntesis de ATP por el complejo V, o ATP sintasa. (11)

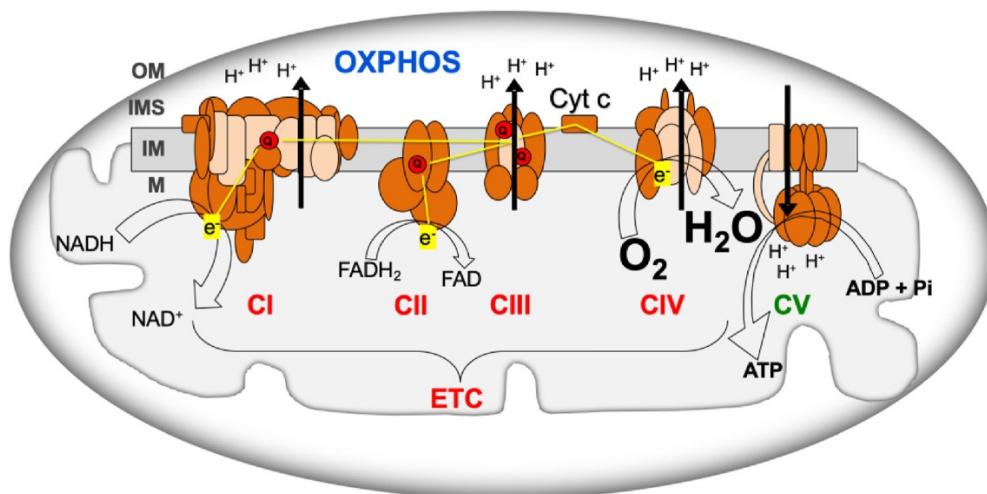


Figura. 1. Sistema de fosforilación oxidativa (OXPHOS). El esquema muestra el flujo de electrones a través de los cuatro complejos proteicos de la ETC (I-IV). Adenosín difosfato (ADP); adenosín trifosfato (ATP); citocromo C (Cyt C); complejos respiratorios (CI–CIV); CV (ATP sintetasa); cadena de transporte de electrones (ETC), e⁻ (electrones); dinucleótido de flavina y adenina reducido (FADH₂/FAD); agua (H₂O); H⁺ (protones), membrana mitocondrial interna (IM); espacio intermembrana (IMS); matriz mitocondrial (M); dinucleótido de nicotinamida y adenina reducido y oxidado (NADH/NAD⁺); membrana mitocondrial externa (OM); oxígeno (O₂); fosfato (Pi); coenzima Q (Q). Los colores marrón y rosa se utilizan para las subunidades codificadas por el ADNn y el ADNmt, respectivamente. Las líneas amarillas indican el flujo de electrones. Las flechas negras representan el bombeo de protones. (10)

Dinámica mitocondrial:

Además de su papel central en la bioenergética celular, la mitocondria es un orgánulo dinámico que adapta su morfología y función en respuesta a distintos estímulos fisiológicos, siendo esencial para el mantenimiento de la homeostasis celular, mediante

un conjunto de procesos coordinados: la biogénesis mitocondrial, la mitofagia, la fusión y la fisión. (11)

La fusión y fisión mitocondrial son procesos esenciales para mantener la morfología, número, distribución y funcionalidad de las mitocondrias. No solo permiten adaptar la red mitocondrial a las demandas energéticas de la célula, sino que también son esenciales para el control de calidad de las mitocondrias y la regulación de la apoptosis y mitofagia. (9)

Las proteínas mitofusina 1 (MFN1), mitofusina 2 (MFN2), la fosfolipasa D mitocondrial (mitoPLD) y la proteína de la atrofia óptica 1 (OPA1) son los principales reguladores del proceso de fusión mitocondrial. Las alteraciones en MFN 1/2 o en OPA1 dan lugar a una red mitocondrial fragmentada, con una menor producción de ATP y aumento de especies reactivas de oxígeno (ROS) de origen mitocondrial. Por otro lado, la fisión mitocondrial está mediada la proteína 1 relacionada con la dinamina (Drp1), reclutada desde el citoplasma y anclada a la membrana mitocondrial externa por parte de proteínas transmembrana que actúan como receptoras de Drp1, como la proteína de fisión mitocondrial (FIS1) o el factor de fisión mitocondrial (MFF). Este proceso es esencial para la generación de nuevas mitocondrias y para el crecimiento y división celular. (9) (12)

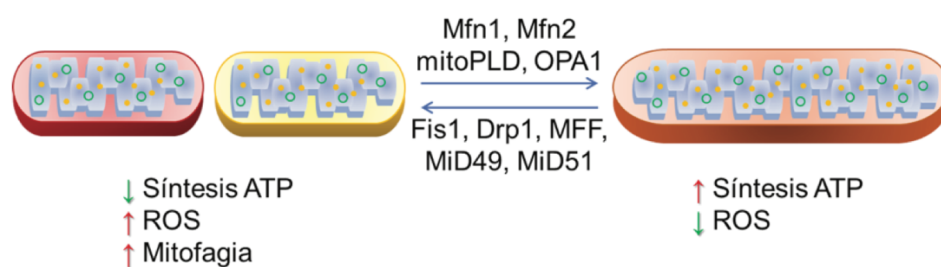


Figura 2. Fisión y fusión mitocondrial. La imagen muestra las proteínas que participan en los procesos de la dinámica mitocondrial. Fisión: Fis1, Drp1, MFF, MiD49 y 51. En la fisión la síntesis de ATP disminuye, la generación de ROS y la mitofagia aumentan. Fusión: Mfn1/2, mitoPLD, OPA1. La fusión favorece la síntesis de ATP y disminuye la generación de ROS. (9)

Biogénesis mitocondrial:

La biogénesis mitocondrial es el proceso mediante el cual se generan nuevas mitocondrias en respuesta a estímulos celulares por alta demanda de energía, división celular o estrés

oxidativo. Este mecanismo requiere la interacción entre los genomas nuclear y mitocondrial, siendo su principal regulador el coactivador transcripcional PGC-1 α (coactivador del receptor 1 α activado por el proliferador de peroxisoma), codificado por el gen *PPARGC1A*. La quinasa activada por AMP (AMPK) regula la expresión de PGC-1 α , lo que desencadena su interacción con factores de transcripción nucleares como los factores respiratorios nucleares *NRF-1* y *NRF-2*, conduciendo a la expresión del factor de transcripción mitocondrial A (*TFAM*), una proteína implicada en la transcripción y replicación del ADN mitocondrial. (13-15)

1.3. Disfunción mitocondrial en el síndrome de Down

Se ha postulado que la interacción de los genes sobreexpresados en el cromosoma 21 y los genes desregulados en otras partes del genoma produce las alteraciones en las vías de señalización molecular que conducen a las manifestaciones fenotípicas del SD. (9) (16) (17)

Dentro de los genes afectados se encuentran aquellos involucrados en la fosforilación oxidativa (OXPHOS), la biogénesis y la función mitocondrial en general. Como consecuencia, las mitocondrias de las células con SD presentan alteraciones en su morfología y estructura, un deterioro del potencial de membrana y una reducción en la producción de adenosín trifosfato (ATP) debido a disfunciones en el mecanismo del sistema OXPHOS. Estas circunstancias generan un metabolismo energético alterado y estrés oxidativo. (7) (10)

Estas alteraciones bioenergéticas juegan un papel crucial en la neurogénesis y en la neurodegeneración. Desde la etapa fetal se observan volúmenes cerebrales inferiores y una superficie cortical reducida en comparación con la población general. Asimismo, la capacidad de proliferación y diferenciación neuronal están disminuidas, dando lugar a una neurogénesis defectuosa, provocando que las células progenitoras neuronales (CPN) se diferencien hacia astrocitos, en lugar de transformarse en neuronas funcionales. (7) (10)

Del mismo modo, la acumulación crónica de estrés oxidativo y la alteración en el metabolismo energético pueden contribuir al desarrollo de enfermedades neurodegenerativas, como el Alzheimer. (1) (7)

1.4. Genes del cromosoma 21 relacionados con la disfunción de OXPHOS

La sobreexpresión de genes en el cromosoma 21 es responsable de la disfunción mitocondrial presente en el síndrome de Down. Se han encontrado 77 genes sobreexpresados en células con SD involucrados de forma directa o indirecta en la función mitocondrial, destacando 5 de ellos: *NR1P1*, *RCANI*, *DYRK1A*, *BACH1* y *PKNOX1*. (10) (17)

El gen *NR1P1*, de la proteína que interactúa con el receptor nuclear 1, está localizado en el cromosoma 21, en la posición 21q11.2-q21.1. Codifica una proteína que actúa como correpressor transcripcional, que regula negativamente la expresión de genes mitocondriales codificados en el núcleo (NEMGs), al reprimir la activación de PGC-1 α . La sobreexpresión de este gen y la disminución de la expresión de PGC-1 α se han relacionado con una menor eficiencia respiratoria y alteración en la biogénesis mitocondrial. (10) (16) (17)

El gen *RCANI*, también conocido como calcipresina, se localiza en la banda cromosómica 21q22.12. Participa en la vía de señalización calcineurina/NFAT, reguladora de la transcripción de PGC-1 α . La sobreexpresión de *RCANI* inhibe la actividad de la calcineurina, impidiendo la desfosforilación y posterior translocación del factor nuclear de células T activadas (NFAT) al núcleo, lo que reduce su actividad transcripcional y por lo tanto la biogénesis mitocondrial. Además, la sobreexpresión del gen *RCANI* altera la homeostasis del calcio mitocondrial, induciendo la apertura del poro de transición mitocondrial (mPTP) y en consecuencia, la disrupción estructural de la mitocondria. También se ha relacionado con un aumento del estrés oxidativo con un aumento en la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS). (10) (17)

DYRK1A es el gen de la quinasa 1a regulada por la fosforilación de tirosina de doble especificidad, codificado en la banda cromosómica 21q22.13. Su sobreexpresión reduce la actividad NFAT, limitando la expresión de *PPARGCIA* y por lo tanto, la biogénesis mitocondrial. Asimismo, participa en múltiples procesos celulares relacionados con el metabolismo celular y la diferenciación neuronal, siendo un elemento clave en el fenotipo multifactorial del SD. (10) (17)

El gen del dominio BTB y del homólogo CNC 1 (*BACH1*) está localizado en el cromosoma 21 en la banda cromosómica 21q21.3, este gen codifica un factor de transcripción de unión al grupo hemo. La sobreexpresión en el SD de *BACH1*, que se une a la región promotora de los genes que codifican componentes de la cadena de transporte de electrones, actúa como un represor transcripcional y produce la reducción de la respiración mitocondrial. Además, *BACH1* interfiere en la función del factor 2 relacionado con el factor nuclear eritroide 2 (*NRF2*), desplazándolo de las regiones promotoras de genes implicados en la biogénesis mitocondrial, como *PPARGC1A*, regulando negativamente la biogénesis mitocondrial. (10) (17)

El gen PBX/knotted 1 homeobox 1 (*PKNOX1*) está localizado en la banda cromosómica 21q22.3. Codifica el factor de transcripción de homeodominio Prep1. Se encuentra sobreexpresado en SD y ejerce un efecto negativo sobre la biogénesis mitocondrial y el sistema OXPHOS. (10) (17)

