



## ARTÍCULO DE REVISIÓN

Vol. 37. No. 4 Octubre-Diciembre 2014  
pp 283-296

## Las mitocondrias como blanco terapéutico

Dr. Pastor Luna-Ortiz,\* Dr. Pedro Flores-Chávez,\*\* Dr. Martín Martínez-Rosas\*\*\*

\* Departamento de Farmacología.

\*\* Departamento de Instrumentación Electromecánica.

\*\*\* Departamento de Fisiología.

Instituto Nacional de Cardiología «Ignacio Chávez».

*Solicitud de sobretiros:*

Dr. Martín Martínez-Rosas

Departamento de Fisiología

Instituto Nacional de Cardiología

«Ignacio Chávez», México, D.F.

Juan Badiano Núm. 1

Col. Sección 16, 14080, México, D.F.

E-mail: martin5163@hotmail.com

Recibido para publicación: 17-10-2014.

Aceptado para publicación: 12-11-2014.

Este artículo puede ser consultado en versión completa en

<http://www.medigraphic.com/rma>

### RESUMEN

Las mitocondrias tienen un importante papel en la producción de energía en las células. Además de sus bien conocidos papeles en la fosforilación oxidativa y en el metabolismo, ahora es claro que las mitocondrias son centrales en la muerte celular, neoplasias, en la diferenciación celular, en el sistema inmune innato, en la detección de los niveles de oxígeno y de la hipoxia y en el metabolismo del calcio. Estos organelos están siendo progresivamente reconocidos como elementos clave en muchas áreas de la ciencia biomédica. La alteración de cualquiera de los papeles funcionales de las mitocondrias contribuye a diversas patologías, por lo que hace de este organelo un blanco terapéutico potencialmente importante, aunque no considerado así hasta recientemente. La disfunción mitocondrial está a menudo asociada con el daño oxidativo, la alteración en la homeostasis de calcio, defectos en la síntesis de ATP o con la inducción del poro de la transición de la permeabilidad. Consecuentemente, las terapias diseñadas para prevenir este tipo de daños son benéficas en diversos padecimientos que incluso podrían parecer no relacionados. En esta revisión resaltamos las propiedades biológicas que hacen a la mitocondria elemento determinante de la salud y de la enfermedad. Además se describen las posibles estrategias farmacológicas que están siendo desarrolladas e incluso, algunas que ya se aplican en los seres humanos para corregir la disfunción mitocondrial. La mitocondria considerada como un blanco terapéutico junto con los compuestos que ya se usan para corregir su disfunción daría lugar a lo que llamaríamos farmacología mitocondrial, la cual es una disciplina muy prometedora con un enorme potencial para nuevos abordajes terapéuticos con implicaciones en múltiples patologías.

**Palabras clave:** Mitocondria, farmacología, disfunción mitocondrial, biogénesis mitocondrial.

### SUMMARY

*Mitochondria have an important role in energy production in cells. In addition to their well known roles in oxidative phosphorylation and metabolism, it is now clear that the mitochondria are also central to cell death, neoplasia, cell differentiation, and the innate immune system, for detecting levels of oxygen and hypoxia and calcium homeostasis. These organelles are increasingly being recognized as key elements in many areas of biomedical science. The disruption of any of the functional roles of mitochondria contributes to diseases, so this organelle turns on a potentially important therapeutic target apparently not considered until recently. Mitochondrial dysfunction is often associated with oxidative damage, alterations in calcium homeostasis and defects in the synthesis of ATP or induction of the permeability transition pore. Thus, therapies designed to prevent this type of damage are beneficial in various conditions that may even seem unrelated. In this review we highlight the biological properties that make mitochondria determinants of health and disease. Besides the possible pharmacological strategies*

being developed and even some that are already applied in humans to influence mitochondrial dysfunction and restore function are described. Mitochondria as a therapeutic target would result in what it has been called mitochondrial pharmacology and represent a promising discipline with enormous potential for new therapeutic approaches with implications in many diseases.

