



Universidad
Zaragoza

Trabajo Fin de Grado

**NUEVAS APROXIMACIONES TERAPÉUTICAS EN
PATOLOGÍA MITOCONDRIAL**

***NEW THERAPEUTIC APPROACHES IN
MITOCHONDRIAL PATOLOGY***

Autor:

Miriam Fernández Pérez

Directora:

Sonia Emperador Ortiz

Facultad de Medicina

Departamento de Histología y Anatomía Humana

Junio 2025

ABREVIATURAS

- **TRM:** Terapia de reemplazo mitocondrial
- **MAT:** Terapia de aumento mitocondrial mediante células madre
- **ME:** Membrana externa
- **MI:** Membrana Interna
- **EIM:** Espacio intermembrana
- **ADNn:** ADN nuclear
- **ADNmt:** ADN mitocondrial
- **ARNt:** ARN transferasa
- **NADH:** Nicotinamida adenina dinucleótido hidruro
- **ATP:** Adenosina-Trifosfato
- **CoQ:** Coenzima Q / ubiquinona
- **TCA:** ácido tricloroacético
- **KSS:** Síndrome Kearns Sayre
- **ARNr:** ARN ribosómico
- **BHA:** Hidroxianisol butilado
- **BHT:** hidroxitolueno butilado
- **MAPK:** proteína quinasa activada por mitógenos
- **MTA:** antioxidantes dirigidos a mitocondrias
- **TPP:** Trifenilfosfonio
- **MitoQ:** Mitoquinona
- **SS:** Péptidos Szeto-Schiller
- **TGV:** Transferencia de vesículas germinales
- **MST:** Transferencia del huso meiótico
- **PNT:** Transferencia Pronuclear
- **PB1T:** Primera transferencia de cuerpo polar
- **PB2T:** Segunda transferencia de cuerpo polar
- **TNT:** Nanotubos de tunelización
- **MNGIE:** Encefalopatía neurogastrointestinal mitocondrial
- **TP:** Timida fosforilasa
- **PS:** Síndrome de Pearson
- **iPSC:** Células madre pluripotentes inducidas
- **AMPK:** proteína quinasa dependiente de AMP
- **UPRmt:** respuesta de proteínas desplegadas mitocondrial
- **DSB:** roturas de doble cadena

- **RNAi**: ARN de interferencia
- **ASREs**: Nucleasas específicas de ARN
- **ASOs**: Oligonucleótidos antisentido
- **AAV**: Vectores virales derivados de adenoasociados

ÍNDICE

1. RESUMEN	1
2. INTRODUCCIÓN	2
2.1 LA MITOCONDRIA	2
2.1.1 ESTRUCTURA DEL ORGÁNULO MITOCONDRIAL	2
2.1.2 MATERIAL GENÉTICO Y GENOMA DE LA MITOCONDRIA	3
2.1.3 FUNCIÓN DE LAS MITOCONDRIAS	4
2.2. ENFERMEDADES MITOCONDRIALES: ORIGEN Y TRATAMIENTO SINTOMÁTICO	7
3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	11
4. MATERIAL Y MÉTODOS	11
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	13
5.1 TERAPIA ANTIOXIDANTE	13
5.2 TERAPIA DE REEMPLAZO CELULAR	17
5.3 DESARROLLO DE NUEVOS FÁRMACOS	20
5.3.1 FÁRMACOS DIRIGIDOS A MODULAR LA FUNCIÓN MITOCONDRIAL	20
5.3.2 ESTRATEGIAS TERAPÉUTICAS EMERGENTES BASADAS EN MITOCONDRIAS DE DISEÑO	22
5.4 TERAPIA DE REMPLAZO MITOCONDRIAL	24
5.4.1 TRANSFERENCIA DE VESÍCULAS GERMINALES	26
5.4.2 TRANSFERENCIA DEL HUSO MEIÓTICO	27
5.4.3 TRANSFERENCIA PRONUCLEAR	28
5.4.4 TRANSFERENCIA DEL CUERPO POLAR:	29
5.4.5 COMPARACIÓN DE TÉCNICAS, SEGURIDAD Y EFICACIA	30
5.4.6 ASPECTOS BIOÉTICOS DE TRM Y REGULACIÓN EN ESPAÑA	33
6. CONCLUSIONES	34
7. BIBLIOGRAFIA	36

1. RESUMEN

Las enfermedades mitocondriales constituyen un grupo heterogéneo de patologías de origen genético, caracterizadas por una disfunción en la producción de energía celular, que afecta especialmente a órganos con alta demanda energética como el sistema nervioso, el corazón y el músculo esquelético. Actualmente, no existe un tratamiento curativo para estas enfermedades, y las opciones terapéuticas disponibles se centran en el abordaje sintomático y de soporte.

Este trabajo de fin de grado realiza una revisión exhaustiva de las principales terapias dirigidas a las enfermedades mitocondriales, incluyendo terapias antioxidantes, terapia de reemplazo mitocondrial (TRM), terapia de aumento mitocondrial mediante células madre (MAT), desarrollo de nuevos fármacos moduladores de rutas mitocondriales compensatorias y las estrategias emergentes de edición génica mitocondrial. Se analizan los mecanismos de acción, la eficacia, la seguridad, las limitaciones técnicas, así como los aspectos bioéticos y regulatorios que rodean estas terapias.

Los resultados obtenidos confirman que, si bien existen avances significativos en el diseño de terapias innovadoras, la mayoría de ellas aún se encuentran en fases preclínicas o ensayos clínicos iniciales, requiriéndose un abordaje más exhaustivo de la investigación básica y traslacional. Las terapias combinadas que integren estrategias farmacológicas, génicas y celulares representan el camino más prometedor para ofrecer alternativas terapéuticas eficaces y personalizadas a los pacientes con enfermedades mitocondriales.

Palabras claves: ADN mitocondrial (ADNmt), enfermedades mitocondriales, terapias antioxidantes, terapia de reemplazo mitocondrial (TRM), terapia de aumento mitocondrial mediante células madre (MAT)

ABSTRACT

Mitochondrial diseases are a heterogeneous group of genetic disorders characterized by dysfunction in cellular energy production, particularly affecting organs with high energy demands such as the nervous system, heart, and skeletal muscle. Currently, no curative treatment exists for these conditions, and available therapeutic approaches are primarily focused on symptomatic and supportive care.

This final degree project presents a comprehensive review of the main therapies directed at mitochondrial diseases, including antioxidant therapies, mitochondrial replacement therapy (MRT), mitochondrial augmentation therapy (MAT) using stem cells, the development of new

drugs targeting compensatory mitochondrial pathways, and emerging strategies of mitochondrial gene editing. The mechanisms of action, efficacy, safety, technical limitations, as well as the ethical and regulatory aspects surrounding these therapies, are critically analyzed.

The results confirm that, despite significant advances in the design of innovative therapies, most of them remain in preclinical or early clinical trial phases, highlighting the need for further research in basic and translational science. Combined approaches that integrate pharmacological, gene, and cell-based strategies, along with the development of safe and selective delivery systems, appear to be the most promising path to provide effective and personalized therapeutic alternatives for patients with mitochondrial diseases.

Keywords: Mitochondrial DNA (ADNmt), mitochondrial diseases, antioxidant therapies, mitochondrial replacement therapy (TRM), mitochondrial augmentation therapy using stem cells (MAT).

2. INTRODUCCIÓN

2.1 LA MITOCONDRIA

2.1.1 ESTRUCTURA DEL ORGÁNULO MITOCONDRIAL

Las mitocondrias son orgánulos citoplasmáticos del tamaño de las bacterias que se encuentran en todas las células eucariotas aerobias y por lo tanto en la gran mayoría de células humanas, a excepción de los eritrocitos; por lo que un mal funcionamiento de las mismas tendría consecuencias fatales en diferentes órganos y sistemas del organismo. Pueden cambiar de aspecto, fusionarse, dividirse, etc. según el estado funcional de la célula (1).

Estructuralmente, las mitocondrias están formadas por una bicapa lipídica que crea un sistema de doble membrana, compuesto por una membrana externa (ME) y una membrana interna (MI). Estas membranas dividen el citosol en dos compartimentos: el espacio intermembrana (EIM) y la matriz mitocondrial. La MI presenta pliegues denominados crestas, mientras que el EIM se sitúa entre ambas membranas. Las membranas mitocondriales se distinguen por su composición lipídica, dando lugar a una bicapa lipídica rica en fosfatidilcolina, fosfatidilinositol y cardiolipinas, lo que les confiere una simetría comparable a la de las membranas bacterianas. La ME, que contiene un 40% de lípidos y un 60% de proteínas, incluye porinas y canales iónicos dependientes de voltaje, que permiten el transporte de moléculas e iones. Tanto las membranas plasmáticas como las mitocondriales comparten una distribución similar en cuanto a la proporción de lípidos. Por ello, cualquier cambio que afecte a la bicapa lipídica puede tener

consecuencias graves para la estructura, función y supervivencia de la mitocondria, pudiendo incluso influir en la célula durante el proceso de apoptosis (1,2).

2.1.2 MATERIAL GENÉTICO Y GENOMA DE LA MITOCONDRIA

Las mitocondrias dependen de dos tipos de ADN; uno que es el ADN mitocondrial (ADNmt) y otro que es el ADN nuclear (ADNn). Centrándonos en el primero, el ADNmt humano es una molécula circular cerrada de doble hebra super enrollada que está constituido por 16.569 pares de bases que se replica de forma independiente del ADN nuclear. Esta codifica un total de 37 genes (Figura 1); 2 ARN ribosómicos y 22 de ARN de transferencia (ARNt), que participan en la síntesis proteica intramitocondrial; y 13 polipéptidos que forman parte de cuatro de los cinco complejos multienzimáticos del sistema OXPHOS. Siete de estos polipéptidos (ND 1, 2, 3, 4, 4L, 5, 6) son componentes del complejo I o NADH: ubiquinona óxido-reductasa; uno (cyt b) pertenece al complejo III o ubiquinol: citocromo c óxido-reductasa; tres (CO I, II, III) al complejo IV o citocromo c oxidasa; y dos a la ATP sintasa. El resto de los polipéptidos, así como todo el complejo II, están codificados en el ADN nuclear. La biogénesis del sistema OXPHOS constituye un caso único en la célula, ya que para su síntesis se requiere la expresión coordinada de los dos sistemas genéticos. (3).

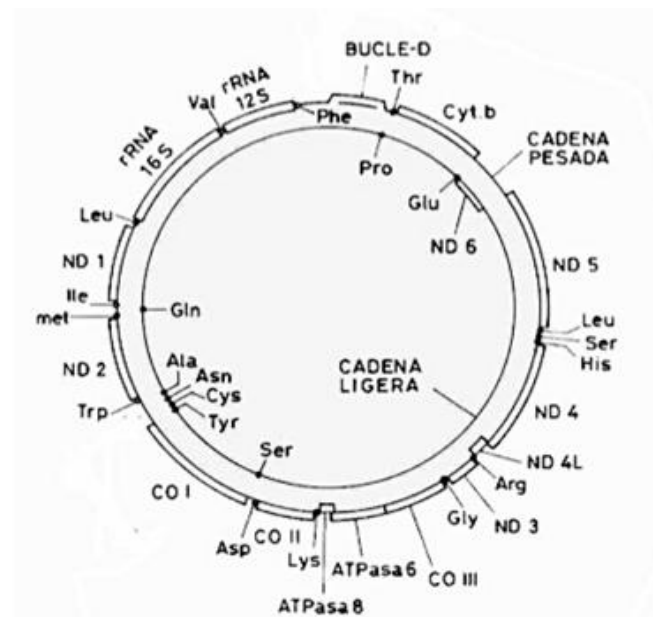


Figura 1: Estructura del ADN mitocondrial (4).