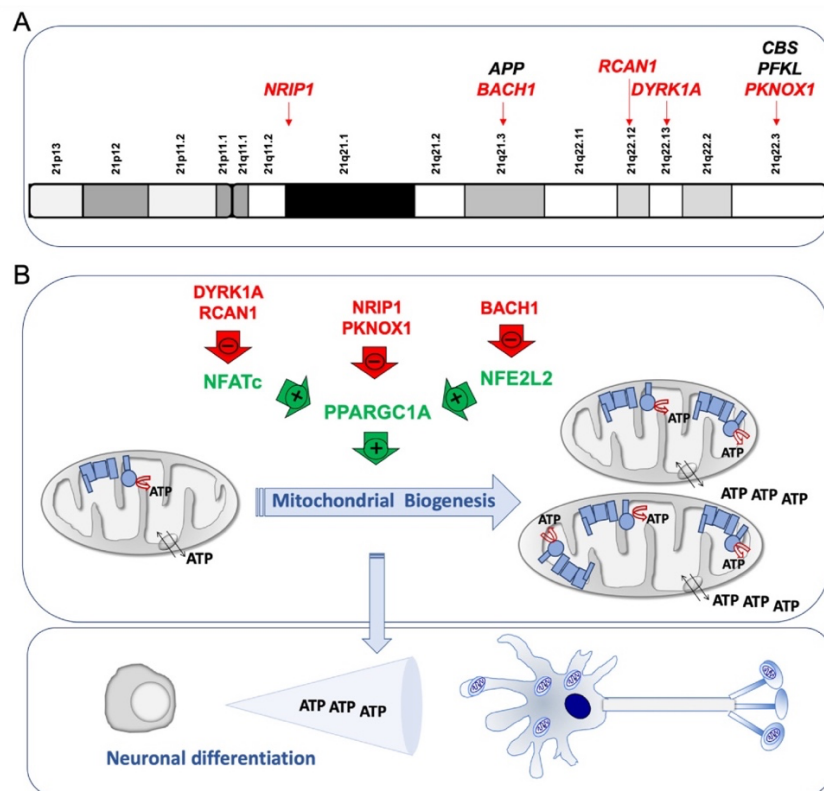


Figura. 3. Genes inhibidores de la biogénesis mitocondrial. A) Localización en el cromosoma 21 de genes que intervienen en OXPHOS. En rojo se representan los genes que lo hacen de forma indirecta mediante la inhibición de la biogénesis mitocondrial. B) Proteínas codificadas en el cromosoma 21 que bloquean la biogénesis mitocondrial. La biogénesis mitocondrial conduce a un aumento en la producción de ATP. La neurogénesis es un proceso energéticamente demandante. (10)

Estos genes localizados en el cromosoma 21 regulan negativamente la expresión de *PPARGCIA* directa o indirectamente, lo que reduce la biogénesis mitocondrial y por lo tanto, la fosforilación oxidativa. De todos ellos, este trabajo se centrará en los genes *RCANI* y *NRIP1* y sus posibles inhibidores. (10)

1.5. El proceso de neurogénesis y su alteración en el síndrome de Down

La neurogénesis es el proceso mediante el cual se generan nuevas neuronas a partir de células progenitoras neuronales (CPN). Comienza tras la formación del tubo neural en la tercera semana de gestación e incluye la diferenciación de las CPN hacia fenotipos neuronales o gliales, seguida del proceso de apoptosis. (18) (19)

En el prosencéfalo humano, las neuronas neocorticales se forman entre las semanas 6 y 18 de gestación. Posteriormente, migran a su destino final, donde inician el proceso de formación de axones y dendritas, así como la formación de sinapsis, proceso que se prolonga hasta los primeros dos años de vida. En el giro dentado del hipocampo humano, la neurogénesis se inicia hacia la 12 semana de gestación y se mantiene hasta el primer año postnatal, aunque en esta región el desarrollo persiste de forma residual durante la vida adulta. (18) (19)

En el síndrome de Down, la disfunción cognitiva y conductual se origina durante el desarrollo fetal, con alteraciones tempranas en la proliferación, migración y diferenciación neuronal. Entre las semanas 17 y 23 de gestación, se ha descrito una reducción significativa de la proliferación celular en regiones como el hipocampo, el cerebelo o las regiones ventricular y subventricular. Además, la proporción de células neuronales ha disminuido con respecto a un aumento relativo de células gliales (astrocitos y oligodendrocitos). Asimismo, el proceso de dendritogénesis está alterado en la primera infancia, lo que causa una conectividad defectuosa, y los defectos en la mielinización presentes prenatalmente se acentúan en la adolescencia. Todas estas alteraciones contribuyen de forma determinante a la discapacidad intelectual y a los déficits cognitivos característicos del SD. (18-21)

1.6. Aproximaciones terapéuticas prenatales dirigidas a *NRIP1* y *RCAN1* en el síndrome de Down

Desde la etapa fetal se han documentado alteraciones mitocondriales en células con trisomía del cromosoma 21, incluidas neuronas y astrocitos, así como en tejidos cerebrales de modelos murinos. Estas alteraciones afectan a rutas clave de la señalización mitocondrial y se manifiestan en una disminución de la capacidad respiratoria mitocondrial y de la síntesis de ATP, sobreproducción de especies reactivas de oxígeno (ROS) y alteraciones en la biogénesis y dinámica mitocondrial que dan lugar a una red mitocondrial disfuncional. (10)

Estas alteraciones bioenergéticas y funcionales mitocondriales se han vinculado con una neurogénesis defectuosa, una menor maduración neuronal y sináptica, así como con alteraciones en la plasticidad hipocampal en modelos murinos con SD. Por ello, la restauración de la función mitocondrial en los periodos críticos del desarrollo cerebral, durante las etapas prenatal y neonatal temprana, se postula como una **estrategia** terapéutica prometedora, ya que el aumento del estado energético celular y la reducción del estrés oxidativo en estas fases podría mejorar el pronóstico cognitivo posnatal en el SD. (7)

Actualmente, las herramientas terapéuticas que puedan producir mejoras funcionales en los individuos con SD son muy limitadas. No obstante, el momento adecuado para llevar a cabo intervenciones específicas que se traduzcan en mejoras funcionales es durante el periodo prenatal. Las intervenciones dirigidas a la neurogénesis cortical deben realizarse antes del final del segundo trimestre de gestación, mientras que las intervenciones que se lleven a cabo en el tercer trimestre solo producirán efectos sobre la neurogénesis cerebelosa e hipocampal. Asimismo, las intervenciones durante la gestación tardía y el periodo postnatal producirán mejoras en la dendritogénesis y la mielinización, pero no producirán un aumento de la proliferación neuronal. (39) En la “*figura 3*” se muestran las ventanas de oportunidad para la intervención terapéutica para contrarrestar las alteraciones en la proliferación, diferenciación y maduración defectuosas en el SD.

Hasta la fecha, se han llevado a cabo ensayos en modelos de ratón con síndrome de Down que han logrado una mejora posnatal en el aprendizaje y funcionamiento neurológico a

través de una mejora de la biogénesis mitocondrial. No obstante, todavía no se han llevado a cabo ensayos clínicos en gestantes con fetos con Trisomía 21. (1) (10)

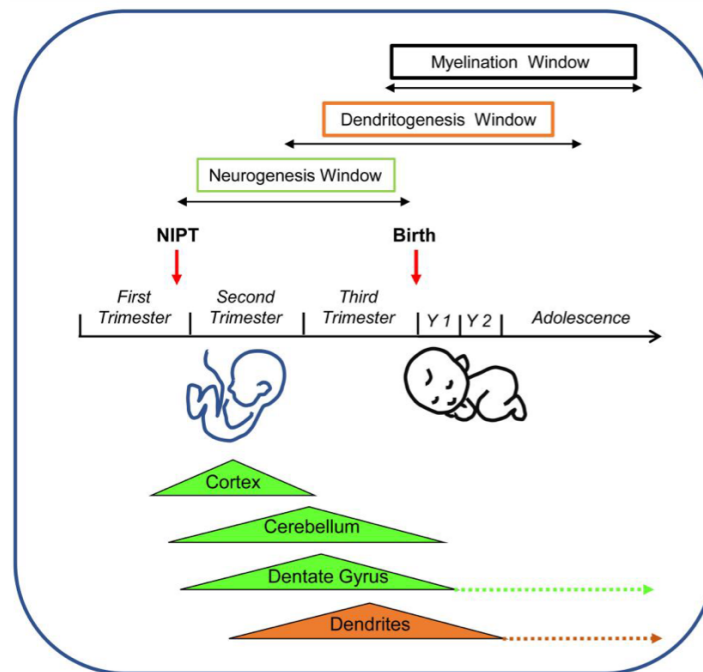


Figura 4. Ventanas temporales del desarrollo cerebral humano y oportunidad de intervención prenatal. En el esquema se muestra el proceso de neurogénesis, dendritogénesis y mielinización desde el inicio de la gestación hasta la adolescencia. NIPT: test prenatal no invasivo (20)

La inducción de la vía *PPARGC1A*/*PGC-1 α* se ha propuesto como una potencial diana terapéutica debido a que su activación promueve la biogénesis mitocondrial y ejerce un efecto protector frente a las lesiones cerebrales hipóxico-isquémicas prenatales. (10)

En el síndrome de Down, los genes *NR1P1* y *RCAN1* se encuentran sobreexpresados y afectan negativamente tanto a la biogénesis mitocondrial como a la eficiencia del sistema OXPHOS. Este trabajo se centrará en analizar el papel de los genes *NR1P1* y *RCAN1* en la disfunción mitocondrial del SD, así como en revisar las estrategias terapéuticas descritas en la literatura que buscan modelar su expresión o función, con el objetivo de restablecer el equilibrio bioenergético celular. (10)

2. OBJETIVOS Y JUSTIFICACIÓN

2.1. Objetivos

El objetivo general de este trabajo es revisar la bibliografía actual disponible sobre los diferentes factores de transcripción codificados en el cromosoma 21 relacionados con la biogénesis mitocondrial y su potencial como dianas terapéuticas para el tratamiento prenatal del síndrome de Down.

Los objetivos específicos consisten en:

1. Caracterizar la función de *NR1P1* y *RCAN1* como factores de transcripción codificados en el cromosoma 21 y su impacto en la regulación de la biogénesis mitocondrial, las alteraciones metabólicas y la homeostasis celular.
2. Evaluar las estrategias terapéuticas prenatales actuales dirigidas a mejorar la biogénesis mitocondrial alterada en el síndrome de Down.
3. Identificar enfoques emergentes para el tratamiento prenatal del síndrome de Down basados en la modulación de la actividad de estos factores de transcripción como posibles dianas terapéuticas.

2.2. Justificación

La presencia de un cromosoma 21 extra conlleva alteraciones en múltiples procesos celulares, incluyendo la función mitocondrial, cuya disfunción contribuye a alteraciones metabólicas y estrés oxidativo, lo que provoca un especial impacto sobre el desarrollo y funcionamiento neurológico normales. En este contexto, la identificación de mecanismos moleculares involucrados en la regulación de la biogénesis mitocondrial es fundamental para comprender la fisiopatología de esta condición y explorar nuevas estrategias terapéuticas.

Los genes *NR1P1* y *RCAN1*, codificados en el cromosoma 21, guardan relación con la regulación de la biogénesis mitocondrial. Se ha señalado la relación causal entre la sobreexpresión de estos genes y la disfunción mitocondrial en el SD, lo que los convierte en potenciales dianas terapéuticas.

Actualmente, las estrategias terapéuticas prenatales para el SD se encuentran en fases experimentales. Sin embargo, aún se requiere una comprensión más profunda de los mecanismos moleculares involucrados en la patogenia de esta entidad para llevar a cabo

el desarrollo de tratamientos efectivos y seguros con los que realizar ensayos clínicos en embarazadas con fetos con trisomía 21.

Por lo tanto, este trabajo de revisión busca integrar la evidencia disponible sobre el papel de los genes *NR1P1* y *RCAN1* en la biogénesis mitocondrial y en el síndrome de Down, y su papel como potenciales dianas terapéuticas para un tratamiento prenatal de este síndrome que se traduzca en mejoras en la neurogénesis y el desarrollo cognitivo.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. Diseño del estudio

Se ha llevado a cabo una revisión bibliográfica de la literatura científica disponible sobre las alteraciones mitocondriales y la fosforilación oxidativa en el Síndrome de Down, el papel de los factores de transcripción codificados en el cromosoma 21 relacionados con la biogénesis mitocondrial, y las posibles dianas terapéuticas para un tratamiento prenatal de esta enfermedad.