**Key words:** Mitochondria, pharmacology, mitochondrial dysfunction, mitochondrial biogenesis.

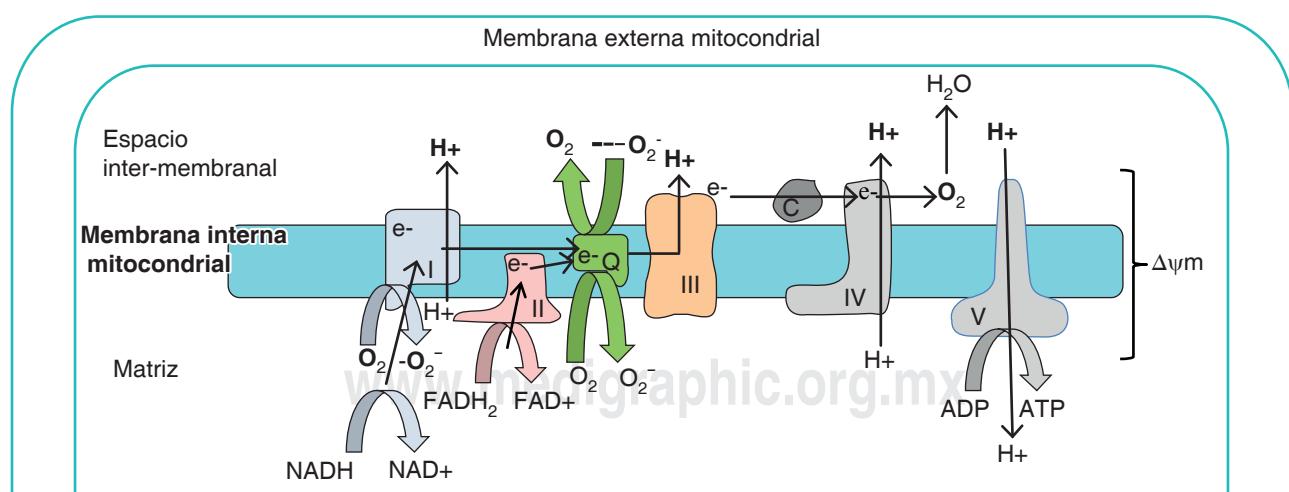
## INTRODUCCIÓN

Las mitocondrias son organelos celulares que se consideran la parte central del metabolismo energético en el ser humano. Estos organelos albergan a las enzimas y dan soporte estructural a los siguientes procesos: en la membrana interna, a la fosforilación oxidativa, en la matriz mitocondrial, al ciclo de Krebs, a la oxidación de los ácidos grasos y a la biosíntesis del centro catalítico hierro-azufre de varias enzimas, así como a la síntesis del grupo hemo y parte del metabolismo de los aminoácidos<sup>(1-4)</sup> (Figura 1). Además de su papel energético, las mitocondrias son fundamentales en el proceso de muerte celular apoptosis y se encargan de modular los flujos de calcio a través de la célula<sup>(1,5)</sup>. En particular, las mitocondrias producen el anión superóxido, una de las especies reactivas de oxígeno responsable de la señalización óxido-reducción y que forma parte del mecanismo de detección de la hipoxia; este anión participa, además, de manera importante en la diferenciación celular y en la inmunidad innata<sup>(6-8)</sup>. Con todos estos papeles funcionales, las mitocondrias se convierten en un elemento clave del metabolismo celular y de diversos procesos que se alteran en algunas enfermedades. En esta revisión abordamos la estrategia propuesta recientemente que

considera a las mitocondrias como un blanco farmacológico en diversas patologías. En la primera parte se describen los tipos de disfunciones mitocondriales, la primaria y la secundaria; en la segunda parte se analizan las posibles estrategias farmacológicas que buscan ser selectivas para las mitocondrias y corregir las disfunciones en este organelo.