El sistema genético mitocondrial tiene una serie de características que lo hacen diferencial. Por un lado, está el modelo de herencia; en el que el ADNmt se transmite exclusivamente por línea materna. Una madre pasa su genoma mitocondrial a todos sus hijos, pero solo las hijas pueden

transmitirlo a la siguiente generación. Esto significa que el ADNmt sigue un patrón de herencia vertical no mendeliana. Este fenómeno se debe a la gran cantidad de copias de ADNmt presentes en los óvulos y a que las mitocondrias del espermatozoide son eliminadas activamente durante las primeras etapas de la división celular, quedando únicamente las moléculas de ADNmt maternas. Luego tenemos la poliplasmia, que hace referencia a la presencia de gran cantidad de copias de ADNmt por célula. Estas pueden ser del mismo tipo, lo que se conoce como homoplasmia, ya que inicialmente, todas las células de un individuo sano poseen el mismo tipo de ADNmt, lo que se conoce como homoplasmia. Sin embargo, cuando ocurren mutaciones, pueden coexistir dos poblaciones de ADNmt una normal y otra mutada, lo que se denomina heteroplasmia. Finalmente tenemos la segregación mitótica, ya que durante la división celular, las moléculas de ADNmt se distribuyen de manera aleatoria entre las células hijas. En casos de heteroplasmia, esto puede dar lugar a tres posibles genotipos: homoplásmico normal, homoplásmico mutante o heteroplásmico con proporciones variables de ADNmt mutado. Por lo tanto, el fenotipo de una célula heteroplásmica dependerá de la proporción y el tipo de ADNmt mutado que contenga. Dado que los tejidos y órganos se desarrollan a partir de grupos de estas células, una característica común de las enfermedades mitocondriales es que suelen afectar a múltiples sistemas del organismo (4).

2.1.3 FUNCIÓN DE LAS MITOCONDRIAS

Hoy en día se conoce un gran número de funciones de las mitocondrias, y con el paso del tiempo este número ha crecido exponencialmente. En 1948, Eugene Kennedy y Albert Lehninger descubren una de las funciones más importantes que se realizan en las mitocondrias, la fosforilación oxidativa, imprescindible para que las células eucariotas puedan realizar su actividad celular a partir de las moléculas de Adenosina-Trifosfato (ATP). El 90% de este ATP necesario proviene de las mitocondrias, el 10% restante procede de las glicólisis anaerobios (1).

Este proceso de fosforilación oxidativa se realiza mediante un sistema presente en la membrana interna de las mitocondrias conocido como el sistema OXPHOS, a través del cual, como hemos dicho con anterioridad, se obtienen moléculas de ATP a partir de glucosa, ácidos grasos y aminoácidos. Este sistema está formado por cinco complejos multienzimáticos en los que participan más de 90 polipéptidos, los cuales están codificados por los dos sistemas genéticos de la célula; es decir el ADNn y el ADNmt. Como se indicó anteriormente, 13 están codificados por el ADNmt y el resto lo están por el ADNn lo que hace que sean únicos en la célula eucariota, ya que tanto el sistema OXPHOS como el ribosoma mitocondrial dependen de la expresión coordinada de ambas genomas (1).

Para que se pueda realizar el proceso de la fosforilación oxidativa, se requiere del transporte de electrones al oxígeno molecular mediante la cadena respiratoria mitocondrial, también conocida como cadena de transporte de electrones, que consta de cuatro complejos multienzimáticos (complejo I al IV) y dos transportadores de electrones móviles. Complejo I (NADH: Ubiquinona oxidorreductasa), complejo II (Succinato: ubiquinona oxidorreductasa), Complejo III (ubiquinol: cyt c reductasa) y complejo IV (cyt c oxidasa). Por otro lado, tenemos los dos transportadores de electrones móviles; ubiquinona (también conocida como coenzima Q10, coenzima Q o CoQ) y citocromo c (3).

Todos los pasos oxidativos en la degradación de glúcidos, grasas y aminoácidos convergen en la etapa de la respiración celular en la que la energía de oxidación impulsa la síntesis de ATP. En el caso de la oxidación de la glucosa se diferencian dos fases, la glicólisis y la segunda es la respiración, la cual tiene lugar en la mitocondria y se divide en dos fases, el ciclo de Krebs y el transporte terminal de electrones (1). A partir del catabolismo que se produce en las células se obtiene NADH y FADH₂, los cuales serán oxidados por la cadena de transporte de electrones mitocondrial. El NADH transfiere electrones al complejo I, reduciendo la ubiquinona (CoQ) a ubiquinol, mientras que el complejo II utiliza FAD como cofactor, liberando electrones directamente hacia la CoQ para formar ubiquinol. Este ubiquinol es reoxidado por el complejo III, que transfiere los electrones al Citocromo C, el cual los cede al complejo IV. Este último reduce el oxígeno molecular para formar agua como producto final. Los complejos I, III y IV aprovechan la energía del flujo de electrones para bombear protones (H⁺) desde la matriz mitocondrial hacia el EIM (5). Esto genera un gradiente electroquímico, conocido como fuerza protón motriz, que se utiliza para el metabolismo y transporte de aminoácidos, de lípidos, en la biosíntesis del grupo hemo, en la homeostasis del calcio, en la producción de especies reactivas de oxígeno, apoptosis; así como en generar calor y sintetizar ATP en la matriz mitocondrial, partiendo de ADP + Pi a través de la ATP sintasa (complejo V) (3). Debido a este gradiente electroquímico compartido por todos los complejos transportadores de protones, que son esenciales para la producción de energía celular, es crucial mantener el equilibrio en el transporte de protones entre los complejos para evitar que uno interrumpa el flujo de energía de los demás. Es decir, los componentes eléctricos de todos los complejos deben trabajar de forma coordinada. Esto se logra gracias a que todas estas proteínas están codificadas por una secuencia de ADN heredada exclusivamente de la madre en la mayoría de los animales (5). A continuación, se presenta un esquema básico del funcionamiento de este sistema (Figura 2).

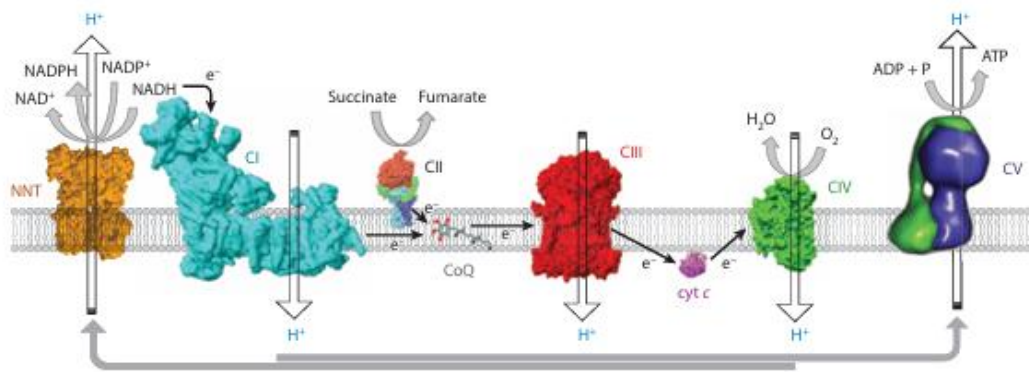


Figura 2: Funcionamiento del sistema OXPHOS (5).

Pero la utilidad de la mitocondria no solo queda limitada a la obtención de ATP, sino que también se encarga de la transducción de señales, de los procesos de supervivencia celular y en la comunicación y actividad ante infecciones como ocurre en los procesos inmunológicos. También las mitocondrias son la ubicación de importantes vías bioquímicas, incluido el ciclo del ácido tricarboxílico (TCA) y partes del ciclo de la urea. Son importantes reguladores de la apoptosis y la concentración de calcio citosólico, y son fundamentales para la biogénesis del grupo hierro-azufre.

Muchas de estas funciones, resumidas en la Figura 3, son posibles gracias a la interacción de la mitocondria con otros orgánulos y estructuras celulares; tales como membrana plasmática, el retículo endoplásmico, el núcleo, depósitos lipídicos, las endosomas y el aparato de Golgi, entre otros. Todo ello hace que la mitocondria mantenga y responda ante cambios en la homeostasis del organismo (6).

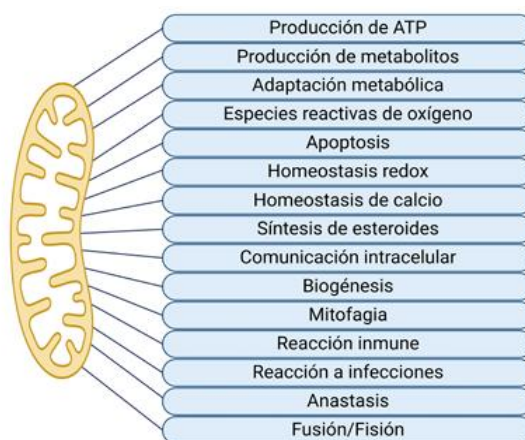


Figura 3: Funciones de las mitocondrias (6).

2.2. ENFERMEDADES MITOCONDRIALES: ORIGEN Y TRATAMIENTO SINTOMÁTICO

Las enfermedades mitocondriales se definen como el conjunto de enfermedades que presentan un déficit en la producción de ATP como consecuencia de mutaciones tanto en el ADNmt como en el ADNn, provocando alteraciones en las proteínas de los complejos del sistema OXPHOS (7). Se trata de enfermedades raras, que se definen como aquellas que afectan a un número pequeño de personas en comparación con la población general, teniendo una prevalencia inferior a 5 casos por cada 10.000 personas según la Comunidad Europea. Como ejemplo, el Síndrome de Pearson -también conocido como síndrome de médula-páncreas de Pearson- se estima en aproximadamente 1/1.000.000 y puede afectar tanto en hombres como en mujeres; y el Síndrome de Kearns Sayre (KSS) de cuya prevalencia se desconoce exactamente, pero informan que estaría en torno a 1,6/100.000 Como hemos nombrado con anterioridad, el ADNmt contiene 37 genes, de los cuales 13 codifican proteínas que conforman el sistema OXPHOS, así como 2 ARNr y 22 de ARNt (3). De este modo, dentro de las patologías originadas por fallos en el metabolismo mitocondrial, se encuentran aquellas provocadas específicamente por alteraciones en la cadena respiratoria y la fosforilación oxidativa, las cuales afectan a los componentes de los complejos multienzimáticos I, III, IV y/o V. Las primeras mutaciones en el ADNmt responsables de enfermedades humanas fueron identificadas en 1988, y desde entonces, tanto el número de mutaciones como la variedad de enfermedades asociadas han experimentado un aumento significativo. Hoy en día se conocen cerca de 150 mutaciones puntuales patológicas que afectan a 37 de los genes que codifican el ADNmt (4).

Cada célula del cuerpo humano contiene una importante cantidad de copias de ADNmt. Como se señaló anteriormente, estas copias suelen ser idénticas al momento del nacimiento, no obstante, en personas que sufren trastornos mitocondriales debido a mutaciones patogénicas en el ADNmt, puede haber una mezcla de ADNmt mutado y normal en cada célula. Investigaciones a nivel celular han demostrado que la cantidad de estas variantes patogénicas debe superar un umbral crítico para que la célula experimente alteraciones bioquímicas en el sistema OXPHOS, fenómeno conocido como el "Efecto Umbral". Además, la proporción de estas mutaciones puede variar entre individuos de una misma familia, así como entre distintos tejidos y órganos dentro de una misma persona. Esta variabilidad contribuye a explicar la diversidad de manifestaciones clínicas observadas en aquellos afectados por trastornos derivados de estas mutaciones en el ADNmt (7).

Como se ha mencionado en un apartado previo, las mitocondrias son elementos esenciales presentes en todas las células del cuerpo (a excepción de los eritrocitos). Por esta razón, las enfermedades relacionadas con ellas suelen tener un impacto multisistémico, ya que pueden afectar prácticamente a cualquier órgano del cuerpo, pero fundamentalmente a aquellos que tienen más dependencia del ATP mitocondrial como son el sistema nervioso, el músculo cardíaco y el músculo estriado. Todo esto da lugar a múltiples manifestaciones fenotípicas resumidas en la Tabla 1. En ciertas ocasiones, los síntomas pueden corresponder a síndromes específicos y bien caracterizados o pueden afectar a un tejido en particular como en el caso de la neuropatía óptica de Leber, con una afectación del nervio óptico o la sordera mitocondrial. Aunque no es lo más frecuente, ya que, en la mayoría de los casos, se presentan con síntomas superpuestos o, especialmente en niños, no están claramente definidos debido a que no se han desarrollado por completo. De forma que tendremos que sospechar de una enfermedad mitocondrial y realizar un estudio en más profundidad cuando el paciente presente múltiples síntomas que afectan a varios órganos y sistemas aparentemente no relacionados entre sí (3,4).

Tabla 1. Síntomas más frecuentes en enfermedades mitocondriales (4).