3.2. Estrategia de búsqueda bibliográfica y extracción de datos

Se definieron como bases de datos especializadas para la búsqueda a PubMed, Web of Science y Scopus.

La búsqueda fue realizada desde octubre de 2024 hasta abril de 2025.

A partir de la pregunta de investigación, con el objetivo de garantizar la sensibilidad del proceso de búsqueda, se establecieron los descriptores de búsqueda en la página de descriptores de ciencias de la salud DeCS: “Síndrome de Down”, “Fosforilación Oxidativa”, “Enfermedades Mitocondriales”, “Proteína de Interacción con Receptores Nucleares 1”, “RCAN1” y “Terapias Fetales”. Obteniendo de este modo, los términos MeSH que fueron empleados como motor de búsqueda en las bases de datos: “Down Syndrome”, “Oxidative Phosphorylation”, “Mitochondrial Diseases”, “Nuclear Receptor Interacting Protein 1”, “RCAN1 protein, human”, y “Fetal Therapies”.

Por especificidad de la búsqueda de la literatura científica, se diseñó un protocolo con la combinación de los términos establecidos y los operadores booleanos: (Down Syndrome) AND (Oxidative Phosphorylation); (Down Syndrome) AND (Mitochondrial Diseases); [(Down Syndrome) AND ((Nuclear Receptor Interacting Protein 1) OR (RCAN1 protein, human))]; (Down Syndrome) AND (Fetal Therapies), (“Nuclear Receptor Interacting Protein 1 OR RCAN1 protein, human”) AND (“Fetal Therapies”). No se aplicaron filtros automáticos para las rutas de búsqueda específicas definidas en la ‘Tabla 2’.

La selección de la bibliografía se realizó en tres fases: 1) Revisión del título, 2) Revisión del resumen, 3) Revisión a texto completo.

Los artículos cuyo título no guardase relación con el tema central del trabajo fueron descartados.

Los artículos seleccionados en la fase 1 fueron sometidos a revisión del resumen. Se seleccionaron los artículos que cumplieren los criterios de inclusión de: idioma en inglés o español, publicación posterior a enero de 2014 y que trataran sobre los temas centrales del trabajo. Se descartaron los artículos que se encontrasen en idiomas diferentes al inglés o español, fecha de publicación anterior a enero de 2014 y contenido de escasa relevancia o que no tratase sobre los temas fundamentales del trabajo.

Finalmente, los artículos seleccionados en la fase 2 fueron revisados a texto completo. Estos artículos fueron sometidos a los criterios de inclusión/exclusión, los cuales quedan reflejados en la 'Tabla 3'.

Se seleccionó un artículo a través de las referencias bibliográficas de dos de los artículos seleccionados y que se ajustaba con los criterios de inclusión/exclusión.

Se seleccionaron un total de 17 para su análisis crítico en esta revisión.

Tabla 2. Estrategia de búsqueda.

Base de datos	Ruta de búsqueda	Total	Fase 1	Fase 2	Fase 3
PubMed	("Oxidative Phosphorylation"[Mesh]) AND ("Down Syndrome"[Mesh])	10	8	6	2
	("Down Syndrome"[Mesh]) AND ("Mitochondrial Diseases"[Mesh])	22	11	7	1
	("Down Syndrome"[Mesh] OR "trisomy 21"[tiab]) AND ("Nuclear Receptor Interacting Protein 1"[tiab] OR NRIP1[tiab] OR "RCAN1 protein, human"[Supplementary Concept] OR RCAN1[tiab] OR "Regulator of Calcineurin 1"[tiab])	98	23	11	3
Web of Science	TS=("Oxidative Phosphorylation") AND TS=("Down Syndrome")	49	16	13	6
	TS=("Down Syndrome") AND TS=("Nuclear Receptor Interacting Protein 1" OR "NRIP1" OR "RCAN1 protein" OR "RCAN1")	336	42	22	3
Scopus	("Down syndrome") AND (("RCAN1 protein, human") OR("Nuclear Receptor Interacting Protein 1"))	146	15	8	1

Fuente: elaboración propia.

Tabla 3. Criterios de selección de artículos.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN	CRITERIOS DE EXCLUSIÓN
Revisiones sistemáticas y metaanálisis. Estudios experimentales en modelos animales con grupo control. Ensayos clínicos con seguimiento.	Opiniones de expertos sin evidencia empírica. Cartas al editor, resúmenes de conferencias.
Pacientes con síndrome de Down. Modelos celulares o animales relacionados con el síndrome de Down.	Estudios en poblaciones sin síndrome de Down, a menos que sean controles relevantes.
Estudios que analicen los efectos de los genes <i>NR1P1</i> y <i>RCAN1</i> en la fisiopatología del síndrome de Down. Investigaciones sobre enfermedad mitocondrial en el contexto del síndrome de Down. Estudios sobre terapias fetales y su impacto en el síndrome de Down.	Estudios que no analicen los genes <i>NR1P1</i> y <i>RCAN1</i> , enfermedad mitocondrial o terapias fetales en síndrome de Down.
Publicaciones a texto completo.	Solo resumen disponible.
Publicaciones en inglés o español.	Idiomas diferentes al inglés o español.
Publicados en el periodo entre enero de 2014 y abril de 2025.	Publicados antes de enero de 2014.

Fuente: elaboración propia.

La información obtenida se ha estructurado para evidenciar el papel de la disfunción mitocondrial y su papel en la neurogénesis defectuosa y en el deterioro cognitivo de aparición temprana en el síndrome de Down. Asimismo, se abordan las principales líneas de investigación en terapias prenatales y neonatales, orientadas a restaurar la función mitocondrial y prevenir o revertir las alteraciones cognitivas asociadas a la trisomía del cromosoma 21.

4. RESULTADOS

La información de los artículos seleccionados se presenta de forma estructurada y sintetizada en la 'Tabla 4' localizada en 'Anexos', en la que se expone el tipo de estudio, las muestras empleadas, el tipo de intervenciones realizadas, los hallazgos del estudio y las conclusiones más relevantes.

4.1. Alteraciones en la bioenergética mitocondrial

Diversos estudios han descrito una disfunción en la bioenergética mitocondrial en el síndrome de Down, asociada a un descenso en la producción de ATP, deficiencia del sistema de fosforilación oxidativa (OXPHOS) y cambios en el perfil metabólico celular.

Pecze et al. (22) realizaron un metaanálisis de los metabolitos implicados en las vías bioenergéticas de diferentes tejidos y líneas celulares de humanos con trisomía del cromosoma 21, en el que evidenciaron niveles reducidos de ATP y desregulación de genes mitocondriales implicados en la fosforilación oxidativa (OXPHOS). Diversas estirpes celulares mostraron deficiencia de los complejos mitocondriales I y V de la CTE, así como del translocador de ADP/ATP y de la enzima adenilato quinasa. Asimismo, detectaron niveles reducidos de coenzima Q10 (CoQ10). Los autores describen un estado que denominan pseudohipóxico en el SD con una disponibilidad celular normal de 2,3-difosfoglicerato (2,3-DPG). Este estado se asocia a la acumulación de lactato, piruvato y succinato, junto con una mayor actividad de la enzima fosfofructoquinasa, enzima reguladora clave de la ruta glucolítica. También identificaron alteraciones en metabolitos implicados en el metabolismo de aminoácidos y la β -oxidación de ácidos grasos.

Prutton et al. (23) en un estudio llevado a cabo sobre células madre pluripotentes inducidas (iPSCs) derivadas de fibroblastos humanos, observaron que el grupo de células trisómicas, presentaban una maduración mitocondrial acelerada y no mostraban transición metabólica de glucólisis a fosforilación oxidativa durante la diferenciación neural. Asimismo, las células progenitoras neurales (CPNs) mostraron deficiencia en la generación de ATP con un aumento del consumo de oxígeno celular simultáneo a una mayor fuga de protones y una reducción en la eficiencia del acoplamiento mitocondrial.

Xu et al. (24) demostraron una reducción de la respiración mitocondrial y de la síntesis de ATP en interneuronas GABAérgicas (GIN) y organoides de la eminencia ganglionar medial derivadas de iPSCs con SD.

Valenti et al. (25) identificaron en un estudio realizado en ratones Ts65Dn un descenso de la actividad de los complejos mitocondriales I, II, y V, así como de la síntesis de ATP mitocondrial y de los niveles de ATP cerebral. A su vez, observaron niveles de ATP en el cerebro de los ratones Ts65Dn en el 3 día postnatal más elevados en comparación con los niveles encontrados en estos ratones en el día 15 postnatal y sugieren la posibilidad de la presencia de mecanismos compensatorios durante el desarrollo temprano, empleando las células menos diferenciadas rutas metabólicas anaerobias para obtener energía y suplir las necesidades energéticas.

Allred et al. (26) reportaron una regulación negativa en la expresión de varios genes y proteínas de complejos OXPHOS en el circuito basocortical de ratones Ts65Dn de 6 meses de edad. Además, detectaron un descenso en los niveles de ATP en la corteza frontal, acompañado de un descenso en la expresión del gen *Mt-Atp8*, que codifica para el complejo V mitocondrial (ATP sintasa).

4.2. Estrés oxidativo y aumento de producción de ROS

Diversos estudios han identificado niveles elevados de especies reactivas de oxígeno (ROS) tanto de origen mitocondrial como no mitocondrial en distintos modelos celulares y animales de síndrome de Down.

Sun et al. (27), realizaron un estudio en neuronas dopaminérgicas derivadas de células madre de dientes deciduos de tres pacientes con SD. Las neuronas dopaminérgicas del grupo con SD mostraron niveles intracelulares elevados de dopamina y ROS mitocondrial. Estas neuronas presentaron sobreexpresión del receptor de dopamina 1 (DAT1) y regulación negativa del transportador vesicular de monoamina 2 (VMAT2), acompañado de una menor expresión del gen *DLK1*, encargado de suprimir la expresión de DAT1. En el estudio sometieron a las neuronas trisómicas al silenciamiento de DAT1 y observaron un descenso en los niveles de dopamina intracelular, acompañado de una reducción de la producción de ROS. Las neuronas del grupo control fueron sometidas a

la inhibición de *DLK1*, lo que produjo un aumento de los niveles intracelulares de dopamina y, de forma paralela, un incremento de los niveles de ROS.

Prutton et al. (23), observaron un aumento en los niveles intracelulares de ROS en iPSCs y en células progenitoras neuronales (CPNs) de humanos con SD y una sobreexpresión de NOX4, una NADPH oxidasa que produce especies reactivas de oxígeno (ROS) independientemente de la mitocondria. Las CPNs SD presentaron un fenotipo energético con un mayor consumo de oxígeno (OCR), mayor tasa de acidificación extracelular (ECAR), menor eficiencia del acoplamiento mitocondrial y generación reducida de ATP. En el estudio, el tratamiento con apocinina inhibió a NOX4 y las células tratadas mostraron un descenso en el consumo de oxígeno y un aumento en la síntesis de ATP.

Wong et al. (28) observaron en un estudio realizado en ratones con sobreexpresión de RCAN1.1S, la isoforma corta de RCAN1, que el hipocampo del grupo de ratones de edad avanzada y sobreexpresión del RCAN1 mostraba niveles elevados de ROS en comparación con los grupos de ratones jóvenes y ratones ancianos sin sobreexpresión de la proteína RCAN1.1S del estudio. Los ratones con sobreexpresión de la proteína RCAN1.1S y edad avanzada presentaron niveles mayores de proteínas carboniladas en comparación al resto de grupos, indicando un mayor daño oxidativo.

Parra et al. (29) en un estudio llevado a cabo en cardiomiocitos de rata neonatal con depleción de la proteína RCAN1.1 mediante silenciamiento génico (siRNA), identificaron una disminución en los niveles de producción de ROS en el grupo con silenciamiento de la proteína RCAN1.1, mientras que, los cardiomiocitos de rata con expresión forzada de la proteína RCAN1.1 por vectores adenovirales y las células madre pluripotentes inducidas (iPSCs) con T21 mostraron un aumento en la generación de ROS.