## Fisiología celular de las mitocondrias

Las mitocondrias son conocidas principalmente por su papel generador de energía en las células (Figura 1). Estos organelos están involucrados, además, en otros procesos celulares que incluyen la apoptosis y la homeostasis de calcio (Figura 2). Estas funciones dependen de su correcto ensamblaje, su mantenimiento y su dinámica. El ensamblaje mitocondrial es la génesis de la estructura mitocondrial mediante la síntesis de las proteínas que la constituyen; la importación de estas proteínas desde el citoplasma y su correcto acoplamiento darán lugar a la estructura del organelo (Figura 2). El ensamblaje mitocondrial es un proceso complejo y altamente regulado. Las mitocondrias tienen su propio DNA (DNAmit) que codifica para 37 genes necesarios para el ensamblaje de la maquinaria de la fosforilación oxidativa en su membrana



**Figura 1.** La cadena respiratoria mitocondrial y la fosforilación oxidativa. El papel central de la mitocondria es la síntesis de ATP por la fosforilación oxidativa. Estos procesos se llevan a cabo en la membrana interna mitocondrial en los cuatro complejos y la sintasa de ATP.

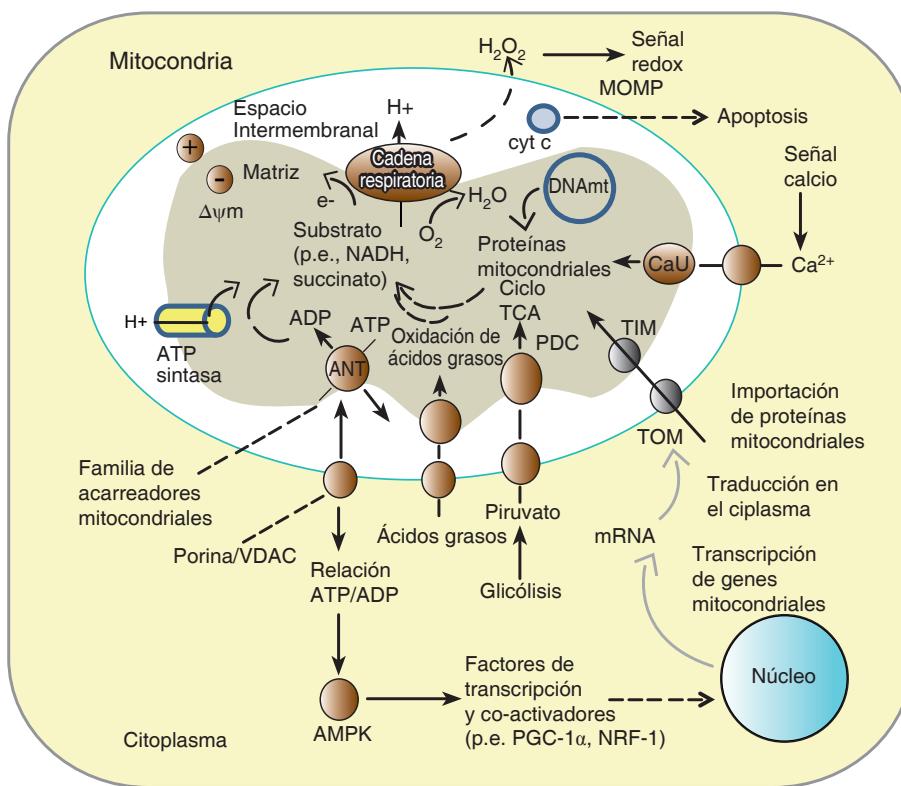


Figura 2.

La función y biogénesis mitocondrial. La biogénesis es fundamental para diversos procesos regulatorios en la célula. VDAC = *voltage-dependent anion channel*, AMPK = *AMP-dependent kinase*, ANT = *Adenine Nucleotide translocase*, MOMP = *Mitochondrial outer membrane permeabilization*. Modificado de: Smith RAJ, Hartley RC, Cocheme HM, and Murphy MP. Mitochondrial pharmacology. *Trends in Pharmacological Sciences* 2012; 33:341-352.

interna<sup>(1)</sup> (Figura 2). La mayoría de las otras proteínas mitocondriales, que son aproximadamente 1500, son codificadas por genes nucleares traducidos en el citoplasma y luego importadas hacia la mitocondria<sup>(9)</sup> (Figura 2). Este origen dual de las proteínas mitocondriales requiere una fina coordinación entre el genoma nuclear y el genoma mitocondrial, además de la importación de cofactores, algunos metales y fosfolípidos hacia las mitocondrias.