Sistema nervioso	<i>Encefalopatía, ataxia cerebelar, convulsiones, mioclonías, accidentes cerebro vasculares, retraso mental y psicomotor, demencia, migraña, ceguera cortical, depresión, epilepsia, neuropatía periférica</i>
Musculo	<i>Miopatía progresiva, intolerancia al ejercicio, debilidad, oftalmoplejía, ptosis palpebral, mioglobinuria</i>
Sangre	<i>Acidosis láctica, anemia sideroblástica, pancitopenia</i>
Visión	<i>Atrofia óptica, retinitis pigmentaria, cataratas, diplopía</i>
Oído	<i>Sordera</i>
Corazón	<i>Cardiomiopatía. Defectos en conducción cardíaca</i>
Sistema endocrino	<i>Baja estatura, diabetes mellitus, diabetes insípida, hipoparatiroidismo, hipotiroidismo</i>
Intestino	<i>Pseudo obstrucción intestinal, vómitos</i>
Páncreas	<i>Disfunción pancreática exocrina</i>
Hígado	<i>Fallo hepático</i>
Riñón	<i>Fallo renal, Síndrome de Fanconi</i>
Morfología muscular	<i>Fibras rojo-rasgadas en biopsias musculares, inclusiones paracrísticas en mitocondria</i>
Histoquímica	<i>Fibras COX negativas</i>
Bioquímica	<i>Disminución de actividad de complejos respiratorios y/o de enzimas respiratorias en biopsias musculares</i>
Laboratorio	<i>Acidosis láctica en sangre, acidosis láctica en líquido cefalorraquídeo, hipoglucemia</i>

Hoy en día las enfermedades mitocondriales no tienen cura y el tratamiento de las mismas está enfocado a paliar las consecuencias que provoca esta disfunción mitocondrial. No existen soluciones definitivas, a excepciones de casos aislados; ya que en algunas investigaciones se han podido observar mejoras parciales y en formas lentamente progresivas. Esta dificultad para encontrar tratamientos curativos se debe a la disparidad de los pacientes con enfermedades mitocondriales tanto en la afectación molecular, la edad y la afectación clínica. Por todo ello la

gran mayoría de tratamientos dirigidos a estos pacientes son medidas de soporte donde es imprescindible tratarlos mediante un equipo multidisciplinar y trabajar con numerosos especialistas de manera coordinada (8).

Existen una serie de terapias farmacológicas específicas, en las que se han visto una respuesta parcial, sobre todo en formas de presentación precoz y multisistémica sin evitar una progresión final. Podemos clasificar estos tratamientos de acuerdo con la diana terapéutica. Por un lado, tenemos los que actúan sobre la cadena respiratoria para mejorar la obtención de ATP, es decir sobre el déficit energético, así como los que actúan sobre problemas relacionados con el estrés oxidativo y por lo tanto actúan como antioxidantes, consumo de moléculas y metabolitos tóxicos como se observa en la Figura 4 (9). Ante la imposibilidad de la aportación directa de ATP, se han desarrollado fármacos capaces de aportar electrones directamente a la cadena respiratoria; en los que destacan la Ubiquinona-10 que actúa como aceptor móvil de electrones transfiriéndolos del complejo I y II al citocromo C. Pero su utilidad prácticamente queda limitada a los que presentan déficit de esta y por lo tanto habrá que realizar determinaciones previamente (9).

Las vitaminas también juegan un papel determinante, actuando sobre diferentes dianas terapéuticas. Por un lado, la riboflavina en dosis altas se utiliza en déficit del complejo I, la vitamina K3 en los déficits del complejo II ya que mejoran la fosforilación oxidativa o en otras alteraciones de la cadena respiratoria se ha observado que tanto la tiamina como la niacina pueden ayudar al actuar como cofactores en la cadena de transporte de electrones mitocondrial (9).



Figura 4: Mecanismo de acción terapéutica (8).

Finalmente, como hemos dicho con anterioridad, las medidas generales y de soporte juegan un papel imprescindible en el control evolutivo de estos pacientes, tanto en la profilaxis como en las descompensaciones agudas y en los múltiples órganos que se van afectando progresivamente. Entre ellas destacan dietas bajas en hidratos de carbono para evitar una alta producción de lactato, situaciones con alto gasto energético como la fiebre o ejercicio físico intenso, aunque se ha valorado la posibilidad de que el ejercicio aeróbico puede mejorar la capacidad energética muscular. Así como evitar fármacos depresores de la cadena respiratoria mitocondrial; como algunos antiepilépticos, y evitar también los fármacos que disminuyen la producción de proteínas mitocondriales como algunos antibióticos tales como las tetraciclinas o el cloranfenicol (8).

Debido a la escasez de tratamientos efectivos, vamos a realizar una revisión de las posibilidades terapéuticas en pacientes que sufren una enfermedad mitocondrial, poniendo el foco en tratamientos innovadores como técnicas de remplazo mitocondrial, terapias con antioxidantes y fármacos capaces de estimular la función mitocondrial mediante la acción de diferentes vías de compensación mitocondrial.

3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

Dado que las enfermedades mitocondriales son patologías graves y progresivas, con una alta morbilidad y sin tratamientos curativos efectivos, una revisión exhaustiva de las opciones terapéuticas actuales permitirá identificar estrategias innovadoras que mejoren la calidad de vida de los pacientes. En este contexto, el desarrollo de nuevas terapias, en particular la terapia de reemplazo celular, podría representar una alternativa prometedora con potencial curativo, ofreciendo nuevas esperanzas en el tratamiento de estas enfermedades.

Para responder esta hipótesis, se plantean los siguientes objetivos:

- Conocer el estado actual de los tratamientos dirigidos a personas con enfermedades mitocondriales.
- Describir los tratamientos dirigidos a mejorar la función mitocondrial.
- Valorar las posibilidades terapéuticas en pacientes que sufren una enfermedad mitocondrial poniendo el foco en los tratamientos más innovadores y el uso de la terapia de reemplazo celular como posible estrategia curativa.

4. MATERIAL Y MÉTODOS

Este trabajo de fin de grado se ha estructurado como una revisión bibliográfica, con el objetivo de recopilar y analizar la literatura científica más actual y relevante sobre las patologías mitocondriales y las distintas alternativas terapéuticas existentes. Para ello, se utilizaron motores de búsqueda como PubMed y Google Académico, así como bases de datos especializadas tales como ScienceDirect y Elsevier. La gestión de las referencias se llevó a cabo mediante el programa Mendeley. El proceso de búsqueda bibliográfica se desarrolló entre diciembre de 2024 y abril de 2025.

La recopilación de información comenzó a partir de una serie de artículos proporcionados por mi tutora, la Dra. Sonia Emperador Ortiz. Estos primeros documentos sirvieron como base para comprender aspectos fundamentales de las mitocondrias, incluyendo su estructura, funciones, los mecanismos de mutación en el ADN mitocondrial y sus consecuencias clínicas, lo que permitió establecer un marco teórico adecuado para abordar posteriormente las terapias farmacológicas y biológicas.

Se priorizó el acceso a publicaciones con texto completo y se aplicaron filtros para limitar los resultados a publicaciones entre los años 2000 y 2025, en idiomas español e inglés,

preferentemente aquellas editadas en los últimos 15 años, aunque se incluyeron también artículos anteriores cuando su contenido resultó ser especialmente valioso. Se excluyeron aquellos trabajos que no cumplían con los criterios metodológicos mínimos, que no trataban de manera adecuada el tema de estudio o que no aportaban información relevante para los objetivos del trabajo.

En una primera fase, la búsqueda se centró en comprender en profundidad la estructura mitocondrial y su componente genético. Para ello, se emplearon términos clave como “GENOME MITOCHONDRIAL”, “MITOCHONDRIAL DISEASES” y “DNA MITOCHONDRIAL”, combinados mediante el operador booleano “AND”. Tras revisar los resúmenes e introducciones, se seleccionaron 14 artículos, de los cuales se mantuvieron finalmente 10 tras una revisión más detallada.

Posteriormente, se abordó la búsqueda de información para los apartados de resultados y discusión, utilizando nuevamente PubMed, Google Académico y la base de datos MDPI. Para el análisis de las terapias se utilizaron los descriptores “MITOCHONDRIAL DISEASES”, “ANTIOXIDANTS” y “THERAPY”, combinados con “AND”. Para las siguientes secciones, se emplearon los términos “MITOCHONDRIAL REPLACEMENT THERAPY” y “NEW THERAPY”, también utilizando el operador booleano “AND”. Se aplicaron los mismos criterios de selección anteriores, lo que permitió obtener un total de 19 artículos tras revisar sus resúmenes, introducciones y, en algunos casos, el texto completo.

Además de las búsquedas sistemáticas, se complementó el trabajo con la revisión manual de artículos y páginas web que se consideraron de especial interés, especialmente para el último apartado del trabajo. También se revisaron las referencias bibliográficas de los artículos seleccionados para identificar fuentes adicionales de relevancia.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 TERAPIA ANTIOXIDANTE

En una situación fisiológica y de homeostasis, la cadena respiratoria mitocondrial es la principal fuente de ATP para las células, así como de radicales libres derivados del oxígeno en nuestro organismo. Estos radicales libres pueden ser realmente nocivos contra diferentes estructuras de las células, por lo que poseen mecanismos eficaces para contrarrestar estos radicales, como puede ser las enzimas antioxidantes, junto con sustratos y cofactores. Dentro de este grupo de mecanismos de defensa se encuentran vitaminas como la vitamina A, la vitamina C o la vitamina E, así como la ubiquinona y el glutatión. En situaciones en las que se produce un desequilibrio entre la producción y destrucción de radicales libres generados por la respiración mitocondrial puede superar la capacidad antioxidante del cuerpo, lo que produce un fenómeno conocido, como estrés oxidativo, provocando efectos perjudiciales para nuestro organismo. Como hemos dicho con anterioridad, estos radicales libres pueden dañar estructuras vitales de la célula como los lípidos de las membranas, las proteínas y los ácidos nucleicos. El ADNmt es especialmente susceptible al daño oxidativo, debido a su limitada protección y capacidad de reparación. Tanto la sobreproducción como la disminución de la detoxificación se asocia a enfermedades crónicas (8).

Podemos definir antioxidante como una sustancia que, al encontrarse en concentraciones bajas en relación con un sustrato susceptible a la oxidación, ralentiza o impide de manera significativa la oxidación de dicho sustrato. Como hemos dicho, en las células existen numerosos sustratos que pueden ser oxidados, como proteínas, lípidos, carbohidratos y ADN. Por este motivo los antioxidantes desempeñan un papel en la prevención de la formación de radicales libres, la desintoxicación de estos, así como en la eliminación de estos o sus precursores. En los últimos años, la investigación sobre el desarrollo de antioxidantes dirigidos a las mitocondrias ha crecido de manera constante. Los proyectos médicos actuales están dirigidos a explorar fármacos que restablezcan la función mitocondrial y regulen la producción mitocondrial de radicales libres. Para modular la homeostasis redox mitocondrial, el fármaco debe acumularse selectivamente en las mitocondrias e interactuar con sus dianas, manteniendo así las funciones celulares normales (8,10).

En términos generales, estos fármacos son capaces de reaccionar con los radicales libres, transformándose de su forma reducida a una forma oxidada, lo que ayuda a mitigar el estrés oxidativo. Otros fármacos actúan como cofactores de las enzimas antioxidantes, y algunos tienen la habilidad de regenerar antioxidantes que estaban en su forma oxidada, por lo que no

es tan eficaz para eliminar los radicales libres de manera directa. Entre los antioxidantes que se están desarrollando se encuentran vitaminas; como la A o retinol, vitamina C o ascorbato, vitamina E o tocoferol y la vitamina K3 o menadiona. También tenemos antioxidantes inorgánicos como puede ser el Selenio o antioxidantes sintéticos, como el hidroxianisol butilado (BHA), hidroxitolueno butilado (BHT), galato de propilo, mesitol y una variedad de polifenoles derivados de plantas (8,11).

Hoy en día existen una serie de problemas con el uso de antioxidantes no dirigidos específicamente contra las mitocondrias, como las vitaminas previamente comentadas o los β -caroteno, ya que se han observado una serie de efectos adversos en los ensayos clínicos. El uso excesivo o incorrecto de antioxidantes puede suprimir la producción de radicales libres, lo que desencadena una regulación compensatoria positiva de las vías de la proteína quinasa activada por mitógenos (MAPK), que son un grupo de enzimas que controlan la proliferación, diferenciación, motilidad y supervivencia celular; lo que a su vez afecta negativamente al sistema antioxidante interno y al crecimiento celular normal. Otro de los problemas observados en los ensayos clínicos es si se absorben de manera adecuada y cómo se metabolizan en distintos órganos. Estos problemas dificultan la determinación de la dosis correcta de antioxidantes tradicionales utilizados en el tratamiento de enfermedades (10).