4.3. Acumulación de H₂S en células del síndrome de Down

Dos artículos se centraron en la sobreexpresión de enzimas productoras de sulfuro de hidrógeno (H₂S) y su efecto sobre la bioenergética mitocondrial.

Panagaki et al. (30) llevaron a cabo un estudio en fibroblastos humanos con trisomía del cromosoma 21 y euploides, en el que observaron sobreexpresión de la enzima cistationa-beta-sintasa (CBS) y un aumento de los niveles de sulfuro de hidrógeno (H₂S). Los

autores asociaron el aumento de la expresión de CBS con la inhibición de la actividad del complejo IV de OXPHOS, el descenso en la producción de ATP, el descenso del consumo de oxígeno (OCR) y una menor tasa de proliferación celular. Mediante el silenciamiento génico y la inhibición farmacológica con aminooxiacetato (AOAA) de CBS en los fibroblastos con SD, los autores normalizaron los niveles de H₂S a los de células euploides y observaron un aumento de la síntesis de ATP. Asimismo, administraron a las células euploides una molécula liberadora de H₂S, GYY4137, y observaron una reproducción de las alteraciones bioenergéticas encontradas en las células con SD.

Empleando la misma línea celular, Panagaki et al. (31) reportaron la translocación mitocondrial y el aumento en los niveles de la enzima 3-mercaptopiruvato sulfultransferasa (3-MST) en fibroblastos de individuos con SD, acompañado de niveles intracelulares elevados de H₂S. Los fibroblastos con trisomía del cromosoma 21 presentaron una disminución de la tasa de proliferación celular y un descenso de los niveles de OCR y ECAR. Los autores emplearon un inhibidor específico para 3-MST, 2-[(4-hidroxi-6-metilpirimidin-2-il)sulfanil]-1-(naftalen-1-il)etan-1-ona (HMPSNE), esta molécula redujo los niveles intracelulares de H₂S, restauró la proliferación celular y la bioenergética mitocondrial, evidenciada por el aumento de la síntesis de ATP y el consumo de oxígeno celular (OCR).

4.4. Alteraciones en la dinámica y biogénesis mitocondrial

La dinámica, la biogénesis y la degradación mitocondrial son procesos que mantienen la homeostasis de la mitocondria. Diversos estudios han demostrado que en el síndrome de Down este equilibrio se encuentra alterado, lo que compromete la estructura, el número y la funcionalidad de la red mitocondrial.

Valenti et al. (32) encontraron mitocondrias fragmentadas y esféricas con un aumento de la expresión de las proteínas mediadoras del proceso de fisión mitocondrial, como Drp1, y un descenso de las proteínas reguladoras del proceso de fusión, como Mfn2, en ratones Ts65Dn. La proteína Opa1, implicada en el proceso de fusión mitocondrial, presentó unos niveles de su forma larga (L-Opa1) descendidos, y un aumento en los niveles de su forma escindida (S-Opa1), los autores señalan que esta circunstancia favoreció el proceso de fragmentación mitocondrial. Estas células presentaron de forma simultánea un aumento en los niveles de proteína RCAN1 y un descenso de Drp1 fosforilada (p-Drp1) en serina

637, los autores señalan que la sobreexpresión de RCAN1 promovió la desfosforilación de Drp1 lo que produjo un aumento de la fisión mitocondrial en el grupo de ratones con SD.

D'acunzo et al. (33) encontraron en tejidos cerebrales de ratones Ts2 un aumento en el número de mitovesículas sobre el resto de las vesículas extracelulares, en comparación con el grupo control de ratones euploides. Asimismo, el cerebro de los ratones Ts2 presentó mitocondrias de morfología anormal y con tendencia a la fragmentación, acompañadas de una mayor expresión de p-Drp fosforilada en serina 616.

Wong et al. (28) observaron en el hipocampo del grupo de ratones con sobreexpresión de la proteína RCAN1.1S una disminución de los niveles de p-Drp1 en serina 637, y la presencia de mitocondrias más pequeñas y numerosas que las que observaron en los ratones de control de la misma edad sin sobreexpresión de la proteína RCAN1.1S.

En el estudio realizado por Parra et al. (29), los autores observaron que los cardiomiocitos de rata neonatal con depleción de la proteína RCAN1.1 presentaban una red mitocondrial fragmentada, con un mayor número de mitocondrias de un menor tamaño. La calcineurina no fue inhibida en estas células por la ausencia de la actividad de la proteína RCAN1.1. Asimismo, se produjo un aumento de la actividad de DRP1 con un descenso de los niveles de p-DRP1 en serina 637. Los autores detectaron niveles reducidos de las proteínas de fusión mitocondrial Opa1 y MFN2 en las células que no expresaban proteína RCAN1.1. Por otro lado, en las iPSCs con trisomía del cromosoma 21, los autores describieron una red mitocondrial más fusionada, con un número menor de mitocondrias pero de mayor volumen, acompañado de una tasa metabólica aumentada con una alteración en la eficiencia del acoplamiento mitocondrial respecto a sus controles diploides.

En las neuronas dopaminérgicas derivadas de células madre de dientes deciduos de individuos con SD, Sun et al. (27) observaron alteraciones en la biogénesis mitocondrial en las células con exceso de dopamina intracelular. Los autores encontraron un aumento de la expresión de la proteína NRIP1 y una disminución de PGC-1 α , acompañados de un descenso en el número de mitocondrias por área celular y en la proporción de neuritas que contenían mitocondrias.

4.5. Alteraciones en la neurogénesis y migración neuronal

Algunos estudios describen el efecto de las alteraciones en la función mitocondrial sobre la neurogénesis y la migración neuronal y su impacto en el desarrollo y conectividad del sistema nervioso.

Sun et al. (27) mostraron un desarrollo neurítico deficiente en las neuronas dopaminérgicas derivadas de individuos SD. Estas neuronas presentaron un menor número de ramificaciones y un crecimiento menor en comparación con el grupo de control.

Xu et al. (24) describieron alteraciones en las interneuronas GABAérgicas (GIN) derivadas de iPSCs de pacientes con SD, caracterizadas por defectos en la migración y una disminución en la arborización. Además, presentaron una red mitocondrial fragmentada, compuesta por un mayor número de mitocondrias cortas y redondeadas.

Patel et al. (34) llevaron a cabo un estudio en ratones $Dp(16)1Yey/\beta$. Los ratones en el día 16.5 embrionario, momento en el que se completa la neurogénesis y migración noradrenérgica en el sistema nervioso simpático murino, presentaron axones cortos y dispersos. En el día 0.5 postnatal estos ratones presentaron una disminución de las fibras simpáticas en órganos periféricos y de neuronas simpáticas en la cadena ganglionar superior. Los investigadores observaron fallos en la señalización del factor de crecimiento nervioso (NGF), con niveles normales de producción en glándulas salivales y un descenso en la internalización del receptor TrkA, necesario para la endocitosis de NGF en el axón neuronal y posterior transporte al soma ubicado en el ganglio cervical simpático. Los ratones con sobreexpresión RCAN1 mostraron un bloqueo de la desfosforilación de Drp1, necesario para la internalización del receptor TrkA. La inhibición farmacológica de la calcineurina (CN) con ciclosporina A (CsA) y FK506 produjo una señalización local normal y una comunicación retrógrada deteriorada en las células con sobreexpresión de RCAN1. Asimismo, demostraron que la sobreexpresión de RCAN1 alteró funciones dependientes de la señalización retrógrada del NGF como la supervivencia y el crecimiento axonal. Por último, la normalización de los niveles RCAN1 en ratones trisómicos condujo a una mejora de la actividad de la calcineurina, una corrección de la hiperfosforilación de Drp1 y una recuperación parcial de la internalización del receptor

TrkA. Esta intervención resultó en un aumento significativo en el número de neuronas simpáticas, aunque sin alcanzar los niveles observados en ratones euploides.

4.6. Relación con los procesos neurodegenerativos similares a la enfermedad de Alzheimer

Algunos autores han encontrado similitudes entre las alteraciones mitocondriales y de la conectividad sináptica en el síndrome de Down con los procesos neurodegenerativos característicos de la enfermedad de Alzheimer.

Wong et al. (28) observaron en cortes cerebrales de pacientes con enfermedad de Alzheimer, un aumento de los niveles de las isoformas RCAN1.1L y RCAN1.1S que no se correlacionaban con los niveles apropiados para su edad cronológica en comparación con los niveles de individuos sanos, donde el aumento de la proteína RCAN1.1 mantenía una relación fisiológica con su edad. En ratones transgénicos (TG) con sobreexpresión de la isoforma RCAN1.1S, los autores encontraron un aumento en los niveles de esta isoforma en el hipocampo y en el prosencéfalo de los ratones de edad avanzada. La evaluación mediante pruebas de memoria dependientes del hipocampo reveló la presencia de deterioro cognitivo en ratones TG de edad avanzada. Por otro lado, la evaluación de la plasticidad sináptica de los ratones TG y sus controles con sobreexpresión de la proteína RCAN1.1S sin Camk2-Cre (ratones WT) mostró que la potenciación a largo plazo de fase tardía (L-LTP), una forma duradera de plasticidad sináptica, se encontraba afectada en los ratones TG y WT de edad avanzada. Respecto a los marcadores neuropatológicos de la enfermedad de Alzheimer, los ratones TG mostraron una expresión temprana de Tau hiperfosforilada, con niveles elevados de AT8 y AT180, tanto en animales jóvenes como en los de edad avanzada, acompañado de un aumento de ROS y de proteínas carboniladas, en el hipocampo de ratones TG de edad avanzada, como se ha mencionado anteriormente. Además, observaron que los ratones TG de edad avanzada presentaron hiperpolarización de la membrana mitocondrial, niveles reducidos de DRP1 fosforilada en serina 637, y un aumento en el número de mitocondrias pequeñas. Los autores no detectaron alteraciones en los ratones jóvenes TG. Los autores postulan que la sobreexpresión de la proteína RCAN1.1S promueve la disfunción mitocondrial de manera dependiente de la edad y señalan que es un contribuyente potencial de los procesos de neurodegeneración similares a los observados en la enfermedad de Alzheimer.

D'Acunzo et al. (33) reportaron una mayor actividad enzimática de la isoenzima MAO-B en las mitovesículas de ratones Ts2, que además fue más abundante en estas vesículas en la medición mediante citometría de flujo. Los autores indujeron la potenciación a largo plazo (LTP), un proceso que refleja la capacidad de las neuronas de formar conexiones y se considera un marcador de memoria, en cortes de hipocampo de ratones Ts2 cultivados solos o en presencia de mitovesículas o de otras vesículas extracelulares. Observaron una disminución de la LTP únicamente en los cortes cultivados con mitovesículas. Los autores plantean la hipótesis de que la secreción elevada de mitovesículas por parte de las células cerebrales y por lo tanto, los niveles elevados de MAO-B en pacientes con SD, provoca la depresión de LTP y guarda relación con la neurodegeneración, apoyándose en el hallazgo de niveles de MAO-B elevados en el hipocampo de pacientes con enfermedad de Alzheimer, y niveles reducidos de monoaminas, como la noradrenalina, la dopamina o la serotonina, en pacientes con SD.

Allred et al. (26) detectaron niveles significativamente reducidos de genes y proteínas de OXPHOS en el prosencéfalo basal (BF) en comparación con los niveles encontrados en la corteza prefrontal. Los autores plantean la hipótesis de que la regulación negativa de genes y proteínas del sistema OXPHOS en el prosencéfalo basal de ratones Ts65Dn aparece antes que los cambios degenerativos detectables en la corteza prefrontal. Plantean que la disfunción mitocondrial en BF podría actuar como un evento temprano desencadenante de la degeneración sináptica en el circuito basocortical, una red esencial para funciones cognitivas afectadas en el síndrome de Down y en el Alzheimer.