El mantenimiento y dinámica de las mitocondrias también es un proceso complejo. Las mitocondrias no son estáticas, sino organelos con una tasa de recambio continuo. Por un lado, no presentan una posición fija dentro de las células, sino que se mueven constantemente en un movimiento coordinado por el citoesqueleto. Por otro lado, las mitocondrias cambian en número llevando a cabo procesos de fusión (unión de dos mitocondrias) y fisión (división de una mitocondria en dos), lo cual está íntimamente vinculado a los procesos de apoptosis (muerte celular programada) y a la remoción de las mitocondrias disfuncionales<sup>(10,11)</sup>. De esto último se desprende el concepto de «biogénesis mitocondrial» que se puede definir como el crecimiento y división de mitocondrias preexistentes<sup>(10,11)</sup>. La biogénesis de las mitocondrias se acompaña de variaciones en el tamaño, número y masa mitocondrial. Este proceso se activa bajo estrés ambiental como el ejercicio, la exposición al frío, la restricción calórica, el estrés oxidativo, la división y diferenciación celular. El descubrimiento de que

las alteraciones en la biogénesis mitocondrial contribuyen a patologías cardíacas como la insuficiencia cardíaca o la hipertrofia cardíaca ha despertado el interés en este proceso y su regulación.

El mantenimiento o recambio mitocondrial es un proceso continuo e importante en la restitución de las mitocondrias que llegan a dañarse. La alteración puede suceder en alguna de sus moléculas constituyentes que al cambiar su estructura pierden su función y son degradadas por enzimas intramitocondriales especializadas. Cuando el daño es extendido y las mitocondrias dañadas no pueden ser reparadas, éstas son degradadas. La degradación se lleva a cabo por la misma mitocondria en un proceso conocido como autofagia, que puede ser de manera generalizada (autofagia generalizada) o más selectiva (mitofagia dirigida)<sup>(10-12)</sup>. La biogénesis y el recambio mitocondrial son procesos regulados y controlados por múltiples factores de transcripción y coactivadores transcripcionales. En particular resalta el papel del coactivador 1α de uno de los receptores nucleares llamados «receptores activados por proliferadores de peroxisomas» (PPARs). Los PPARs pertenecen a una superfamilia de receptores que funcionan como factores de transcripción que regulan la expresión génica e intervienen en importantes procesos como la diferenciación celular, el desarrollo de órganos y tejidos, el metabolismo de carbohidratos, lípidos y proteínas y en la tumorigénesis<sup>(13)</sup>.

Existen varios tipos de PPARs:  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\gamma$ . El coactivador 1 $\alpha$  del PPAR  $\gamma$  (PGC-1 $\alpha$ ) se considera el «maestro» regulador de la biogénesis mitocondrial y capacita a la mitocondria para responder a cambios en la demanda metabólica a largo plazo, además es importante en diversos procesos patológicos<sup>(14)</sup>. La disminución severa de la energía celular y la disminución en la actividad o expresión de la transcripción del PGC-1 $\alpha$  son marcas distintivas de la disfunción cardíaca. Estas condiciones representan una alteración severa del metabolismo energético que lleva, en consecuencia, a la disfunción contrátil del corazón. Diversas rutas de señalización están involucradas en la biogénesis mitocondrial, que a su vez están involucradas directamente con el metabolismo energético cardíaco. El eje del PGC-1 $\alpha$  constituye un eje fundamental de regulación de la energía misma de las células cardíacas y puede ser visto como un blanco terapéutico en los desórdenes metabólicos en general y en la falla cardíaca en particular.

La alteración tanto en el ensamblaje, como en el recambio y en función mitocondrial contribuye a patologías diversas generando la necesidad de terapias. En esta revisión resaltamos los puntos y oportunidades que surgen al considerar a las mitocondrias como un blanco terapéutico para intervenciones moleculares.