La manera más eficaz de utilizar un antioxidante en el tratamiento de enfermedades es combinarlo con un portador, como cationes lipofílicos, liposomas o péptidos, para facilitar que su componente bioactivo sea dirigido y transportado hacia las mitocondrias. Esta administración dirigida permite que los antioxidantes se acumulen en altas concentraciones dentro de las células y mitocondrias, protegiendo así las células y tejidos del daño oxidativo mediante diversos mecanismos. Los antioxidantes ideales deben ser biodisponibles y capaces de ingresar rápidamente al torrente sanguíneo, ya sea por absorción intestinal o por inyección intravenosa. Los MTA (antioxidantes dirigidos a mitocondrias) pueden acumularse en las mitocondrias y proteger los tejidos específicos (como el cerebro, hígado, riñones, músculos, oídos y corazón) del daño oxidativo. En la última década, numerosos estudios enfocados en el desarrollo de antioxidantes dirigidos a las mitocondrias han arrojado resultados prometedores, los cuales analizaremos en detalle (10,12).

Existen diversas opciones para administrar fármacos de manera selectiva a las mitocondrias, como se puede observar en la *Figura 5*. Entre ellas se incluyen estrategias basadas en características biofísicas de las mitocondrias, como su alto potencial interno negativo, enfoques fundamentados en la localización específica de enzimas mitocondriales que facilitan la liberación

tener efectos positivos sobre hígado graso alcohólico, enfermedades neurodegenerativas, isquemia-reperfusión, hipertensión, sepsis y daño renal en diabetes tipo I (11,13).

Los liposomas son vesículas compuestas por una doble capa de lípidos, y han sido ampliamente utilizados como nanotransportadores para medicamentos y compuestos bioactivos. Una de las principales ventajas de utilizar los antioxidantes encapsulados en los liposomas frente a los cationes lipofílicos es que permite introducir las moléculas activas sin modificar su estructura ni su actividad biológica. En el caso de los antioxidantes encapsulados en los liposomas suelen estar formados por fosfatidilcolina, fosfatidilglicerol, colesterol y el agente antioxidante, siendo la coenzima Q10 (CoQ10) uno de los más empleados con este enfoque. Estos sistemas de transporte liposomal pueden transportar antioxidantes convencionales directamente a las mitocondrias de células vivas. El proceso de ingreso celular de estos antioxidantes encapsulados se da a través de micropinocitosis. Una vez dentro de la célula, tras la ruptura del macropinocitosoma, los lípidos del liposoma se fusionan con la membrana mitocondrial, permitiendo así la liberación del antioxidante en la matriz mitocondrial. Sin embargo, una de las principales limitaciones de este método es la dificultad de los liposomas para escapar de los endosomas, lo cual reduce la eficacia del transporte hacia el citoplasma y las mitocondrias. Para resolver este problema, se desarrolló el sistema MITO-Porter, que combina un ADN plasmídico con una envoltura lipídica diseñada para facilitar la entrega precisa de sustancias activas a las mitocondrias, de esta forma se evita la destrucción de estos complejos. Este sistema ha demostrado ser eficiente tanto en la liberación citoplasmática como mitocondrial, abriendo nuevas posibilidades terapéuticas para tratar enfermedades relacionadas con disfunción mitocondrial (10).

Una estrategia alternativa para dirigir antioxidantes directamente a las mitocondrias es mediante el uso de péptidos pequeños con carga positiva conocidos como péptidos Szeto-Schiller (SS). Estos péptidos están constituidos por cuatro aminoácidos aromáticos o básicos alternados con un aminoácido D en la primera o segunda posición junto con la amidación del C-terminal, lo que le otorga mayor estabilidad frente a la degradación enzimática. En situaciones de pH fisiológico, los péptidos SS poseen tres cargas positivas, lo que favorece su rápida entrada en las células y su acumulación dentro de las mitocondrias, donde se unen a la membrana interna mitocondrial. Su ingreso a través de la membrana plasmática es dependiente de la concentración y no se satura, lo que sugiere un mecanismo de paso directo a través de la membrana celular, sin la necesidad de utilizar canales o mecanismos de transporte activo, por lo que no requiere de energía para introducirse dentro de las mitocondrias. Algunos péptidos SS, como el SS-31, siendo este el más eficaz identificado hasta ahora, poseen propiedades

antioxidantes propias. Esta actividad se atribuye a un residuo de dimetiltirosina que es esencial para su función protectora. Otros péptidos similares que carecen de este residuo no mostraron efectos antioxidantes, por lo que juega un papel crucial para su uso en las terapias antioxidantes. Los péptidos SS han demostrado ser efectivos contra el daño por estrés oxidativo, tanto en mitocondrias aisladas como en modelos celulares de diversas enfermedades (13).

De acuerdo con estas terapias, la Sociedad de Medicina Mitocondrial (Mitochondrial Medicine Society) estableció una serie de pautas que tenían como objetivo estandarizar las opciones terapéuticas para los pacientes con enfermedades mitocondriales. De acuerdo con estas pautas, se recomienda administrar CoQ10 en su forma reducida (ubiquinol) a los pacientes con trastornos mitocondriales primarios, y se debe realizar un seguimiento de los niveles plasmáticos o leucocitarios para evaluar la adherencia al tratamiento. Además, el ácido α -lipoico (ALA) y la riboflavina se prescriben frecuentemente a los pacientes con enfermedades mitocondriales. La L-carnitina debe ser administrada en caso de deficiencia de esta. El ácido fólico debe ser suministrado a aquellos pacientes con enfermedades mitocondriales que presenten deficiencia y afectación del sistema nervioso central. Cabe destacar que estos suplementos nutricionales deben administrarse de manera aislada, evitando la combinación de múltiples al mismo tiempo desde un principio. Una vez tolerados de manera individual se pueden plantear las combinaciones de ellos (12).

5.2 TERAPIA DE REEMPLAZO CELULAR

La terapia de reemplazo celular es una técnica que consiste en enriquecer, fuera del organismo, es decir *ex vivo*, células madre y células progenitoras hematopoyéticas autólogas con mitocondrias obtenidas de tejidos o células donantes, basándose en la capacidad comprobada de las mitocondrias aisladas para ingresar en otras células y modificar tanto su función mitocondrial como su metabolismo. De esta manera se podría conseguir reparar el daño en estos pacientes con alteraciones a nivel del ADNmt (14).

En uno de los estudios realizados, la técnica llevada a cabo consistía en aislar las mitocondrias de los donantes elegidos, que en este caso eran las madres de los pacientes, a través de células mononucleares de sangre periférica. Inicialmente se realiza un complejo proceso que incluye la centrifugación y criopreservación de la sangre del paciente afecto, luego realizan una movilización con G-CSF (factores estimulantes de colonias de granulocitos) para finalmente realizar leucoféresis en el paciente afecto de la enfermedad, consiguiendo aislar células CD34+ suyas. Una vez realizado, se procedió a la terapia de aumento mitocondrial, también conocida como MAT, con mitocondrias sanas de origen materno, con lo que se consiguió una disminución

de la heteroplasmia que se reflejó en una mejora en ciertos aspectos de la función mitocondrial y clínica en dichos pacientes. Es decir, la MAT es una técnica cuyo objetivo es aumentar el número de mitocondrias sanas para luego proceder a realizar la terapia de reemplazo mitocondrial (14).

Para realizar la transmisión de las mitocondrias desde las células madre donantes a las células receptoras, se han investigado cuatro mecanismos; la formación de nanotubos de tunelización (TNT), la liberación de microvesículas extracelulares, la fusión celular y la extrusión mitocondrial. Una vez dentro de la célula receptora, estas mitocondrias pueden aportar ADNmt sano, que es capaz de replicarse dentro de la célula e incluso propagarse entre células (15). Los TNT son prolongaciones del citoplasma formadas por filamentos de actina que actúan como canales entre células, facilitando el paso de señales y el intercambio de diversos elementos celulares. A través de estos canales, se pueden transferir moléculas como calcio (Ca^{2+}), ácidos nucleicos, patógenos, orgánulos, y componentes de la membrana plasmática, incluyendo las mitocondrias. Este proceso ha permitido observar que las células madre pueden ayudar a recuperar células dañadas transfiriéndoles mitocondrias mediante TNT. En respuesta a señales de daño celular, las células madre perciben un gradiente químico, forman protuberancias en su membrana y se extienden hasta alcanzar a las células afectadas para establecer conexión a través de nanotubos. A su vez, las células lesionadas también pueden emitir prolongaciones que facilitan el contacto con las células madre cercanas, promoviendo la formación de estas estructuras. Un factor clave en este proceso es la activación de la proteína supresora de tumores p53, ya que esta molécula resulta esencial para que se formen los TNT. Además, p53 activa otras rutas celulares que favorecen aún más el desarrollo de estos nanotubos (15,16).

Las microvesículas pueden contener mitocondrias intactas y ADNmt. Los mecanismos de biogénesis consisten en que las mitocondrias se empaquetan en vesículas que contienen la cadena ligera 3 en el citoplasma de las células madre y luego se integran en la gemación externa en la membrana plasmática. En cuanto a la fusión celular; el mal funcionamiento de las mitocondrias y el estrés en el retículo endoplasmático pueden estimular un aumento en los procesos de fusión celular, lo cual podría ser una respuesta adaptativa que favorece la plasticidad celular y la supervivencia ante daños causados por el estrés oxidativo. La fusión entre células es un proceso complejo que ocurre en varias etapas. Finalmente tenemos la extrusión mitocondrial, sobre la que algunas investigaciones han evidenciado que, durante el proceso de apoptosis inducida por $\text{TNF}\alpha$, ciertas vacuolas dentro del citoplasma pueden captar mitocondrias libres y luego expulsarlas al espacio extracelular. Aunque todo esto ha sido bien

estudiado, aún queda por demostrar si las células madre son capaces de liberar mitocondrias al medio extracelular como una ruta para la MAT (15,16).

Un estudio realizado en 2021 demostró que es posible enriquecer células madre hematopoyéticas humanas tanto de personas sanas como de pacientes, con mitocondrias externas funcionales mediante las técnicas de MAT. También demostró que este procedimiento aporta beneficios funcionales duraderos en las células madre provenientes de pacientes; así como evidencias de que las mitocondrias incorporadas a las células mediante este proceso ex vivo mantienen su capacidad de transferirse de manera sostenida a otras células hematopoyéticas en la sangre periférica. En conjunto, estos hallazgos apoyan el uso de MAT como una posible estrategia terapéutica para tratar a pacientes con mutaciones o deleciones en el ADN mitocondrial (17).

Como se ha mencionado anteriormente, la MAT y la terapia de reemplazo celular son técnicas diferentes. En la técnica de reemplazo celular se utilizan células madre con bajo porcentaje de mutación de ADNmt o sin mutación, mientras que la MAT es una técnica que se utiliza más como segunda opción cuando no es posible conseguir ese bajo porcentaje de mutaciones. Ejemplo de ello sería la posibilidad de utilizar el tratamiento con células madre en la encefalopatía neurogastrointestinal mitocondrial (MNGIE), una de las enfermedades mitocondriales más destacadas. Esta patología está causada por mutaciones en el gen que codifica la enzima timidina fosforilasa (TP), lo que provoca un daño secundario en el ADN mitocondrial. Las terapias basadas en células madre tienen el potencial de restaurar la actividad de la enzima TP, lo que contribuye a mejorar el pronóstico de los pacientes con MNGIE. Estos resultados representan una de las primeras evidencias que respaldan el uso de células madre como estrategia terapéutica en casos de encefalomiopatías mitocondriales (15).