Wong et al. (35) analizaron la actividad circadiana en ratones carentes del gen *RCANI* (KO) y en ratones con sobreexpresión del gen *RCANI* (TG). Los autores observaron que, bajo condiciones de luz de arrastre, ambos grupos presentaron una reducción de la actividad diaria total y alteraciones de los parámetros del ritmo de carrera (MESOR y amplitud disminuidos) en edades tempranas, comparables a los que encontraron en ratones de edad avanzada. Asimismo, evaluaron los patrones de actividad locomotora de los ratones bajo condiciones de oscuridad constante, reportaron que los ratones KO mostraron hiperactividad mientras que, los ratones TG mostraron una disminución significativa de la actividad diaria total. En un modelo de SD con ratones Dp(16)Yey/+ evaluaron el efecto de la corrección de la dosis génica del gen *RCANI* y observaron la restauración de la actividad total y la ritmicidad de carrera a niveles de ratones WT.

Finalmente, detectaron niveles elevados de proteína RCAN1 en el núcleo supraquiasmático (NSQ) que no mostraron ritmicidad de su expresión en el hipocampo en ratones *Dp(16)Yey/+*, y observaron que la normalización de dosis génica de *RCAN1* corrigió la sobreexpresión en el NSQ de estos ratones. Los autores postulan que RCAN1 modula los ritmos circadianos y que su desregulación podría inducir fenotipos de envejecimiento similares a los encontrados en el SD y la enfermedad de Alzheimer.

4.7. Intervenciones terapéuticas para restaurar la función mitocondrial

Diversos estudios han propuesto diferentes estrategias terapéuticas dirigidas a revertir las alteraciones observadas en células del SD, poniendo el foco especialmente en la mejora de la función bioenergética mitocondrial.

Pecze et al. (22) analizaron diversas estrategias terapéuticas dirigidas a corregir la disfunción bioenergética en el SD. Los autores informan de que el tratamiento con antioxidantes como la vitamina E, la N-acetilcisteína o la melatonina, mostró mejoras bioquímicas en algunos individuos con SD pero no produjeron efectos significativos a nivel del funcionamiento cognitivo, ni una estabilización del deterioro cognitivo. La suplementación con Coenzima Q10, pese al déficit encontrado en células de individuos con SD, no logró restaurar de forma efectiva la síntesis de ATP. La inhibición de las enzimas CBS y 3-MST con aminoxiacetato y HMPSNE respectivamente, produjo una reducción de los niveles de intracelulares de H₂S con una mejora de la bioenergética en modelos celulares, pero no lograron revertir el fenotipo alterado por completo. Los inhibidores del gen *DYRK1* como la epigallocatequina-3-galato, demostraron una modesta mejora de la cognición en individuos con SD.

Izzo et al. (36) emplearon fibroblastos fetales humanos con SD (DS-HFF) a los que sometieron a un tratamiento con metformina. Los fibroblastos tratados con este fármaco aumentaron los niveles de ARNm y de los factores de transcripción NRF-1 y TFAM, previamente disminuidos en los fibroblastos trisómicos, y cuya actividad es dependiente de la activación por PGC-1 α . Además, observaron un aumento en los niveles de ADN mitocondrial (ADNmt). Las células tratadas mostraron un aumento en la tasa de consumo de oxígeno (OCR) y en la concentración basal de ATP. El tratamiento con metformina revirtió las alteraciones de la red mitocondrial de las células con SD, que presentaban un elevado número de mitocondrias redondeadas, dañadas y, ultraestructuralmente, edema y

crestas estrechas. Asimismo, se produjo un aumento en la expresión de las proteínas de fusión mitocondrial OPA1 y MFN2, que los autores relacionaron con la disminución de la fisión mitocondrial y la normalización de las crestas mitocondriales. Los autores sugieren que la metformina estimula la biogénesis mitocondrial y que favorece la normalización estructural y funcional de la misma.

Valenti et al. (25) administraron diariamente 7,8-dihidroxi-flavona (7,8-DHF) por vía subcutánea en una dosis de 5/mg/kg/día a un grupo de ratones Ts65Dn desde el día tres postnatal (P3) hasta el día 15 (P15), mientras que a otro grupo le administraron únicamente el vehículo. Los ratones tratados mostraron una recuperación completa de la síntesis de ATP mitocondrial y de la actividad de los complejos I y II de la cadena de transporte de electrones. Asimismo, los ratones Ts65Dn mostraron una reducción significativa de los niveles de ROS, a diferencia de los ratones euploides, que mantuvieron niveles basales de ROS después del tratamiento con 7,8-DHF. En el día P15 los ratones Ts65Dn tratados mostraron niveles aumentados de PGC- α y de los genes mitocondriales codificados en el núcleo, NEMGs. Los autores postulan que 7,8-DHF ejerce su efecto al unirse al receptor TrkB, activando la vía RAS-ERK-pCREB, lo que produce un aumento de la expresión de PGC-1 α .

Mu et al. (37) llevaron a cabo un estudio en células SH-SY5Y, una línea celular de neuroblastoma humano, que cultivaron durante siete días en presencia de tres variantes de ácido retinoico (AR) derivadas de la vitamina A, empleando una concentración de 1mM de 9-cis-AR, 13-cis-AR y at-AR. Los autores evidenciaron un aumento de la tasa de diferenciación neuronal y mayor desarrollo de neuritas, acompañado de un aumento de la expresión de los marcadores b-III tubulina y nestina, en comparación con el grupo control tratadas con vehículo dimetilsulfóxido (DMSO), que mostraron tasas de diferenciación inferiores. La exposición durante siete días a las moléculas de ácido retinoico mostró mitocondrias de morfología y función normales. A nivel molecular, los niveles de ARNm y de proteína RIP140 y PGC-1 α se vieron regulados al alza en el tercer día de tratamiento, en cambio, en el séptimo día de tratamiento el ARNm de *NR1P1* permaneció elevado pero PGC-1 α estaba regulado a la baja. Los autores emplearon antagonistas de los receptores del ácido retinoico RARa y RARb que bloquearon los efectos de AR sobre la diferenciación neuronal, la función mitocondrial y la expresión de *NR1P1* en las células tratadas.

Xu et al. (24) llevaron a cabo la inhibición de la vía DSCAM-PAK1 empleando FRAX 486, un inhibidor de la quinasa activada por p21 (PAK1), y mediante la inhibición endógena de *DSCAM* mediante la técnica CRISPR/Cas9 en las interneuronas GABAérgicas (GIN) con SD. Estas estrategias restauraron el patrón de distribución mitocondrial, el aumento de la síntesis de ATP mitocondrial y el crecimiento de las neuritas. Además, los autores llevaron a cabo la sobreexpresión de PAK1 con un lentivirus en GIN derivadas de iPSCs euploides, las cuales mostraron el fenotipo patológico observado en las células del SD, incluyendo alteraciones en la morfología y función mitocondrial.

En su estudio, Valenti et al. (32) trataron a CPNs derivadas del hipocampo de ratones Ts65Dn adultos con Mdivi-1, un inhibidor específico de la fisión mitocondrial, este fármaco bloquea el ensamblaje y la translocación de Drp1 a la mitocondria e indujo una restauración de la morfología mitocondrial. Los autores evidenciaron mitocondrias con un aspecto similar al de las células euploides, con una fragmentación mitocondrial reducida. Además, el fármaco produjo la restauración del sistema OXPHOS y la síntesis de ATP mitocondrial. Los cambios morfológicos y bioenergéticos se acompañaron de un aumento en la tasa de proliferación celular y diferenciación de las CPNs hipocampales de ratones Ts65Dn.

Prutton et al. (23) trataron CPNs derivadas de fibroblastos humanos trisómicos, que presentaban sobreexpresión de NOX4, con el fármaco apocinina (inhibidor de NADPH oxidasa). La tasa de consumo de oxígeno no mitocondrial descendió y se produjo un aumento en la eficiencia de acoplamiento con menor fuga de protones. Asimismo, aumentó la síntesis de ATP en las células con SD.

Scala et al. (38) realizaron un ensayo clínico en niños de entre 12 meses y 8 años de edad con síndrome de Down para evaluar la seguridad y el efecto de la suplementación con epigallocatequina-3-galato (EGCG) combinada con omega-3. Tras seis meses de tratamiento, observaron que la actividad de los complejos mitocondriales I y V se restauró hasta niveles comparables a los del grupo control euploide. Tres de los veinte pacientes tratados mostraron una reducción en los niveles de ácido fólico en el control bioquímico tras el primer mes de tratamiento, estos pacientes fueron suplementados con ácido levofolínico y en el control analítico del tercer mes de seguimiento los niveles se

encontraron corregidos y se mantuvieron estables hasta el final del estudio. Durante el seguimiento se notificaron dos eventos adversos atribuibles EGCG que motivaron la interrupción del tratamiento en ambos casos. En cuanto al desarrollo neurológico, evaluado mediante las Escalas de Desarrollo Mental de Griffiths (GMDS-ER), no se encontraron diferencias significativas entre los niños tratados y el grupo de control de niños con SD no tratados. Los autores sugieren que las mejoras detectadas en el desarrollo neurológico de los niños con SD tratados fueron atribuibles al desarrollo evolutivo propio de la edad y no al efecto del tratamiento.

5. DISCUSIÓN

5.1. Disfunción mitocondrial en el síndrome de Down: alteración de OXPHOS y de la homeostasis mitocondrial

La función mitocondrial es esencial para mantener la homeostasis celular, ya que permite la producción de energía en forma de ATP a través de OXPHOS. En el síndrome de Down, múltiples estudios han identificado una disfunción bioenergética caracterizada por un descenso en la producción de ATP, consecuencia de un sistema de fosforilación oxidativa alterado. Estas alteraciones han sido descritas en células humanas de individuos con SD (fibroblastos, iPSCs, células progenitoras neuronales), y en modelos animales como los ratones Ts65Dn, que presentan características fenotípicas similares a las encontradas en humanos con trisomía del cromosoma 21. (26)

Tanto en células humanas, como en tejidos cerebrales de modelos murinos Ts65Dn, se ha demostrado una disminución en la actividad de los complejos mitocondriales I, II, IV y V de forma simultánea a niveles reducidos de ATP. (22) (25) (26)

A nivel transcripcional, la expresión de genes nucleares y mitocondriales que codifican para subunidades del sistema OXPHOS se encuentra regulada negativamente. La disfunción de la respiración mitocondrial parece estar asociada al desequilibrio de la dosis génica de varios genes localizados en el cromosoma 21 que tienen influencia de forma directa o indirecta sobre las funciones mitocondriales. (34)

Pecze et al. (22) describieron un “estado pseudohipóxico” en células con trisomía del cromosoma 21, en el que pese a la disponibilidad de oxígeno y 2,3-difosfoglicerato, el metabolismo celular se ve desplazado hacia la glucólisis, con acumulación de lactato, piruvato y succinato, así como un aumento de la actividad de la fosfofructoquinasa, lo que indica que el metabolismo trata de compensar la deficiencia mitocondrial.