### Disfunción mitocondrial

La disfunción mitocondrial es la alteración de cualquiera de los papeles funcionales previamente descritos para las mitocondrias no respondiendo a las necesidades celulares en cualquier momento del desarrollo o de la actividad celular normal. La disfunción mitocondrial se puede dividir en dos tipos: primaria y secundaria. La disfunción primaria se caracteriza por una mutación en un gen codificado por el DNA mitocondrial, una mutación en un gen codificado por el núcleo para una proteína mitocondrial o por una mutación inducida por una toxina que actúa selectivamente en la mitocondria. Un ejemplo de esta categoría es el síndrome MELAS (encefalomiopatía mitocondrial, acidosis láctica acompañada de episodios parecidos a un accidente cerebrovascular)<sup>(15)</sup>. Esta enfermedad se genera por una mutación en el gen mitocondrial MT-TL1 (*mitochondrially encoded tRNA leucine 1, UUA/G*). MT-TL1 es un RNA de transferencia en humanos compuesto de 75 nucleótidos (posición 3230-3304 en el mapa mitocondrial humano) que transfiere el aminoácido leucina a la cadena polipeptídica en crecimiento, en el ribosoma durante la traducción<sup>(15)</sup>. Como todas las enfermedades mutacionales mitocondriales se trasmite a través de la madre a todos sus hijos, ya que el óvulo es el que aporta las mitocondrias al embrión.

El síndrome MELAS está asociado, además, con diabetes mellitus y con sordera. Esta disfunción mitocondrial primaria lleva a un ensamblaje defectuoso de los complejos de la fosforilación oxidativa y, en consecuencia, a defectos en el

metabolismo energético en el sistema neuromuscular<sup>(15)</sup>. Otra disfunción mitocondrial primaria es la neuropatía óptica hereditaria de Leber (NOHL) o atrofia óptica de Leber, ésta es una degeneración de las células ganglionares de la retina y sus axones, heredada mitocondriamente y que lleva a una pérdida aguda o subaguda de la visión central<sup>(16)</sup>. Ello afecta predominantemente a varones adultos jóvenes quienes no transmiten la enfermedad a sus hijos. Las mutaciones tienen efecto en los genes MT-ND1, MT-ND4, MT-ND4L y MT-ND6, los cuales se encuentran en una región altamente conservada de la subunidad de la NADH deshidrogenasa de la cadena respiratoria, por lo que el metabolismo energético de las células está alterado<sup>(16)</sup>. Aún no se conoce por qué estos cambios genéticos causan la muerte celular en el nervio óptico en particular; se cree que algunos factores epigenéticos están involucrados. Otra enfermedad con disfunción mitocondrial primaria es el síndrome de epilepsia mioclónica asociada con fibras rojas rasgadas, denominado breviadamente como síndrome MERRF (*myoclonic epilepsy with ragged red fibers*). N. Fukuhara y cols.<sup>(17)</sup> la describieron por primera vez en 1980, en dos pacientes que mostraban convulsiones generalizadas, problemas mentales, atrofia muscular y deformación de los pies. En la biopsia muscular se encontraron fibras rojas rasgadas<sup>(17)</sup>. En esta enfermedad las mutaciones suceden en el RNA de transferencia mitocondrial, siendo las más importantes las que codifican para la fenilalanina, lisina y prolina que presentan cambios G por A o bien, C por T, lo que produce una alteración en la producción de proteínas mitocondriales que componen a los complejos de la cadena respiratoria, cuya eficacia se verá disminuida.

Las mutaciones en los genes nucleares que codifican las proteínas mitocondriales también llevan a un amplio rango de defectos mitocondriales<sup>(18-20)</sup>. Un ejemplo de éstos es un defecto neonatal en el metabolismo energético debido a la mutación en un gen nuclear que codifica a NDUFAF3, un factor de ensamblaje para el complejo I de la cadena respiratoria<sup>(21,22)</sup>. También, las mutaciones de los genes mitocondriales codificados por el núcleo pueden alterar otros aspectos de la mitocondria, además de la fosforilación oxidativa, como alteraciones en el ensamblaje, en la dinámica y en la función metabólica de las mitocondrias<sup>(18-20)</sup>.

La disfunción mitocondrial secundaria es causada por eventos patológicos que se originan fuera de las mitocondrias. Por ejemplo, en el daño por isquemia/reperfusión el evento inicial es la interrupción y el subsecuente reflujo del aporte sanguíneo; esto lleva a una alteración mitocondrial extensa que produce daño al tejido<sup>(23)</sup>. Otros desórdenes en los que el daño mitocondrial secundario juega un papel significativo incluyen a la sepsis, la neurodegeneración, el síndrome metabólico, el trasplante de órganos, cáncer, las enfermedades autoinmunes y a la diabetes<sup>(1,24)</sup>. Hasta donde podemos visualizar, las mitocondrias representan un blanco importante para

la intervención terapéutica aun cuando el daño al organelo no es el evento patológico inicial<sup>(24)</sup>.