Otras enfermedades en las que se han observado buenos resultados son el síndrome de Kearns-Sayre (KSS) y el síndrome de Pearson (PS), que son enfermedades mitocondriales multisistémicas causadas por grandes deleciones en el ADNmt, como la deleción común de 4977 pb. KSS se manifiesta principalmente con síntomas neuromusculares como oftalmoplejía externa progresiva, retinopatía pigmentaria y problemas cardíacos o ataxia. En cambio, PS se caracteriza por una insuficiencia de médula ósea y múltiples afectaciones sistémicas. En estudios recientes sobre estas enfermedades se han obtenido células madre pluripotentes inducidas (iPSC) derivadas de pacientes con KSS y PS, las cuales presentaban distintos niveles de heteroplasmia. Las iPSC con alta carga mutacional mostraron alteraciones en el crecimiento, estructura mitocondrial, fosforilación oxidativa y diferenciación hematopoyética. Sin embargo,

algunas iPSC derivadas de estos pacientes lograron diferenciarse normalmente sin mantener la delección de ADNmt, lo que sugiere que es posible generar líneas celulares isogénicas libres de mutaciones mitocondriales. Estos hallazgos ofrecen nuevas oportunidades para el desarrollo de terapias celulares de reemplazo en enfermedades mitocondriales (16).

5.3 DESARROLLO DE NUEVOS FÁRMACOS

5.3.1 FÁRMACOS DIRIGIDOS A MODULAR LA FUNCIÓN MITOCONDRIAL

La pérdida de la proteostasis mitocondrial se ha vinculado estrechamente con el envejecimiento y diversas patologías mitocondriales. Cuando falla el sistema encargado de mantener el equilibrio proteico, se producen alteraciones como la acumulación de agregados proteicos o la degradación prematura de proteínas, lo que da lugar a una disfunción mitocondrial. Para contrarrestar estos efectos, las mitocondrias ponen en marcha mecanismos compensatorios, entre ellos la mitofagia, un proceso selectivo que elimina las mitocondrias dañadas y es crucial para su renovación y para conservar la funcionalidad celular. Otros mecanismos incluyen la activación de la proteína quinasa dependiente de AMP (AMPK) y la respuesta de proteínas desplegadas mitocondrial (UPRmt). Esta última actúa como una vía intracelular de adaptación que transmite señales de estrés mitocondrial al núcleo, promoviendo la expresión de genes implicados en el mantenimiento de la homeostasis proteica mitocondrial, como chaperonas, proteasas y antioxidantes. En los últimos años, se han propuesto nuevas estrategias terapéuticas basadas en la modulación de estas rutas celulares de compensación (18).

Diversos estudios apuntan a la utilización de antibióticos como una posible estrategia para inducir rutas compensatorias mitocondriales, no obstante, su uso prolongado en pacientes genera un importante debate, ya que los posibles efectos adversos podrían contrarrestar los beneficios terapéuticos esperados. Es por esto que se planteó como objetivo la identificación de fármacos alternativos no antibióticos, previamente aprobados por la FDA, capaces de estimular la activación de la respuesta de proteínas desplegadas mitocondrial. Entre ellos, destaca el pterostilbeno —un compuesto estructuralmente similar al resveratrol— que ha sido identificado mediante ensayos de cribado farmacológico como un potenciador de la función mitocondrial. Los efectos beneficiosos de este compuesto se amplificaron al combinarse con un cóctel mitocondrial denominado CoC3, compuesto por pterostilbeno, nicotinamida, riboflavina, tiamina, biotina, ácido lipoico y L-carnitina. Este cóctel favorece la actividad de las sirtuinas y estimula la activación de la UPRmt, contribuyendo a la mejora de las alteraciones patológicas observadas tanto en fibroblastos con mutaciones como en neuronas derivadas. Asimismo, este fármaco destaca por su mayor biodisponibilidad y su capacidad para atravesar la barrera

hematoencefálica, cuyo consumo es considerado seguro en humanos y se le atribuyen múltiples propiedades beneficiosas, entre las que destacan una potente acción antioxidante y un significativo potencial antiinflamatorio (18).

Por otro lado, el dinucleótido de nicotinamida y adenina (NAD⁺) y su forma reducida (NADH) desempeñan un papel clave en la regulación de la homeostasis redox celular, el metabolismo energético y diversas rutas de señalización intracelular como se ha comentado anteriormente. En el caso del síndrome MELAS y otras patologías mitocondriales, las concentraciones intracelulares de NAD⁺ suelen disminuir como consecuencia de la disfunción mitocondrial asociada a la enfermedad. Estudios recientes hablan sobre los resultados obtenidos mediante la acción del compuesto KL1333 sobre la enzima NQO1, que producen una modulación de los niveles de NAD⁺ contribuyendo a mejorar el balance energético celular, reduciendo el estrés oxidativo y favoreciendo la recuperación de la función mitocondrial, lo que sugiere su potencial utilidad terapéutica frente a las enfermedades mitocondriales (19).

KL1333 es una molécula orgánica de bajo peso molecular administrable por vía oral, que actúa como sustrato de la enzima NAD(P)H:quinona oxidoreductasa 1 (NQO1). Su interacción con esta enzima favorece la oxidación de NADH, lo que conduce a un incremento en los niveles intracelulares de NAD⁺. Esta molécula estimula tanto la biogénesis como las funciones mitocondriales mediante la activación del regulador clave PGC-1 α , aunque también de otras vías de modulación como SIRT1 y AMPK. Este primer regulador ha sido ampliamente estudiado en el ámbito de la medicina mitocondrial debido a su papel fundamental en la regulación del metabolismo y la funcionalidad mitocondrial. En particular, PGC-1 α promueve la activación de diversos factores de transcripción implicados en la expresión génica relacionada con procesos mitocondriales y metabólicos. Estos hallazgos indican que KL1333 presenta un potencial terapéutico prometedor para el tratamiento eficaz del síndrome MELAS (19).

Por último, enfermedades mitocondriales tales como la Oftalmoplejía externa progresiva con deleciones del ADN mitocondrial 1 (PEOA1), Disartria y oftalmoparesia atáxica sensorial (SANDO), Síndrome de Alpers-Huttenlocher (AHS), Encefalopatía neurogastrointestinal mitocondrial, son producidas por una mutación en el gen POLG, responsable de codificar una proteína conocida como polimerasa gamma (Pol γ). Esta enzima está formada por una subunidad alfa y dos unidades de una proteína denominada subunidad beta. La polimerasa gamma cumple una función esencial en la replicación y reparación del ADN mitocondrial. Hasta el momento, no se han desarrollado intervenciones terapéuticas eficaces para las patologías mitocondriales relacionadas con la mutación de este gen. Sin embargo, se realizó un estudio

sobre un ensayo donde se evaluaba la seguridad y eficacia de la terapia combinada con desoxicitidina y desoxitimidina por vía enteral, midiendo diferentes parámetros de entre los cuales algunos eran la EEG, el factor de diferenciación de crecimiento sérico 15, convulsiones y análisis de sangre y orina. Los resultados fueron que mejoraron los niveles del factor de disfunción mitocondrial y el EEG. Por lo tanto, esta combinación terapéutica se perfila como una alternativa prometedora para el manejo de los trastornos mitocondriales con mutaciones en el gen POLG (20).

5.3.2 ESTRATEGIAS TERAPÉUTICAS EMERGENTES BASADAS EN MITOCONDRIAS DE DISEÑO

La ingeniería mitocondrial ha experimentado avances significativos en los últimos años, consolidándose como una estrategia innovadora en la corrección de mutaciones patogénicas del ADNmt. Entre las principales herramientas desarrolladas destacan las nucleasas programables específicas de mitocondrias, tales como mitoREs, mitoZFNs, mitoTALENs y mitoARCUS, las cuales permiten la degradación selectiva de secuencias mutadas, favoreciendo el desplazamiento heteroplásmico hacia poblaciones de genoma mitocondrial sano. De manera complementaria, los editores de bases DdCBEs, TALEDs y ZFDs constituyen una alternativa más segura y precisa, al posibilitar la corrección puntual de mutaciones sin generar roturas de doble cadena (DSB) en el ADNmt (21).

Estas tecnologías han demostrado eficacia en modelos preclínicos *in vitro* e *in vivo*, mostrando la capacidad de restaurar la función bioenergética mitocondrial en determinadas patologías. Sin embargo, su aplicabilidad en mutaciones homoplásmicas continúa siendo limitada, lo que ha motivado la exploración de enfoques alternativos, como la relocalización funcional de genes de un compartimento celular a otro, codificados en el núcleo, o la transferencia de mitocondrias funcionales, previamente explicada en el apartado de terapia de reemplazo mitocondrial (21).

Adicionalmente, la manipulación del ARN mitocondrial emerge como una estrategia terapéutica complementaria, mediante el uso de oligonucleótidos antisentido (ASOs), ARN de interferencia (RNAi) y nucleasas específicas de ARN (ASREs), las cuales permiten modular la expresión de transcritos defectuosos. En este sentido, la suplementación directa de ARN funcional ha demostrado eficacia en la recuperación de la función respiratoria en modelos celulares, consolidándose como una línea terapéutica emergente. Como ya se ha mencionado, las estrategias de transferencia mitocondrial artificial han experimentado una notable evolución, pasando de enfoques iniciales basados en el intercambio intercelular de mitocondrias a través de nanotubos de membrana o vesículas extracelulares, hacia modalidades más avanzadas que

implican la administración sistémica de mitocondrias aisladas ex vivo. Esta aproximación ha evidenciado efectos beneficiosos en modelos preclínicos, mostrando una mejora significativa en procesos de regeneración y reparación de tejidos, así como resultados prometedores en la modulación de patologías de origen metabólico, neurodegenerativo y cardiovascular (21). Todas estas estrategias quedan resumidas en la tabla 4.

Tabla 4. Tecnologías de ingeniería mitocondrial y sus aplicaciones clínicas (modificada de (21)).

ESTRATEGIA	TECNOLOGA PRINCIPAL	MECANISMO DE ACCIÓN	APLICACIONES CLÍNICAS POTENCIALES	LIMITACIONES
Edición génica mitocondrial	-MitoREs -mitoZFNs -mitoTALENs -mitoARCUS	Degradación selectiva de ADNmt mutado mediante nucleasas programables	Enfermedades mitocondriales heteroplásmicas	Ineficaz en mutaciones homoplásmicas
	-DdCBEs -TALEDs -ZFDs	Conversión de bases específicas sin generar DSB	Generación de modelos animales y corrección de mutaciones puntuales	Eficacia moderada. Riesgo de off-target en ADNmt
Terapia con ARN mitocondrial	-ASOs -RNAi -ASREs	Regulación postranscripcional de ARNmt; bloqueo o reemplazo de ARN defectuoso	Tratamiento de defectos en transcripción o traducción mitocondrial	Entrega intramitocondrial limitada
Transferencia mitocondrial artificial	-Transferencia directa -Vesículas extracelulares -Migrasoma	Reposición de mitocondrias funcionales en células disfuncionales	Terapias regenerativas. Enfermedades cardiovasculares y neurodegenerativas	Riesgo de rechazo inmunológico Durabilidad incierta

El desarrollo de sistemas de administración eficientes continúa representando un reto crítico para la traslación clínica de estas tecnologías. Se han explorado diversas aproximaciones, incluyendo métodos físicos (microinyección, infusión hidrodinámica), químicos (liposomas modificados, dendrímeros, nanopartículas inorgánicas) y biológicos (péptidos señal mitocondriales, vectores virales), logrando superar parcialmente las barreras impuestas por la doble membrana mitocondrial. En particular, los vectores virales derivados de adenoasociados (AAV) han mostrado eficacia en la entrega dirigida de herramientas de edición mitocondrial en modelos animales, abriendo nuevas perspectivas de aplicación clínica (21).

Aplicaciones clínicas de las mitocondrias modificadas

El potencial terapéutico de las mitocondrias modificadas se ha extendido más allá de las enfermedades hereditarias, abarcando patologías adquiridas en las que la disfunción mitocondrial desempeña un papel central en la fisiopatología, como el envejecimiento, enfermedades cardiovasculares, neurodegenerativas, inflamatorias y neoplásicas. En el ámbito cardiovascular, la transferencia de mitocondrias exógenas ha demostrado beneficios en modelos de isquemia-reperfusión y cardiomiopatías, promoviendo la restauración de la función mitocondrial, la mejora de la bioenergética celular y la regeneración tisular. Asimismo, evidencias recientes indican que las mitocondrias transferidas pueden estimular la biogénesis endógena y reducir el estrés oxidativo, consolidándose como una estrategia innovadora dentro del campo de la medicina regenerativa. Por otro lado, en patologías neurodegenerativas como la enfermedad de Parkinson, la enfermedad de Alzheimer y la esclerosis lateral amiotrófica, la transferencia mitocondrial desde células madre mesenquimales o mediante vesículas extracelulares ha mostrado potencial para mitigar la disfunción neuronal y reducir los procesos de neuroinflamación, abriendo nuevas vías terapéuticas en estos contextos. Por último, en el ámbito oncológico, las estrategias de manipulación mitocondrial buscan contrarrestar la reprogramación metabólica característica de las células tumorales, restaurando el metabolismo oxidativo o induciendo apoptosis selectiva mediante la edición genética mitocondrial. No obstante, esta línea de investigación requiere una validación preclínica más exhaustiva para garantizar la seguridad y eficacia de estas aproximaciones en modelos de cáncer sólidos (21).