Cabe destacar que varias de estas alteraciones han sido observadas en etapas prenatales o en los primeros días de vida postnatales, lo que sugiere que la disfunción mitocondrial es un evento temprano en la fisiopatología del SD y podría contribuir al desarrollo anómalo del sistema nervioso. La diferenciación neural de iPSCs a CPNs demostró que estas células no realizaban la transición a un metabolismo energético basado en OXPHOS, sino

que mantenían la producción energética dependiente de la glucólisis. Asimismo, se han encontrado niveles de ATP celulares superiores en los primeros días postnatales de ratones Ts65Dn, que en días posteriores del desarrollo, lo que sugiere la existencia de mecanismos compensadores en etapas tempranas. (23) (28)

A esta disfunción bioenergética se añade un entorno de estrés oxidativo progresivo y mantenido en el tiempo. La sobreproducción de ROS constituye un mecanismo clave implicado en la disfunción mitocondrial en el síndrome de Down, que ejerce un daño oxidativo sobre las células y que, a su vez, es indicador de existencia de daño a nivel mitocondrial. Diversos estudios han demostrado niveles elevados de ROS en diferentes estirpes celulares con trisomía del cromosoma 21. En las neuronas dopaminérgicas el aumento de ROS se ha relacionado con un aumento de los niveles de dopamina intracelular por una mayor captación de dopamina debido al aumento en la expresión del receptor de dopamina 1 (DAT1), que no es inhibido por DKL1, y que se encuentra regulado negativamente en el SD. Por otro lado, las CPNs derivadas de iPSCs trisómicas humanas presentan niveles elevados de ROS de origen mitocondrial por la deficiencia en el acoplamiento, y por la sobreexpresión de NOX4, que contribuye a la producción de ROS de origen no mitocondrial. (22) (27)

El aumento de ROS promueve el estrés oxidativo en las células, aumentando el daño sobre las mitocondrias ya dañadas, produciendo un bucle de retroalimentación que perpetúa el daño mitocondrial.

A este contexto, se suma el exceso de producción de H₂S, un mediador gaseoso endógeno que regula la función mitocondrial. Las enzimas CBS y 3-MST, sobreexpresadas en el SD, aumentan la producción de H₂S y de polisulfuros reactivos, cuya acumulación inhibe el complejo IV de la CTE y la proliferación celular. Esta teoría, propuesta inicialmente por Kamoun et al. (39), solo ha sido evaluada en estudios *in vitro*, por lo que su validación *in vivo* está aún pendiente. (30) (31)

El silenciamiento génico y la inhibición farmacológica de CBS con aminoaceticato, o de 3-MST con el inhibidor selectivo HMPSNE, restauran los niveles normales de H₂S, lo que supone una mejora de la bioenergética mitocondrial y un aumento de la tasa de

proliferación celular. Estos hallazgos apoyan la implicación directa del H₂S en la disfunción mitocondrial del SD. (30) (31)

Además, el exceso de H₂S y polisulfuros interfiere en la homeostasis redox en las células del SD. CBS participa en la vía de la transulfuración, y su alteración reduce los niveles de GSH, un antioxidante celular. Por su parte, la enzima 3-MST, que también tiene acción antioxidante, es regulada por el propio estado redox celular que, como se ha comentado previamente, en el SD está alterado, y en consecuencia, la alteración de esta enzima puede amplificar aún más el estrés oxidativo celular. En conclusión, el balance final de ROS y los sistemas antioxidantes está alterado en las células con SD, favoreciendo un entorno celular prooxidante y un daño oxidativo mantenido en las células de SD. (30) (31)

5.2. *RCANI*

El papel del gen *RCANI*, uno de los genes sobreexpresados en el cromosoma 21, se ha relacionado con múltiples alteraciones a nivel mitocondrial y se ha señalado su papel en el proceso alterado de desarrollo neuronal y en la neurodegeneración.

Las células con trisomía del cromosoma 21 presentan una red mitocondrial fragmentada, con un aumento en el número de mitocondrias, que a su vez, presentan una morfología anormal, aspecto redondeado y menor tamaño. Esta alteración refleja un desequilibrio entre los procesos de fisión y fusión mitocondrial, esenciales para el mantenimiento de la funcionalidad de la mitocondria y del sistema OXPHOS. Una red mitocondrial fragmentada se asocia con disfunción mitocondrial, baja eficiencia energética, aumento de la producción de ROS mitocondrial y activación de la mitofagia. Este patrón anómalo se ha relacionado con una expresión alterada de las proteínas reguladoras de la dinámica mitocondrial, incluyendo un aumento en los niveles de las proteínas de fisión como Drp1 defosforilada y la isoforma corta (S-OPA1), y un descenso de los niveles de las proteínas de fusión como MFN2 y la isoforma larga (L-OPA1). (32)

La proteína Drp1 (proteína relacionada con la dinamina 1) es un regulador clave de la fisión mitocondrial, cuya actividad depende de su estado de fosforilación. La proteína cinasa dependiente de AMPc (PKA) fosforila Drp1 en la serina 637, inhibiendo su actividad GTPasa y reduciendo el proceso de fisión. Por el contrario, la defosforilación por la calcineurina activa Drp1 y promueve la fisión. La fragmentación mitocondrial también puede ser inducida por la fosforilación en Ser616 y Ser585 de DRP1. (9)

RCAN1 juega un papel clave en la regulación del equilibrio de fisión/fusión mitocondrial. Su sobreexpresión inhibe la actividad de la calcineurina, alterando el equilibrio dinámico. En ratones con sobreexpresión de RCAN1.1S, el hallazgo de una red mitocondrial con tendencia a la fisión se ha encontrado acompañado de niveles disminuidos de p-Drp1 (Drp1 fosforilada) en Ser 637, lo que respalda la hipótesis de que la sobreexpresión de RCAN1 promueve la dinámica mitocondrial hacia la fisión. (28)

En estadios celulares precoces, como el de las células iPSCs empleadas en diversos estudios, se han observado redes mitocondriales más fusionadas, con un número menor de mitocondrias y de gran volumen. Este tipo de patrón responde a altas demandas energéticas, tales como las que presentan las células en sus etapas iniciales de diferenciación, en las que este tipo de patrón podría actuar como una estrategia energética compensadora transitoria para responder a la energía que demandan el proceso de diferenciación y el ciclo celular, empleando rutas metabólicas anaerobias como la glucólisis. Sin embargo, a medida que van diferenciándose, se altera el equilibrio dinámico con predominio de la fragmentación mitocondrial. Asimismo, durante el proceso de diferenciación, estas células no llevan a cabo la transición de su metabolismo a la respiración aeróbica cuando alcanzan niveles de diferenciación superiores, y en esta etapa de mayor diferenciación se observan niveles de ATP disminuidos y células que no son capaces de producir energía. (23)

RCAN1 ejerce un papel en el proceso de biogénesis mitocondrial mediante la inhibición de la vía de señalización calcineurina-NFAT, necesaria para la activación transcripcional de PGC-1 α . Se ha observado que la sobreexpresión de la isoforma RCAN1.1 reduce los niveles de PGC-1 α , lo que se asocia con una menor masa mitocondrial. En las células con sobreexpresión del gen *RCAN1* en modelos iPSCs se describe un menor número de mitocondrias por área celular, lo que indica un compromiso en la capacidad para generar nuevas mitocondrias, a diferencia de las células de rata con depleción de proteína RCAN1.1 que mostraron una red mitocondrial fragmentada y con un aumento en el número de mitocondrias por área celular. Estos hallazgos favorecen la hipótesis de que la inhibición de PGC-1 α por la sobreexpresión del gen *RCAN1* favorecen la disfunción mitocondrial en el SD. (16) (28)

Además de su papel en la dinámica y biogénesis mitocondrial, RCAN1 regula procesos clave para la señalización neuronal. El sistema nervioso simpático de los individuos con SD presenta una disminución en la inervación distal de diversos órganos periféricos como el bazo. En un modelo de ratones Dp(16)Yey estos hallazgos se reprodujeron y, conforme avanzó el proceso evolutivo, estos ratones presentaron un menor número de neuronas simpáticas y axones neuronales más cortos. (34)

Uno de los elementos clave en el desarrollo y supervivencia neuronal es la señalización del factor de crecimiento nervioso (NGF). La sobreexpresión de RCAN1 impide la internalización del receptor TrkA, localizado en las terminaciones axonales y al cuál se une el NGF de forma específica. La internalización del receptor se realiza por endocitosis mediada por dinamina-1. En el SD la sobreexpresión de RCAN1 inhibe la actividad de la calcineurina, impidiendo su defosforilación. Esta alteración interfiere con el transporte y señalización retrógrados del NGF. Una ausencia de la señalización del NGF afecta al crecimiento y supervivencia neuronal y, por lo tanto, a la inervación de órganos periféricos como ocurre en el caso de los ratones Dp(16)Yey. (34)

Por otro lado, las mitovesículas son un tipo de vesículas extracelulares derivadas de las mitocondrias que se han encontrado en el tejido cerebral de ratones de ratones Ts2 y en humanos con SD. De forma simultánea a una mayor secreción de mitovesículas, estas células presentan mitocondrias con alteraciones morfológicas y con tendencia a la fisión, acompañadas de niveles elevados de Drp1 fosforilada en Ser 616. Asimismo, la actividad de MAO-B es mayor en las mitovesículas de ratones con un fenotipo similar al SD. La sobreproducción de mitovesículas, cargadas de MAO-B, podría contribuir al proceso neurodegenerativo y a la disfunción sináptica observada en el SD y la EA, puesto que, en un estudio en el que se cultivaron cortes hipocámpales con mitovesículas con una importante actividad de MAO-B, se produjo una disminución de la potenciación a largo plazo (L-LTP), demostrando alteración de la plasticidad sináptica secundaria a un aumento de la actividad de la enzima MAO-B. Esto sugiere que, además de la presencia de una red fragmentada por el desequilibrio dinámico de una vía RCAN1-calcineurina-Drp1 desregulada, la sobreexpresión del gen RCAN1 puede producir alteraciones en la sinaptogénesis. (33)

Se han encontrado alteraciones en la plasticidad sináptica en el hipocampo y en el prosencéfalo de ratones de edad avanzada con sobreexpresión de proteína RCAN1.1S.

Estas alteraciones sinápticas se presentan al mismo tiempo que alteraciones en la memoria y funciones ejecutivas complejas en este tipo de ratones, lo cual pone de manifiesto la relación entre una sobreexpresión de RCAN1 y alteraciones neurocognitivas. (28)

Una hipótesis relevante señala una posible relación entre la EA y el SD, puesto que los ratones de un estudio que presentaban sobreexpresión de RCAN1 presentaron de forma temprana signos de la EA, como niveles elevados de la proteína tau fosforilada, proteínas carboniladas y un aumento en la producción de ROS en el hipocampo. Estos daños neurodegenerativos se acompañaron de mitocondrias con membranas hiperpolarizadas y niveles reducidos de la p-Drp1Ser 637, es decir, una dinámica mitocondrial con tendencia a la fisión. La disfunción mitocondrial dependiente de la edad promovida por la sobreexpresión de la proteína RCAN1.1S podría ser un contribuyente potencial en los procesos neurodegenerativos similares a los observados en la EA. (28)

Asimismo, la presencia de un patrón circadiano alterado en ratones Dp(16)Yey, con sobreexpresión de RCAN1, similar al observado en pacientes con EA apoya la relación entre estas dos entidades patológicas. (35)

Por otro lado, se ha observado un aumento de la producción de ROS mitocondrial y un mayor daño oxidativo en los ratones con sobreexpresión de la isoforma RCAN1.1S y edad avanzada con respecto a los esperables para su edad cronológica. Estos hallazgos sugieren que ROS producen un daño progresivo y acumulativo sobre las células nerviosas y que RCAN1 favorece el proceso acelerando su acción. (28)

En cambio, las células que no tienen expresión de la proteína RCAN1.1, presentan niveles disminuidos de ROS de origen mitocondrial pero presentan una red mitocondrial fragmentada. En estas células la calcineurina no es inhibida debido a la ausencia de su regulador, produciendo un aumento de los niveles de DRP1. (29)

Estos hallazgos demuestran el papel de RCAN1 en diferentes funciones celulares y como la sobreexpresión de este gen en el síndrome de Down contribuye a la disfunción mitocondrial, alterando el equilibrio dinámico, la producción de mitocondrias nuevas, interfiriendo en la señalización neuronal y favoreciendo el estrés oxidativo y la neurodegeneración. A pesar de su importante papel en el SD, las estrategias terapéuticas dirigidas a modular su actividad y sobreexpresión siguen siendo escasas.