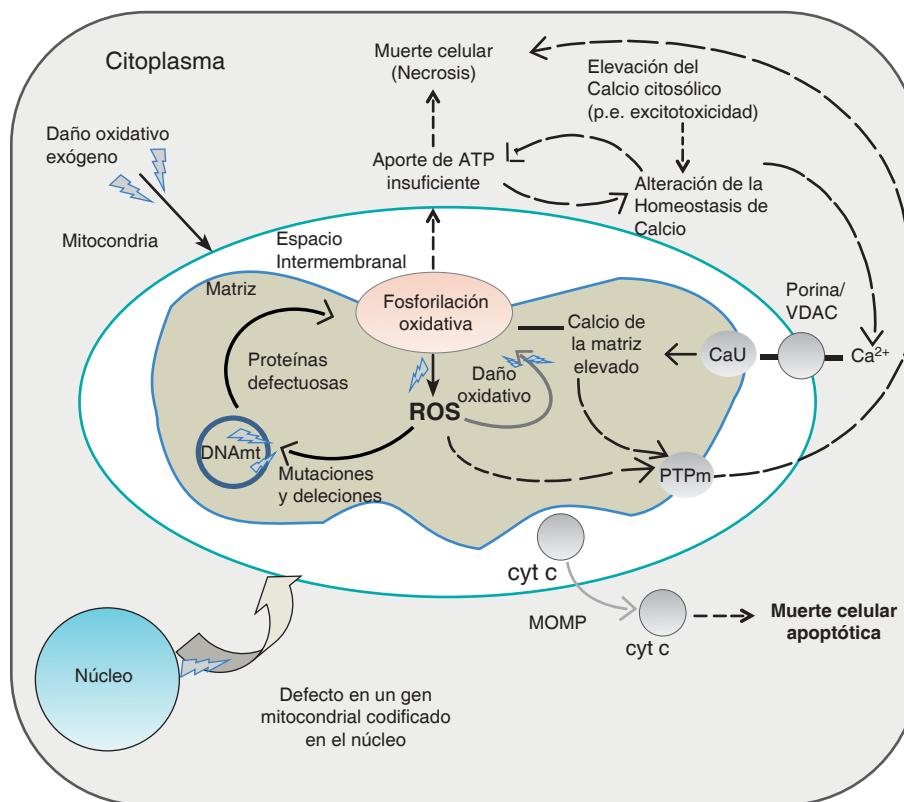
Las enfermedades debidas a la disfunción mitocondrial primaria son generalmente raras, sin embargo, en la actualidad el diagnóstico ha mejorado y ahora es evidente que las mutaciones en el DNA mitocondrial pueden producir enfermedades hasta 1 en 5,000 de la población general<sup>(25)</sup>. La prevalencia acumulada de los desórdenes que se deben a la disfunción mitocondrial primaria no se conoce aún, en parte por la diversidad de sus presentaciones clínicas, y es probable que muchas de ellas aún no se descubran<sup>(18-20)</sup>. Por el contrario, muchos de los desórdenes que involucran la disfunción mitocondrial secundaria, incluyendo el daño cardíaco por isquemia/reperfusión, el síndrome metabólico, las complicaciones de la diabetes y las enfermedades neurodegenerativas se encuentran entre los desórdenes más significativos de las sociedades en desarrollo. De esta manera existe una necesidad aún no satisfecha para tratar la disfunción mitocondrial, tanto primaria, como secundaria. En particular la disfunción mitocondrial secundaria tiene un gran potencial para impactar en diversas condiciones patológicas comunes.