En el caso de las enfermedades mitocondriales hereditarias, los avances en terapia génica han permitido el desarrollo de ensayos clínicos en humanos, combinando herramientas de edición de bases y vectores virales. Si bien estas estrategias ofrecen la posibilidad de corregir mutaciones específicas en el ADNmt, persisten desafíos relacionados con la eficiencia de la entrega, la heterogeneidad genómica y el riesgo de efectos fuera del objetivo (21).

5.4 TERAPIA DE REMPLAZO MITOCONDRIAL

Además de las estrategias terapéuticas previamente descritas orientadas al tratamiento de las enfermedades mitocondriales, resulta fundamental explorar y desarrollar enfoques preventivos que permitan evitar la transmisión hereditaria de estas patologías. En este contexto, la terapia de reemplazo mitocondrial (TRM) se encuentra encuadrada dentro de las conocidas como terapias génicas de línea germinal que tienen como objetivo la corrección de la mutación causal en gametos y embriones en fases tempranas para así no ser transmitida a la descendencia. De esta forma, no nos encontramos en una terapia dirigida a la curación del paciente, sino que

tendría como objetivo no transmitir la mutación a la descendencia de los pacientes afectados. La característica única de la herencia mitocondrial, la cual es exclusivamente materna a través de los ovocitos, es la principal motivación que ha llevado a los investigadores a desarrollar nuevas técnicas de reproducción asistida (22). Las TRM implican trasladar el ADNn desde un ovocito o cigoto que posee mitocondrias con mutaciones hacia otro ovocito o cigoto previamente enucleado, es decir, al que se le ha retirado su material genético. Este ovocito receptor contiene mitocondrias sanas y funcionales. Como resultado, el cigoto generado lleva el ADN nuclear de la madre biológica, mientras que el citoplasma, incluidas las mitocondrias sanas, proviene del óvulo de la donante, evitando la introducción de rasgos genéticos del donante. Existen un total de cinco tipos de técnicas de TRM; cuyas principales diferencias son la forma biológica del genoma nuclear que se transfiere al ovocito donante teniendo en cuenta los cambios que ocurren en el ADNn del ovocito durante la gametogénesis (23). Dentro de estas cinco técnicas destacan:

- Transferencia de vesículas germinales (GVT).
- Transferencia del huso meiótico (MST).
- Transferencia Pronuclear (PNT).
- Transferencia de cuerpo polar:
 - Primera transferencia de cuerpo polar (PB1T).
 - Segunda transferencia de cuerpo polar (PB2T).

Tabla 2. Comparación de técnicas de reemplazo mitocondrial (23).

Procedimiento/ Características	GVT	MST	PNT	PB1T	PB2T
Origen	Ovocito primario	Ovocito secundario	Cigoto	Ovocito secundario	Cigoto
Ploidía	Diploide (2n)	Haploide (n)	Diploide (2 × n, mas. y fem.)	Haploide (n)	Haploide (n)
Cromátidas	4C	2C	2 × C (masc. y fem.)	2C	do
Membrana circundante	+	-	+	+	+

«n» representa el número de conjuntos de cromosomas. «C» es la cantidad de cromátidas en un par de cromosomas. GVT: transferencia de vesícula germinal. MST: transferencia del huso meiótico. PB1T/PB2T: transferencia del primer/segundo corpúsculo polar. PNT: transferencia del pronúcleo.

5.4.1 TRANSFERENCIA DE VESÍCULAS GERMINALES

Se denomina vesícula germinal al núcleo de gran tamaño presente en los ovocitos primarios, es decir, aquellos que aún no han madurado. Estos ovocitos permanecen detenidos en la profase I de la meiosis dentro del ovario durante años, hasta que comienzan a activarse en los ciclos menstruales tras la llegada de la pubertad. La técnica conocida como GVT, como se puede ver en la *Figura 6*, implica trasladar la vesícula germinal del ovocito primario de una paciente a un ovocito donado, al cual previamente se le ha extraído su propio núcleo. La vesícula germinal, que está envuelta por una delgada capa de citoplasma y una membrana denominada carioplasto, puede ser extraída mediante una micropipeta. Posteriormente, esta estructura se introduce en el espacio perivitelino de un ovocito al que se le ha retirado previamente su vesícula germinal. La unión entre el carioplasto y el citoplasma suele inducirse mediante electroporación. Como ambos ovocitos están en una etapa inmadura, el ovocito resultante del trasplante debe pasar por un proceso de maduración in vitro para completar la meiosis. Una vez maduro, puede ser fecundado e implantado a la paciente (22).

Se trata de una técnica de muy alta complejidad y por tanto no se utiliza, ya que, al emplear ovocitos de fases muy inmaduras, una vez que se ha hecho la transferencia de las vesículas germinales, tienen que sufrir unos complejos procesos de maduración in vitro para continuar la meiosis antes de ser fecundados, para los que las técnicas de maduración in vitro disponibles en la actualidad no son suficiente y reducen el desarrollo potencial de los ovocitos, sin llegar a lograr resultados tan satisfactorios como en otras técnicas (23).

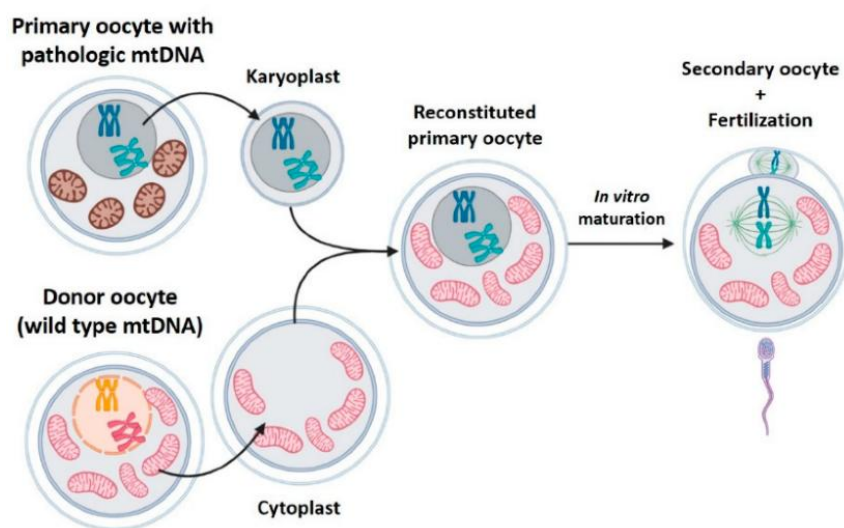


FIGURA 6. Proceso de realización de la técnica de transferencia de vesículas germinales (23).

5.4.2 TRANSFERENCIA DEL HUSO MEIÓTICO

Una vez que empiezan los ciclos menstruales y por tanto la ovulación, el incremento de las gonadotropinas estimula al ovocito primario a continuar el proceso de diferenciación y completar la meiosis, lo que da lugar al ovocito secundario, el cual inicia la segunda división meiótica. Este proceso se detiene en la metafase II, a la espera de una posible fecundación (23).

En esta etapa, el núcleo del ovocito no está claramente definido y los cromosomas se localizan dentro del huso meiótico. La ausencia de una membrana nuclear hace difícil visualizar el ADN nuclear en este punto. No obstante, gracias a la birrefringencia de los microtúbulos, el huso meiótico puede ser observado utilizando un microscopio de luz polarizada. La técnica de MST, como se puede ver en la *Figura 7*, consiste en extraer el huso meiótico de un ovocito en metafase II perteneciente a una paciente con enfermedad mitocondrial, y transferirlo a un ovocito donado sano al que previamente se le ha retirado su núcleo, es decir, el complejo huso-cromosoma del ovocito de la madre se transfiere al ovocito donante enucleado con mitocondrias sanas. Posteriormente, como en la técnica previamente vista, este ovocito reconstruido con el huso meiótico de la paciente enferma se fecundará e implantará en la madre portadora de la enfermedad (23,24).

Al igual que en la técnica de GVT, la MST no requiere la generación previa de embriones, lo cual representa una ventaja relevante desde el punto de vista bioético y técnico. Asimismo, es destacable la baja cantidad de mitocondrias presentes en el huso meiótico, lo que se traduce en una transferencia mínima de mitocondrias al ovocito receptor y por lo tanto se reduce de manera intensa el arrastre de estas. Este hecho contribuye a reducir significativamente uno de los principales desafíos del reemplazo mitocondrial: la heteroplasma residual (23).

Sin embargo, es necesario considerar ciertas limitaciones inherentes a esta metodología al evaluar su viabilidad. Entre los principales inconvenientes se encuentra la complejidad asociada a la visualización precisa del huso meiótico, así como la susceptibilidad de este a la activación prematura del ovocito durante los procedimientos de micromanipulación, debido a su alta sensibilidad mecánica. Además, en ovocitos provenientes de mujeres con edad materna avanzada, es frecuente la omisión en la transferencia de cromosomas localizados de manera excéntrica en el citoplasma, lo que puede comprometer la integridad del material genético transferido. Sin embargo, uno de los principales puntos a favor de la MST radica en la sólida base de evidencia experimental que respalda su eficacia, reflejada en un volumen considerable de publicaciones científicas con buenos resultados (23,25).

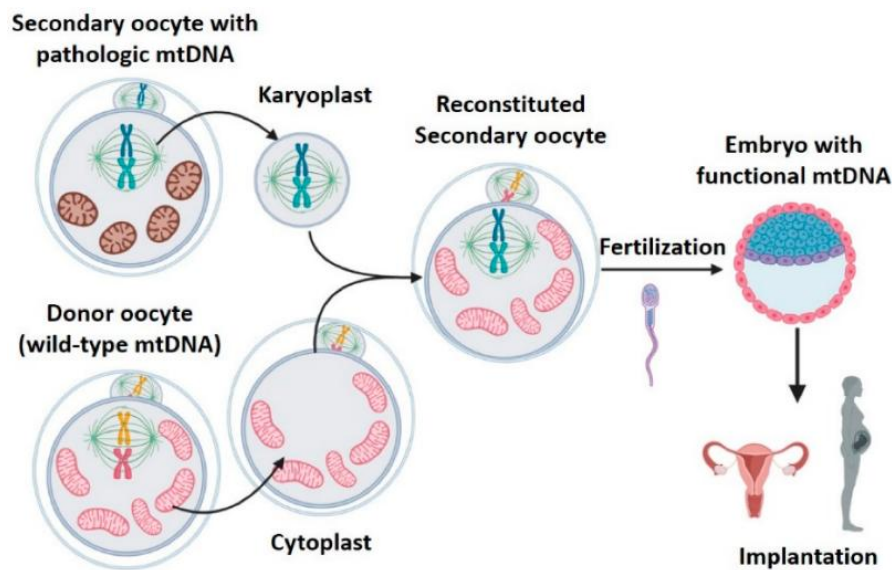


FIGURA 7. Proceso de realización de la técnica de transferencia del huso meiótico (23).

5.4.3 TRANSFERENCIA PRONUCLEAR

El ovocito que se encuentra detenido en la metafase II, una vez que entra en contacto con el espermatozoide y se produce la fecundación, retoma su proceso de maduración y completa la segunda división meiótica. El cigoto resultante contiene su material genético distribuido en dos pronúcleos claramente distinguibles: uno proviene de la madre y el otro del padre (25). En la técnica de PNT, como se puede ver en la *Figura 8*, en el primer día de desarrollo del cigoto estos pronúcleos se extraen del cigoto de la paciente encapsulados en un carioplasto y se insertan en un cigoto donado, y no en un ovocito ya que tienen que estar en la misma fase de desarrollo, con las mitocondrias sanas, al cual previamente se le han retirado sus propios pronúcleos. Respecto a las técnicas anteriores, GVT y MST, esta técnica realiza la transferencia del material genético una vez realizada la fecundación y por tanto implica la creación y manipulación directa de cigotos (24).