5.3. *NRIP1*

La biogénesis mitocondrial es un elemento esencial para el correcto funcionamiento mitocondrial. Diversos genes sobreexpresados y localizados en el cromosoma 21, ejercen su influencia en la regulación de esta función mitocondrial esencial en el SD. Entre ellos, destaca el gen *NRIP1*, un correpresor transcripcional que inhibe la actividad de PGC-1 α , considerado el regulador principal de la biogénesis mitocondrial. (10)

En el síndrome de Down, se ha encontrado un descenso en la expresión de genes mitocondriales codificados en el núcleo (NEMGs) como *NRF-1* y *TFAM*, regulados por la expresión de PGC-1 α , y ambos necesarios para la transcripción y replicación del ADNmt y la transcripción de proteínas mitocondriales codificadas por el núcleo. Esta desregulación afecta a la capacidad para generar nuevas mitocondrias lo que reduce la capacidad celular para producir ATP de forma adecuada. (36)

En modelos celulares derivados de individuos con SD se ha encontrado un descenso en el número de mitocondrias en relación con una baja expresión de PGC-1 α y una expresión aumentada de NRIP1. (36)

Asimismo, en neuronas dopaminérgicas derivadas de células madre de individuos con SD se ha descrito un desarrollo neurítico deficiente, con un menor número de ramificaciones y una baja proporción de neuritas que contienen mitocondrias, lo que sugiere una alteración en la distribución mitocondrial y una incapacidad para satisfacer las demandas energéticas asociadas al crecimiento neuronal. (27)

La inhibición de NRIP1 mediante ARNi o el tratamiento con fármacos inductores de la vía PGC-1 α , como la metformina, ha demostrado restaurar la expresión de NEMGs, restaurando la función mitocondrial en fibroblastos trisómicos fetales, demostrando la implicación de este gen en la desregulación de la biogénesis mitocondrial. (40)

Por otro lado, la vitamina A ejerce una influencia sobre la neurogénesis y diferenciación del sistema nervioso central. Niveles reducidos de esta vitamina han sido identificados en individuos con trastornos de la diferenciación neuronal como el síndrome de Down y la enfermedad de Alzheimer. En un estudio *in vitro* realizado sobre células del

neuroblastoma humano (SH-SY5Y), el empleo de derivados de vitamina A demostró ser capaz de inducir la diferenciación neuronal a través de la vía de señalización del ácido retinoico, observándose también mejoras en la morfología y función mitocondrial. Este proceso de diferenciación neuronal se vio acompañado de un aumento en la expresión de NRIP1, PGC-1 α y genes mitocondriales nucleares (NEMGs). Estos hallazgos sugieren que, a pesar del incremento de NRIP1, los retinoides podrían ser capaces de activar la biogénesis mitocondrial superando el efecto represor de NRIP1 a través de la activación de PGC-1 α . No obstante, se requieren estudios específicos en modelos trisómicos para confirmar si esta estrategia es eficaz en el contexto específico del SD en el que existe una sobredosificación génica de *NRIP1*. (37)

Estos hallazgos posicionan a NRIP1 como un regulador clave en la alteración mitocondrial del SD, en concreto, sobre la inhibición de la biogénesis mitocondrial, y señalan que las estrategias dirigidas a inhibir su expresión o a promover de forma independiente a PGC-1 α podrían restaurar las alteraciones bioenergéticas y funcionales presentes en las mitocondrias de células con SD. No obstante, el número de estudios centrados específicamente NRIP1 como diana terapéutica en el SD es aún limitado en comparación con otros genes del cromosoma 21 implicados en la disfunción mitocondrial.

5.4. Intervenciones terapéuticas

La discapacidad intelectual y los déficits cognitivos y conductuales presentes en individuos con SD tienen su origen en alteraciones del proceso de neurogénesis durante el desarrollo fetal. (20) En este contexto, el desarrollo de terapias prenatales dirigidas a corregir dichas alteraciones son una potencial vía terapéutica para revertir los daños neurológicos en la etapa postnatal.

Se han llevado a cabo ensayos clínicos farmacológicos y quirúrgicos en fetos con otras malformaciones y enfermedades congénitas diferentes al SD que han mostrado resultados favorables. Sin embargo, no se han llevado a cabo ensayos clínicos prenatales en gestantes de fetos con SD hasta la fecha. (21)

Diversos estudios experimentales, utilizando modelos celulares derivados de iPSCs y CPNs con trisomía del cromosoma 21, han demostrado un aumento en la proliferación,

bioenergética y función celular tras el tratamiento con agentes terapéuticos dirigidos a los factores de transcripción codificados en el cromosoma 21 o a las vías en las que estos intervienen. (23) (24) (32) Estos resultados apoyan la hipótesis de que la restauración de la homeostasis mitocondrial durante el desarrollo temprano podría prevenir el daño neuronal. Asimismo, algunos estudios *in vivo* en modelos murinos en los que se han empleado agentes terapéuticos dirigidos a revertir estas alteraciones han demostrado mejorar la capacidad cognitiva. Por ello, llevar a cabo intervenciones durante la etapa prenatal podría prevenir el desarrollo de manifestaciones graves de inicio temprano. (21) El desarrollo de terapias génicas prenatales plantea desafíos a nivel ético y de seguridad, debiendo tenerse en cuenta factores de riesgo potenciales como la toxicidad del vector, la alteración de la línea germinal, la oncogénesis y los riesgos para el feto y para la madre. (21)

Los beneficios observados en estudios experimentales con dianas terapéuticas específicas son prometedores, haciendo que la terapia fetal se plantee como una posible alternativa para aquellas gestantes que decidan continuar con su embarazo. Por ello, será necesario seguir investigando estrategias que puedan ser aplicadas con seguridad durante la etapa prenatal.

Los ensayos clínicos realizados en diferentes etapas postnatales en pacientes con SD han demostrado una limitada eficacia de las terapias administradas. Algunas estrategias como la suplementación con EGCG han mostrado una mejora en los parámetros bioquímicos, que no se han traducido en resultados funcionales significativos. Esto sugiere que el momento en el que se inician los tratamientos es crucial para obtener mejoras a nivel neuronal que se traduzcan en mejoras funcionales en los individuos, señalando la importancia de desarrollar futuras estrategias enfocadas en etapas más tempranas del desarrollo. (22) (38)

En modelos celulares y murinos se han evaluado múltiples dianas terapéuticas, siendo la activación de la biogénesis mitocondrial, mediante la vía PGC-1 α , una de las más prometedoras. La metformina, un fármaco aprobado para el tratamiento de la diabetes mellitus, activa la vía PGC-1 α y ha demostrado ser una diana terapéutica eficaz en la restauración de la biogénesis, la dinámica y la bioenergética mitocondrial alteradas en el SD, normalizando los niveles de los factores de transcripción NRF-1 y TFAM,

encargados de la regulación del proceso de síntesis de proteínas mitocondriales y en consecuencia, de la producción de ATP por OXPHOS. Asimismo, se ha observado una normalización de la morfología y estructura mitocondrial, con unas crestas normales y sin edema, formando parte de una red fusionada. El fármaco 7,8-dihidroxi-flavona, un flavonoide natural y agonista parcial del receptor TrkB activa la vía PGC-1 α , mimetizando la actividad del factor neurotrófico derivado del cerebro, promueve la vía Ras-ERK-CREB-PGC-1 α , produciendo una mejora en la síntesis de ATP mitocondrial. (25) (37)

Otras estrategias se han dirigido a procesos patológicos específicos con el objetivo de restaurar la disfunción mitocondrial en el SD. El empleo de Mdivi-1, un inhibidor específico de la fisión neuronal produce una normalización de la morfología y el funcionamiento de OXPHOS, acompañado de un aumento de la proliferación y diferenciación neuronal en el hipocampo de ratones Ts65Dn. De forma similar, la inhibición de PAK1 por el inhibidor FRAX 486 es capaz de restaurar el patrón de distribución mitocondrial y el crecimiento neuronal en interneuronas GABAérgicas derivadas de iPSCs con SD. Por su parte, la inhibición de NOX4 con apocinina, reduce la producción de ROS extramitocondrial y mejora el acoplamiento mitocondrial, lo que da lugar a un aumento de la síntesis de ATP. A pesar de los resultados prometedores que han demostrado estas moléculas en modelos experimentales preclínicos, no están aprobadas para su uso clínico en pacientes con SD. (23) (24) (32)

La inhibición del complejo IV mitocondrial por H₂S es un proceso reversible, por lo que las enzimas CBS y 3-MST, cuya sobreexpresión en el SD es responsable del exceso de H₂S en el SD, se han considerado como dianas terapéuticas. La inhibición específica de cada una de estas enzimas en modelos celulares restablece los niveles normales de H₂S, que a su vez, producen una mejora de parámetros bioenergéticos y proliferativos en las células tratadas. No obstante, se plantea la hipótesis de que, en seres humanos la inhibición farmacológica aislada de una sola enzima podría no ser suficiente para lograr una recuperación completa de los niveles de H₂S, porque ambas enzimas contribuyen a la producción de estas moléculas. Por lo tanto, serán necesarios estudios adicionales, especialmente in vivo, para determinar si la inhibición de estas enzimas puede revertir los defectos funcionales y bioenergéticos asociados al SD. (30) (31)

Actualmente, no se han desarrollado ensayos específicos dirigidos exclusivamente a la modulación de los factores de transcripción *RCANI* o *NRIP1* en el síndrome de Down. Sin embargo, los ensayos preclínicos orientados en contrarrestar los efectos de su sobreexpresión han demostrado resultados prometedores en la regulación de la biogénesis, dinámica y función mitocondrial, logrando revertir alteraciones bioenergéticas y de la neurogénesis en modelos celulares. Los resultados observados en los estudios experimentales deberán ser validados mediante ensayos clínicos en humanos para poder ser considerados estrategias terapéuticas aplicables. (20)

A pesar de los importantes avances en estas líneas de investigación, gran parte de los estudios son llevados a cabo en modelos celulares que no replican por completo la alteración genómica presente en humanos con SD. Por este motivo, es necesario desarrollar modelos animales que sean más representativos y desarrollar ensayos clínicos controlados en poblaciones humanas con SD, idealmente en etapas tempranas del desarrollo.

6. CONCLUSIONES

1. La sobreexpresión del gen *RCANI* altera la homeostasis mitocondrial mediante la inhibición de la actividad de la calcineurina, promoviendo un estado de fisión mitocondrial, y mediante la inhibición de la biogénesis mitocondrial por el bloqueo de la vía NFAT-PGC-1, dando lugar a una red mitocondrial fragmentada, con mitocondrias de morfología y estructura anormal que producen insuficientes niveles de ATP. El gen *NR1P1* inhibe la transcripción de PGC-1, produciendo en el síndrome de Down una disminución de la masa mitocondrial con una baja expresión de NEMGs y una deficiente producción de ATP. La deficiente producción de ATP mitocondrial se traduce en la alteración de la neurogénesis y sinaptogénesis presentes durante el desarrollo embrionario.
2. Actualmente no se ha realizado ninguna intervención terapéutica en humanos durante el periodo prenatal. Hasta el momento, los ensayos clínicos han sido llevados a cabo en individuos con síndrome de Down durante el periodo postnatal, mostrando discretas mejoras funcionales en los sujetos tratados. La mayoría de los estudios son preclínicos, empleando como muestra modelos celulares derivados de humanos o en ratones, han demostrado resultados favorables en la normalización de la función y estructura mitocondrial, y en la proliferación y crecimiento neuronal. Será necesario llevar a cabo ensayos clínicos durante la etapa fetal para desarrollar terapias seguras que puedan dar lugar a beneficios funcionales en la vida postnatal al feto con síndrome de Down.
3. La modulación de *RCANI* y *NR1P1* se postula como un enfoque terapéutico prometedor. La inhibición de su actividad podría restaurar la biogénesis y la bioenergética mitocondrial, pudiendo dar lugar a una mejora del desarrollo neurológico. No se han llevado a cabo estudios que regulen específicamente la actividad de estos dos genes, pero los estudios que regulan los efectos de su expresión han demostrado resultados prometedores, del mismo modo que la modulación de la expresión de otros genes localizados en el cromosoma 21 y para los que se han desarrollado estudios específicos.