Esta técnica ya no entra dentro del grupo de las técnicas anteriores, ya que no es una técnica preventiva al transferirse el material genético una vez formado ya el cigoto (25). A diferencia del huso meiótico, los pronúcleos muestran una mayor resistencia a la micromanipulación, sin que ello desencadene efectos adversos en el desarrollo embrionario. Además, su morfología permite una visualización clara mediante microscopía óptica. No obstante, la aplicación de esta técnica requiere una cuidadosa valoración de sus implicaciones, dado que uno de los principales inconvenientes radica en la necesidad de generar un embrión a partir del ovocito de una

donante, el cual debe ser posteriormente destruido, lo que plantea mayores problemas éticos. Además, uno de sus principales inconvenientes radica en la elevada tasa de arrastre mitocondrial, debido a que el citoplasma circundante a los pronúcleos es especialmente rico en mitocondrias (23,26).

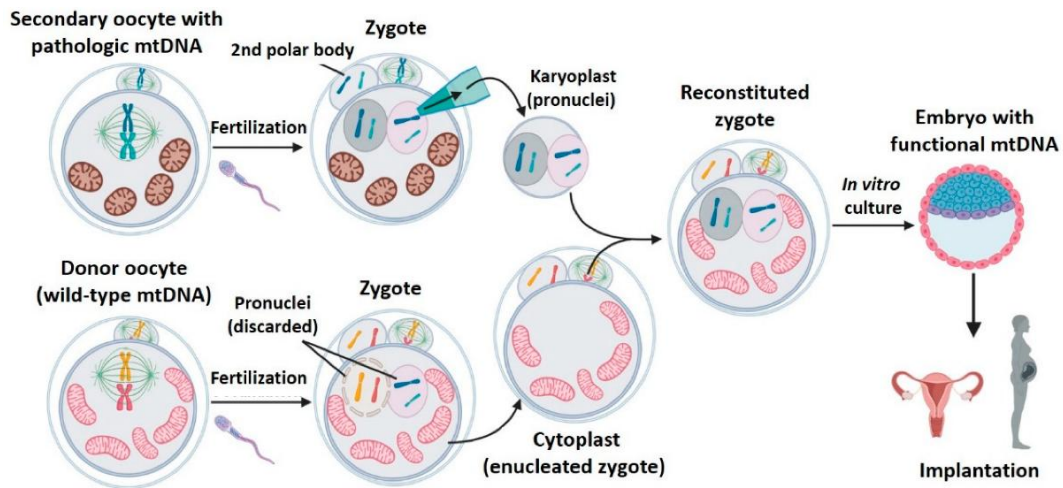


FIGURA 8. Proceso de realización de la técnica Transferencia pronuclear (23).

5.4.4 TRANSFERENCIA DEL CUERPO POLAR:

Durante el proceso de meiosis, se producen una serie de divisiones celulares asimétricas que dan lugar a los cuerpos polares. Se diferencian dos tipos de cuerpos polares, el primer cuerpo polar se forma durante la maduración del ovocito mientras que el segundo cuerpo polar se forma durante la fecundación. Por ello una de las principales diferencias es que el PB1T se transfiere a un ovocito donante enucleado, mientras que el PB2T se transfiere a un cigoto, por lo que acarrea los problemas éticos previamente comentados (25).

5.2.4.1 Transferencia del primer cuerpo polar (PB1T)

Al concluir la meiosis I, el ovocito primario da lugar a dos estructuras biológicas, un ovocito secundario que conserva la mayor parte del citoplasma original del ovocito primario y al primer cuerpo polar, el cual finalmente será expulsado fuera de la célula. Tanto el ovocito secundario como el primer cuerpo polar contienen material genético prácticamente idéntico, compuesto por 23 cromosomas, cada uno con dos cromátidas hermanas. A diferencia del huso meiótico del ovocito secundario en metafase, el huso del primer cuerpo polar se encuentra delimitado por una membrana plasmática y está rodeado por una cantidad muy reducida de citoplasma (25).

La técnica de PB1T consiste en trasladar este primer cuerpo polar, obtenido de un ovocito en metafase II de una paciente, a un ovocito donado sin alteraciones mitocondriales, enucleado sin estar todavía fecundado y también en metafase II, del cual previamente se ha eliminado el huso meiótico. El ovocito reconstruido se somete posteriormente a fecundación e implantación. Esta estrategia es conceptualmente similar a la MST, con la diferencia de que, en este caso, el huso en el ovocito receptor es sustituido por el primer cuerpo polar (23,26).

5.2.4.2 Transferencia del segundo cuerpo polar (PB2T)

Una vez que el ovocito secundario es fecundado, se completa la meiosis II, lo que da lugar a la formación del pronúcleo femenino con cromosomas que contienen una sola cromátida. Esta segunda división meiótica también genera el segundo cuerpo polar, cuyo contenido genético es equivalente al del pronúcleo femenino del cigoto. Al igual que el primer cuerpo polar, el PB2 se localiza en la periferia del cigoto, está claramente delimitado por membrana plasmática y presenta una cantidad mínima de citoplasma. La técnica de transferencia de PB2T consiste en extraer el PB2 de un cigoto derivado de una paciente e introducirlo en un cigoto donante, al cual se le ha eliminado previamente el pronúcleo femenino, con el fin de sustituir el ADN nuclear materno del donante. Tanto la PB1T como la PB2T, al igual que la PNT, implican la manipulación directa del cigoto. En este contexto, la PB1T consiste en aislar el PB1 del ovocito secundario de la paciente e insertarlo en un ovocito de donante previamente enucleado, es decir, sin huso meiótico. Esta técnica guarda similitudes con la MST. En cambio, la PB2T se basa en sustituir el pronúcleo femenino del cigoto donante por el PB2 del cigoto materno, lo cual hace que esta estrategia sea conceptualmente cercana a la PNT, dado que ambas se llevan a cabo a nivel del cigoto (23,25).

5.4.5 COMPARACIÓN DE TÉCNICAS, SEGURIDAD Y EFICACIA

A pesar de los grandes avances en esta materia para evitar las enfermedades mitocondriales, hoy en día no existen estudios que comparen de manera simultánea la eficacia de estas técnicas en los ovocitos humanos o en el mismo modelo animal. Por tanto, cada equipo médico utiliza la técnica en la cual este más especializado. A pesar de ello, dentro de la TRM, hay dos técnicas que parecen mostrarse más superiores a las demás, siendo la MST y la PNT dichas técnicas, ya que parecen tener mejores resultados en el desarrollo embrionario normal. Dentro de estas dos técnicas, parece ser que la PNT podría tener un mayor arrastre mitocondrial, pero como ya hemos comentado antes, sin evidencias suficientes. Lo que sí parece que desequilibra la balanza hacia la MST, son los problemas éticos de la PNT al tener que descartar un embrión ya formado. La técnica de GVT ha presentado dificultades para la maduración de los ovocitos in vitro, al

encontrarse en fases muy inmaduras y por lo tanto es la técnica más compleja de realizar y la menos utilizada (23)

La viabilidad de las técnicas TRM se han demostrado en modelos animales, incluidos primates, y aparentemente han nacido crías sanas. Uno de los posibles problemas generales que podría tener estas técnicas de TRM son los posibles riesgos secundario que afectaría a las generaciones futuras, pero tanto es estudios con animales (ratones y monos), como los primeros pacientes humanos que han recibido estas técnicas no han publicado problemas de salud significativos. A pesar de ello sigue existiendo una serie de preocupaciones con la probabilidad de reversión del ADNmt materno después de una técnica de TRM, como consecuencia de que un pequeño número de mitocondrias patógenas maternas aún se transporten después de la TRM y por lo tanto supusiera un riesgo de enfermar (24).

Como hemos comentado, uno de los principales problemas de las TRM es que haya una cierta transferencia del ADNmt materno no se puede evitar por completo. Esto implica que unos pocos miles de copias del ADNmt de la madre portadora, algunas de las cuales están mutadas, pueden pasar al óvulo de la donante, el cual contiene varios cientos de miles de copias de un ADNmt diferente y sano. Aunque inicialmente la proporción de ADNmt mutante puede ser muy baja, esta podría aumentar significativamente en una sola generación. Por lo tanto, incluso una pequeña cantidad de ADNmt mutado transferido podría provocar enfermedades en la descendencia y en futuras generaciones. Un modelo de herencia del ADNmt sugiere que reducir la proporción de ADNmt mutante por debajo del 5% podría disminuir considerablemente el riesgo de recurrencia de la enfermedad en generaciones futuras. Por lo tanto, TRM puede reducir significativamente el riesgo de enfermedades relacionadas con el ADNmt, aunque no puede eliminarlas por completo (27). En la tabla 3 se resume algunas de las diferentes ventajas y desventajas que conlleva la TRM.

Tabla 3. Principales ventajas y desventajas de la terapia de remplazo mitocondrial(23)

TRM	VENTAJAS	DESVENTAJAS
GVT	<ul style="list-style-type: none"> - No se requiere generación de embriones. - La vesícula germinal es grande y fácil de manipular 	<ul style="list-style-type: none"> - Eficacia muy baja (requiere maduración in vitro) - Crecimiento deficiente en el modelo murino
MST	<ul style="list-style-type: none"> - No se requiere generación de embriones - El huso tiene pocas mitocondrias circundantes (baja transferencia) <p>Gran cantidad de artículos con buenos resultados</p>	<ul style="list-style-type: none"> - El huso meiótico es difícil de visualizar (no está rodeado por membrana) - Posibilidad de no transferir un cromosoma disperso en el citoplasma (frecuente en ovocitos mujeres de edad avanzada) - El huso es sensible a la micromanipulación (activación prematura de la maduración)
PNT	<ul style="list-style-type: none"> - Los pronúcleos resisten la micromanipulación - Los pronúcleos son fácilmente visibles al microscopio (están rodeados por una membrana) - Gran número de publicaciones 	<ul style="list-style-type: none"> - Generación y destrucción de un embrión (cigoto donante) - La tasa de transferencia depende del operador (el citoplasma que rodea al pronúcleo es rico en mitocondrias)
PB1T	<ul style="list-style-type: none"> - No se requiere generación de embriones - Transferencia mínima - Fácil manipulación de PB1 (asilado en una membrana) - Posibilidad de combinar con MST (rescate de óvulos maternos) 	<ul style="list-style-type: none"> - Posibles diferencias epigenéticas entre los genomas de PB1 y de ovocitos - Falta de publicaciones
PB2T	<ul style="list-style-type: none"> - Transferencia mínima - El PB2 es fácil de manipular (aislado en una membrana) - Posibilidad de combinar con PNT (rescate de óvulos maternos) 	<ul style="list-style-type: none"> - Generación y destrucción de un embrión (cigoto donante) - Posibles diferencias epigenéticas entre los genomas PB2 y de ovocitos - Falta de publicaciones - Poca eficacia: es difícil distinguir el pronúcleo femenino en los cigotos humanos

En el año 2023, se desarrollaron diversas técnicas innovadoras y perfeccionadas de TRM, específicamente aplicadas al huso meiótico y al segundo corpúsculo polar. Estas técnicas permiten la extracción precisa del citoplasma materno circundante al huso sin comprometer la integridad de la membrana celular ni requerir una segunda extracción citoplasmática durante la transferencia del segundo corpúsculo polar. En comparación con los enfoques tradicionales, estas técnicas avanzadas reducen de manera significativa el arrastre inicial de ADNmt materno, lo cual disminuye considerablemente la interferencia genética y mitiga los riesgos asociados a la inestabilidad cromosómica y al daño del ADN. El principio objetivo de estas novedosas técnicas es minimizar la transferencia de ADNmt residual hacia el ovocito o cigoto reconstruido, de manera que, incluso en presencia de deriva genética posterior, no se alcance un nivel clínicamente relevante de heteroplasmia para la aparición de enfermedades mitocondriales (24).

5.4.6 ASPECTOS BIOÉTICOS DE TRM Y REGULACIÓN EN ESPAÑA

Las técnicas de reemplazo mitocondrial requieren la manipulación de gametos humanos, de manera comparable a los métodos utilizados en la clonación. Debido a esta similitud, el posible uso clínico de estas técnicas ha suscitado preocupaciones y debates desde perspectivas éticas, religiosas y legales. Existe un consenso científico a nivel mundial que se opone a las modificaciones genéticas en la línea germinal. Esta postura se basa principalmente en que cualquier alteración genética realizada en estas células sería heredada por las siguientes generaciones, lo que podría acarrear consecuencias imprevisibles. Sin embargo, el concepto de terapia génica germinal suele referirse específicamente a modificaciones en el genoma nuclear, no en el ADNmt, de esta forma quienes respaldan las MRT argumentan que, aunque las MRT implican cambios heredables, no constituyen una intervención directa en la línea germinal, ya que no modifican el ADNn, sino que modifican el ADNmt. Otro de los argumentos que exponen es que actualmente, no hay una cura disponible para las enfermedades mitocondriales. Los tratamientos existentes se centran únicamente en aliviar los síntomas y ofrecer cuidados de apoyo. Desde el punto de vista de las mujeres portadoras de mutaciones en el ADN mitocondrial, así como de los profesionales de la salud especializados en este tipo de trastornos, el uso de las MRT con el objetivo de evitar la transmisión de ADNmt defectuoso a la descendencia se considera éticamente justificado (26).