7. BIBLIOGRAFÍA

1. Antonarakis SE, Skotko BG, Raffi MS, Strydom A, Pape SE, Bianchi DW, et al. Down syndrome. *Nat Rev Dis Primers*. 2020;6(1):9. DOI: 10.1038/s41572-019-0143-7.
2. Huete-García A, Otaola-Barranquero M. Demographic assessment of down syndrome: A systematic review. *Int J Environ Res Public Health*. 2021;18(1):352. DOI: 10.3390/ijerph18010352.
3. Uppal H, Chandran S, Potluri R. Risk factors for mortality in Down syndrome. *J Intellect Disabil Res*. 2015;59(9):873-81. DOI: 10.1111/jir.12196.
4. Blanco-Montaña A, Ramos-Arenas M, Yereña-Echevarría BA, Miranda-Santizo LD, Ríos-Celis AL, Dorantes-Gómez AT, et al. Risk factors in the origin of Down syndrome. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc*. 2023;61(5):638-644. DOI: 10.5281/zenodo.8316459.
5. Gandy KC, Castillo HA, Ouellette L, Castillo J, Lupo PJ, Jacola LM, et al. The relationship between chronic health conditions and cognitive deficits in children, adolescents, and young adults with down syndrome: A systematic review. *PLoS One*. 2020;15(9):e0239040. DOI: 10.1371/journal.pone.0239040.
6. O'Leary L, Hughes-McCormack L, Dunn K, Cooper SA. Early death and causes of death of people with Down syndrome: A systematic review. *J Appl Res Intellect Disabil*. 2018;31(5):687-708. DOI: 10.1111/jar.12446.
7. Valenti D, Vacca RA. Brain Mitochondrial Bioenergetics in Genetic Neurodevelopmental Disorders: Focus on Down, Rett and Fragile X Syndromes. *Int J Mol Sci*. 2023;24(15):12488. DOI: 10.3390/ijms241512488.
8. Lautarescu BA, Holland AJ, Zaman SH. The Early Presentation of Dementia in People with Down Syndrome: a Systematic Review of Longitudinal Studies. *Neuropsychol Rev*. 2017;27(1):31-45. DOI: 10.1007/s11065-017-9341-9.
9. Matus Ortega G, Pardo JP, Guerra Sánchez G, Carrillo KB, Ortega MM, González J, et al. Un vistazo a la morfología y dinámica de la mitocondria y a los sitios de producción de las especies reactivas de oxígeno. *Rev Educ Bioquímica*. 2021;40(3):111-127.
10. Bayona-Bafaluy MP, Garrido-Pérez N, Meade P, Iglesias E, Jiménez-Salvador I, Montoya J, et al. Down syndrome is an oxidative phosphorylation disorder. *Redox Biol*. 2021; 41:101871. DOI: 10.1016/j.redox.2021.101871.
11. Rodríguez-Violante M, Cervantes-Arriaga A, Vargas-Cañas S, Corona T. Papel de la función mitocondrial en las enfermedades neurodegenerativas. *Arch Neurocienc*. 2010;15(1):39-46.

12. Gao J, Wang L, Liu J, Xie F, Su B, Wang X. Abnormalities of mitochondrial dynamics in neurodegenerative diseases. *Antioxidants (Basel)*. 2017;6(2):25. DOI: 10.3390/antiox6020025.
13. Scarpulla RC. Nucleus-encoded regulators of mitochondrial function: Integration of respiratory chain expression, nutrient sensing and metabolic stress. *Biochim Biophys Acta*. 2012;1819(9-10):1088-97. DOI: 10.1016/j.bbagr.2011.10.011.
14. Scarpulla RC. Metabolic control of mitochondrial biogenesis through the PGC-1 family regulatory network. *Biochim Biophys Acta*. 2011;1813(7):1269-78. DOI: 10.1016/j.bbamcr.2010.09.019.
15. Austin S, St-Pierre J. PGC1 α and mitochondrial metabolism - emerging concepts and relevance in ageing and neurodegenerative disorders. *J Cell Sci*. 2012;125(Pt 21):4963-71. DOI: 10.1242/jcs.113662.
16. Tan KL, Lee HC, Cheah PS, Ling KH. Mitochondrial Dysfunction in Down Syndrome: From Pathology to Therapy. *Neuroscience*. 2023;511:1-12. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2022.12.003.
17. Izzo A, Mollo N, Nitti M, Paladino S, Cali G, Genesio R, et al. Mitochondrial dysfunction in down syndrome: Molecular mechanisms and therapeutic targets. *Mol Med*. 2018;24(1):2. DOI: 10.1186/s10020-018-0004-y.
18. Bartesaghi R, Vicari S, Mobley WC. Prenatal and Postnatal Pharmacotherapy in Down Syndrome: The Search to Prevent or Ameliorate Neurodevelopmental and Neurodegenerative Disorders. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 2022;62:211-233. DOI: 10.1146/annurev-pharmtox-041521-103641.
19. Stagni F, Giacomini A, Guidi S, Ciani E, Bartesaghi R. Timing of therapies for down syndrome: The sooner, the better. *Front Behav Neurosci*. 2015;9:265. DOI: 10.3389/fnbeh.2015.00265.
20. Stagni F, Bartesaghi R. The Challenging Pathway of Treatment for Neurogenesis Impairment in Down Syndrome: Achievements and Perspectives. *Front Cell Neurosci*. 2022;16:903729. DOI: 10.3389/fncel.2022.903729.
21. Hasina Z, Wang CC. Prenatal and Postnatal Therapies for Down's Syndrome and Associated Developmental Anomalies and Degenerative Deficits: A Systematic Review of Guidelines and Trials. *Front Med (Lausanne)*. 2022;9:910424. DOI: 10.3389/fmed.2022.910424.
22. Pecze L, Randi EB, Szabo C. Meta-analysis of metabolites involved in bioenergetic pathways reveals a pseudohypoxic state in Down syndrome. *Mol Med*. 2020;26(1):102. DOI: 10.1186/s10020-020-00225-8.
23. Prutton KM, Marentette JO, Maclean KN, Roede JR. Characterization of mitochondrial and metabolic alterations induced by trisomy 21 during neural differentiation. *Free Radic Biol Med*. 2023;196:11-21. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2023.01.009.

24. Xu L, Huo HQ, Lu KQ, Tang XY, Hong Y, Han X, et al. Abnormal mitochondria in Down syndrome iPSC-derived GABAergic interneurons and organoids. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis.* 2022;1868(6):166388. DOI: 10.1016/j.bbadis.2022.166388.
25. Valenti D, Stagni F, Emili M, Guidi S, Bartesaghi R, Vacca RA. Impaired brain mitochondrial bioenergetics in the ts65dn mouse model of down syndrome is restored by neonatal treatment with the polyphenol 7,8-dihydroxyflavone. *Antioxidants (Basel).* 2021;11(1):62. DOI: 10.3390/antiox11010062.
26. Alldred MJ, Lee SH, Stutzmann GE, Ginsberg SD. Oxidative Phosphorylation Is Dysregulated Within the Basocortical Circuit in a 6-month old Mouse Model of Down Syndrome and Alzheimer's Disease. *Front Aging Neurosci.* 2021;13:707950. DOI: 10.3389/fnagi.2021.707950.
27. Sun X, Kato H, Sato H, Han X, Hirofujii Y, Kato TA, et al. Dopamine-related oxidative stress and mitochondrial dysfunction in dopaminergic neurons differentiated from deciduous teeth-derived stem cells of children with Down syndrome. *FASEB Bioadv.* 2022;4(7):454-467. DOI: 10.1096/fba.2021-00086.
28. Wong H, Levenga J, Cain P, Rothermel B, Klann E, Hoeffler C. RCAN1 overexpression promotes age-dependent mitochondrial dysregulation related to neurodegeneration in Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol.* 2015;130(6):829-43. DOI: 10.1007/s00401-015-1499-8.
29. Parra V, Altamirano F, Hernández-Fuentes CP, Tong D, Kyrychenko V, Rotter D, et al. Down syndrome critical region 1 gene, rcan1, helps maintain a more fused mitochondrial network. *Circ Res.* 2018;122(6):e20-e33. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.117.311522.
30. Panagaki T, Randi EB, Augsburger F, Szabo C. Overproduction of H₂S, generated by CBS, inhibits mitochondrial Complex IV and suppresses oxidative phosphorylation in down syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2019;116(38):18769-18771. DOI: 10.1073/pnas.1911895116.
31. Panagaki T, Randi EB, Szabo C. Role of 3-mercaptopyruvate sulfurtransferase in the regulation of proliferation and cellular bioenergetics in human down syndrome fibroblasts. *Biomolecules.* 2020;10(4):653. DOI: 10.3390/biom10040653.
32. Valenti D, Rossi L, Marzulli D, Bellomo F, de Rasmio D, Signorile A, et al. Inhibition of Drp1-mediated mitochondrial fission improves mitochondrial dynamics and bioenergetics stimulating neurogenesis in hippocampal progenitor cells from a Down syndrome mouse model. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis.* 2017;1863(12):3117-3127. DOI: 10.1016/j.bbadis.2017.09.014.
33. D'Acunzo P, Argyrousi EK, Ungania JM, Kim Y, DeRosa S, Pawlik M, et al. Mitovesicles secreted into the extracellular space of brains with mitochondrial dysfunction impair synaptic plasticity. *Mol Neurodegener.* 2024;19(1):34. DOI: 10.1186/s13024-024-00721-z.

34. Patel A, Yamashita N, Ascaño M, Bodmer D, Boehm E, Bodkin-Clarke C, et al. RCAN1 links impaired neurotrophin trafficking to aberrant development of the sympathetic nervous system in Down syndrome. *Nat Commun.* 2015;6:10119. DOI: 10.1038/ncomms10119.
35. Wong H, Buck JM, Borski C, Pafford JT, Keller BN, Milstead RA, et al. RCAN1 knockout and overexpression recapitulate an ensemble of rest-activity and circadian disruptions characteristic of Down syndrome, Alzheimer's disease, and normative aging. *J Neurodev Disord.* 2022;14(1):33. DOI: 10.1186/s11689-022-09444-y.
36. Izzo A, Nitti M, Mollo N, Paladino S, Procaccini C, Faicchia D, et al. Metformin restores the mitochondrial network and reverses mitochondrial dysfunction in Down syndrome cells. *Hum Mol Genet.* 2017;26(6):1056-1069. DOI: 10.1093/hmg/ddx016.
37. Mu Q, Yu W, Zheng S, Shi H, Li M, Sun J, et al. RIP140/PGC-1 α axis involved in vitamin A-induced neural differentiation by increasing mitochondrial function. *Artif Cells Nanomed Biotechnol.* 2018;46(sup1):806-816. DOI: 10.1080/21691401.2018.1436552.
38. Scala I, Valenti D, D'aniello VS, Marino M, Riccio MP, Bravaccio C, et al. Epigallocatechin-3-gallate plus omega-3 restores the mitochondrial complex i and f₀f₁-atp synthase activities in pbmcs of young children with down syndrome: A pilot study of safety and efficacy. *Antioxidants (Basel).* 2021;10(3):469. DOI: 10.3390/antiox10030469.
39. Robert K, Chassé JF, Santiard-Baron D, Vayssettes C, Chabli A, Aupetit J, et al. Altered gene expression in liver from a murine model of hyperhomocysteinemia. *J Biol Chem.* 2003;278(34):31504-11. DOI: 10.1074/jbc.M213036200.
40. Mollo N, Scognamiglio R, Conti A, Paladino S, Nitsch L, Izzo A. Genetics and Molecular Basis of Congenital Heart Defects in Down Syndrome: Role of Extracellular Matrix Regulation. *Int J Mol Sci.* 2023;24(3):2918. DOI: 10.3390/ijms24032918