La TRM es una técnica con gran debate social y científico desde el punto de vista bioético, lo que le lleva a no ser legal de manera uniforme a nivel del mundo. Países europeos como Alemania, es una práctica prohibida a día de hoy. En cambio, en otros países europeos como España, Grecia o incluso Ucrania es una práctica permitida, lo que lleva a estos países a recibir el conocido “viaje médico” con el objetivo de recibir estas técnicas. México fue parte del primer nacimiento vivo de un niño concebido a través del MST para evitar una enfermedad del ADNmt. Ucrania se hizo famosa porque allí tuvo lugar el primer nacimiento vivo de un niño concebido a través de la PNT como parte de un tratamiento de infertilidad. Y es importante tener en cuenta a España y Grecia porque el primer nacimiento vivo de un niño concebido a través de MST como parte de un tratamiento de infertilidad ocurrió en Grecia, después de una empresa conjunta entre científicos y médicos españoles y griegos (28).

6. CONCLUSIONES

- Las enfermedades mitocondriales constituyen un grupo heterogéneo de patologías multisistémicas, caracterizadas por defectos en la producción de energía celular, debido a mutaciones tanto en el ADN mitocondrial como en el nuclear, lo que genera una amplia variabilidad clínica y fenotípica.
- Las opciones terapéuticas actuales son principalmente sintomáticas y paliativas, centradas en mejorar la calidad de vida de los pacientes mediante tratamientos antioxidantes, suplementos vitamínicos, dietas específicas y medidas de soporte, careciendo en la actualidad de tratamientos curativos eficaces.
- Las terapias antioxidantes dirigidas a mitocondrias han mostrado potencial en la reducción del estrés oxidativo y la protección celular, especialmente mediante el uso de compuestos diseñados para acumularse selectivamente en las mitocondrias, como MitoQ, MitoVit E o mediante sistemas de transporte innovadores como liposomas dirigidos y péptidos mitotrópicos.
- El desarrollo de nuevos fármacos orientados a activar rutas de compensación mitocondrial, como la UPRmt, la activación de PGC-1 α y la modulación de los niveles de NAD⁺, abre nuevas posibilidades terapéuticas al favorecer la biogénesis mitocondrial y la restauración del equilibrio metabólico celular, con moléculas como el KL1333 o cócteles como CoC3 mostrando resultados preclínicos prometedores.
- Las estrategias emergentes basadas en la ingeniería mitocondrial, mediante herramientas de edición génica específicas para ADNmt, como mitoTALENs, mitoZFNs o editores de bases, ofrecen la posibilidad de corregir mutaciones a nivel mitocondrial de manera precisa, aunque su aplicación clínica enfrenta aún importantes desafíos técnicos, regulatorios y de bioseguridad.
- La terapia de reemplazo mitocondrial (TRM) constituye una de las estrategias más innovadoras y controvertidas en el abordaje preventivo de las enfermedades mitocondriales de origen materno. Mediante diversas técnicas, como la transferencia del huso meiótico, la transferencia pronuclear o la transferencia del cuerpo polar, es posible evitar la transmisión de mutaciones patogénicas en el ADNmt a la descendencia, permitiendo el nacimiento de individuos libres de la enfermedad. Aunque la TRM no está concebida como una terapia curativa en individuos afectados, representa una poderosa herramienta de prevención a nivel germinal, abriendo nuevas posibilidades en el ámbito de la medicina reproductiva. No obstante, persisten importantes desafíos

técnicos, como el riesgo de heteroplasmia residual y la complejidad en la manipulación embrionaria, así como controversias bioéticas y legislativas que requieren un debate profundo y una regulación clara antes de su implementación clínica generalizada

- En conjunto, las terapias dirigidas a las enfermedades mitocondriales se encuentran en una etapa de transición hacia enfoques más innovadores, combinados y personalizados, que integren terapias farmacológicas, génicas y celulares, lo que supone un cambio de paradigma en el abordaje de estas patologías. Es esencial continuar impulsando la investigación básica, así como el desarrollo de ensayos clínicos controlados, que permitan validar la seguridad y eficacia de estas nuevas estrategias terapéuticas, contribuyendo así a ofrecer soluciones efectivas y duraderas a los pacientes con enfermedades mitocondriales.

7. BIBLIOGRAFIA

1. Arboleda G, Sánchez RM. Mitocondria y muerte celular. Nova [Internet]. 15 de diciembre de 2008; 6(10):190. Disponible en: https://www.academia.edu/96407132/Mitocondria_y_muerte_celular
2. Moreno OG, Novo FJ. Importancia del genoma mitocondrial humano en Medicina. Rev Med Univ Navarra [Internet]. 4 de mayo de 2001; 29-42. Disponible en: <https://revistas.unav.edu/index.php/revista-de-medicina/article/view/6790>
3. Villarroya JM, López-Gallardo E, Ortiz SE. Diagnóstico genético de enfermedades metabólicas producidas por alteración del ADN mitocondrial. Couce Pico ML, Aldámiz-Echevarría L, García Jiménez MC, González-Lamuño Leguina D, editores. Diagnóstico y tratamiento de las enfermedades metabólicas hereditarias, 2021, ISBN 978-84-18576-47-8, págs 647-663 [Internet]. 2021; 647-63. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=9853970>
4. Montoya J, López-Gallardo E, Emperador S, Ruiz-Pesini E. CAPÍTULO VII Enfermedades del ADN mitocondrial.
5. Enríquez JA. Supramolecular Organization of Respiratory Complexes. Annu Rev Physiol [Internet]. 10 de febrero de 2016; 78:533-61. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26734886/>
6. Olvera-Sánchez S, Gómez-Chang E, Flores-Herrera O, Martínez F. Las mitocondrias: sus funciones, las relaciones con otros organelos, la supervivencia celular y la medicina mitocondrial. TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas. 25 de abril de 2023;26.
7. Chinnery PF. Primary Mitochondrial Disorders Overview. GeneReviews® [Internet]. 1993; Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20301403/>
8. García Silva MT, Quijada Fraile P, Martín Hernández E, Morales Conejo M, Pineda Marfá M, Martín Casanueva MA. Protocolo de diagnóstico y tratamiento de las enfermedades mitocondriales. Protocolos de diagnóstico y tratamiento de los errores congénitos del metabolismo, 2018, ISBN 978-84-16732-98-2, págs 181-204 [Internet]. 2018; 181-204. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=9174524>
9. Puñal JE, Lado CG, Blanco Barca MO, Castro-Gago M. INTRODUCCIÓN Y ASPECTOS GENERALES Enfermedades mitocondriales [Internet]. Disponible en: www.aeped.es/
10. Jiang Q, Yin J, Chen J, Ma X, Wu M, Liu G, et al. Mitochondria-Targeted Antioxidants: A Step towards Disease Treatment. Oxid Med Cell Longev [Internet]. 2020; 2020:8837893. Disponible en: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7735836/>
11. Sheu SS, Nauduri D, Anders MW. Targeting antioxidants to mitochondria: A new therapeutic direction. Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis [Internet]. febrero de 2006; 1762(2):256-65. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16352423/>
12. Hirano M, Emmanuele V, Quinzii CM. Emerging therapies for mitochondrial diseases. Essays Biochem [Internet]. 20 de julio de 2018; 62(3):467-81. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29980632/>

13. Smith RAJ, Murphy MP. Mitochondria-targeted Antioxidants as Therapies. *Discov Med*. 7 de febrero de 2011;11(57):106-14. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21356165/>
14. Jacoby E, Bar-Yosef O, Gruber N, Lahav E, Varda-Bloom N, Bolquier Y, et al. Mitochondrial augmentation of hematopoietic stem cells in children with single large-scale mitochondrial DNA deletion syndromes. *Sci Transl Med [Internet]*. 21 de diciembre de 2022; 14(676). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36542693/>
15. Liu K, Zhou Z, Pan M, Zhang L. Stem cell-derived mitochondria transplantation: A promising therapy for mitochondrial encephalomyopathy. *CNS Neurosci Ther [Internet]*. 1 de julio de 2021; 27(7):733-42. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33538116/>
16. Chen C, Guan MX. Induced pluripotent stem cells: ex vivo models for human diseases due to mitochondrial DNA mutations. *J Biomed Sci [Internet]*. 1 de diciembre de 2023; 30(1). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37737178/>
17. Jacoby E, Ben Yakir-Blumkin M, Blumenfeld-Kan S, Brody Y, Meir A, Melamed-Book N, et al. Mitochondrial augmentation of CD34+ cells from healthy donors and patients with mitochondrial DNA disorders confers functional benefit. *NPJ Regen Med [Internet]*. 1 de diciembre de 2021; 6(1). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34561447/>
18. Suárez-Rivero JM, Pastor-Maldonado CJ, Romero-González A, Gómez-Fernandez D, Povea-Cabello S, Álvarez-Córdoba M, et al. Pterostilbene in Combination With Mitochondrial Cofactors Improve Mitochondrial Function in Cellular Models of Mitochondrial Diseases. *Front Pharmacol [Internet]*. 18 de marzo de 2022; 13. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35370630/>
19. Pekeles H, Berrahmoune S, Dassi C, Cheung ACT, Gagnon T, Waters PJ, et al. Safety and efficacy of deoxycytidine/deoxythymidine combination therapy in POLG-related disorders: 6-month interim results of an open-label, single arm, phase 2 trial. *EClinicalMedicine [Internet]*. 1 de agosto de 2024; 74. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39091670/>
20. Seo KS, Kim JH, Min KN, Moon JA, Roh TC, Lee MJ, et al. KL1333, a Novel NAD+ modulator, improves energy metabolism and mitochondrial dysfunction in MELAS fibroblasts. *Front Neurol [Internet]*. 5 de julio de 2018; 9(JUL). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30026729/>
21. Li M, Wu L, Si H, Wu Y, Liu Y, Zeng Y, et al. Engineered mitochondria in diseases: mechanisms, strategies, and applications. *Signal Transduct Target Ther [Internet]*. 1 de diciembre de 2025; 10(1). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/40025039/>
22. Tachibana M, Kuno T, Yaegashi N. Mitochondrial replacement therapy and assisted reproductive technology: A paradigm shift toward treatment of genetic diseases in gametes or in early embryos. *Reprod Med Biol [Internet]*. 1 de octubre de 2018; 17(4):421. Disponible en: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6194288/>

23. Sendra L, García-Mares A, Herrero MJ, Aliño SF. Mitochondrial dna replacement techniques to prevent human mitochondrial diseases. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2 de enero de 2021; 22(2):1-23. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33430493/>
24. Lyu Q, Zou W, Huang T. Recent advances in mitochondrial replacement therapy and its future expectations. *Clinical and Translational Discovery* [Internet]. 1 de febrero de 2025; 5(1):e70010. Disponible en: </doi/pdf/10.1002/ctd2.70010>
25. Gómez-Tatay L, Hernández-Andreu JM, Aznar J. Mitochondrial modification techniques and ethical issues. *J Clin Med* [Internet]. 1 de marzo de 2017; 6(3). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28245555/>
26. Sharma H, Singh D, Mahant A, Sohal SK, Kesavan AK, Samiksha. Development of mitochondrial replacement therapy: A review. *Heliyon* [Internet]. 1 de septiembre de 2020; 6(9). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32984570/>
27. Klopstock T, Klopstock B, Prokisch H. Mitochondrial replacement approaches: Challenges for clinical implementation. *Genome Med* [Internet]. 25 de noviembre de 2016; 8(1). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27887638/>
28. Cohen IG, Adashi EY, Gerke S, Palacios-Gonzaacutetelez C, Ravitsky V. The Regulation of Mitochondrial Replacement Techniques around the World. *Annu Rev Genomics Hum Genet* [Internet]. 31 de agosto de 2020; 21:565-86. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31961722/>