La tarea de corregir los desórdenes mitocondriales primarios constituye un gran reto farmacológico. El caso de la deficiencia de la coenzima Q (CoQ) debida a un defecto en su biosíntesis es una excepción, ya que el aporte de CoQ a

través de la dieta alivia la enfermedad<sup>(26)</sup>. Sin embargo, en la mayoría de los casos es probable que un tratamiento efectivo o una cura requieran remplazo o supresión del gen defectuoso; ello podría ser posible para genes nucleares, pero el prospecto de terapias génicas efectivas para las enfermedades del DNAmit son aún distantes<sup>(27)</sup>. De esta manera la mayoría de las intervenciones farmacológicas en esta área intentan aliviar las consecuencias del efecto primario, más que dirigirse a la causa de la disfunción<sup>(26)</sup>.

La situación terapéutica es diferente para diversas enfermedades que involucran disfunciones mitocondriales secundarias, donde los tratamientos no están diseñados para afectar a la mitocondria directamente. Considerando esta situación, se podría pensar que hay un panorama desalentador, ya que se requerirían distintos fármacos para cada enfermedad. Afortunadamente este no es el caso, ya que existen patrones comunes a nivel de la alteración celular tanto en enfermedades mitocondriales primarias, como en secundarias, a pesar de tener diversas causas. La farmacología mitocondrial es un objetivo posible, ya que las terapias que impactan sobre unas cuantas rutas metabólicas o de señalización alteradas pueden corregirse y así tratar a pacientes con un amplio rango de desórdenes mitocondriales primarios y secundarios.

Existen tres aspectos del daño mitocondrial que comúnmente contribuyen a las patologías mitocondriales primarias



**Figura 3.**

Disfunción mitocondrial. La alteración de la función mitocondrial puede producirse por los eventos primarios como la mutación de genes mitocondriales o nucleares. La disfunción secundaria puede producirse por causas externas a las mitocondrias como el estrés oxidativo aumentado, la alteración de la homeostasis del calcio y las alteraciones en la síntesis de ATP. Frecuentemente esto ocurre como eventos combinados. Modificado de: Smith RAJ, Hartley RC, Cocheme' HM. and Murphy MP. Mitochondrial pharmacology. Trends in Pharmacological Sciences 2012; 33:341-352.

y secundarias, a saber: daño oxidativo, la alteración en la homeostasis de calcio y la alteración en la síntesis de ATP con un aporte insuficiente (Figura 3). La cadena respiratoria mitocondrial (Figura 1) es una fuente importante de superóxido que a su vez forma peróxido de hidrógeno y otras especies reactivas de oxígeno dañinas<sup>(6)</sup>. La producción del anión superóxido se incrementa en muchos escenarios patológicos y las mitocondrias son particularmente vulnerables al daño oxidativo, debido a que el organelo contiene diversos centros hierro-azufre, además de que una gran extensión de la membrana interna contiene ácidos grasos no saturados, proteínas empacadas densamente y moléculas de DNAmi que son esenciales para la función mitocondrial; todas ellas son susceptibles de reaccionar con los ROS derivados del anión superóxido (Figura 3).

El daño oxidativo a la mitocondria altera la función del organelo y favorece la muerte celular, por lo que el daño por ROS contribuye a diversas patologías como la sepsis, el deterioro de un órgano transplantado, daño por isquemia/reperfusión, las complicaciones diabéticas y también las enfermedades neurodegenerativas<sup>(1,6)</sup>. La síntesis de ATP mitocondrial alterada por daño a la cadena respiratoria y el daño a la membrana interna de la mitocondria o daño a la maquinaria de síntesis de ATP contribuyen a la muerte y disfunción celular<sup>(1)</sup>. El aporte de ATP mitocondrial defectuoso lleva también a la alteración de la homeostasis de calcio, ya que se altera la actividad de la bomba de calcio tanto en el retículo endoplásmico/sarcoplásmico, como en la membrana plasmática, lo que permite que los niveles de calcio citosólico aumenten sobre el rango de señalización normal que está entre 1 y 2  $\mu\text{M}$ <sup>(5)</sup>. La captación de calcio hacia la mitocondria a través del uniportador de calcio como respuesta a los incrementos en el calcio citosólico es un mecanismo de protección celular; sin embargo, elevaciones de calcio sostenidas llevan a una acumulación de calcio dañina y crónica dentro de la mitocondria. El daño oxidativo, la síntesis alterada de ATP y la alteración de la homeostasis de calcio frecuentemente ocurren juntas, y como cada uno de estos tipos de daño por sí mismo lleva a los otros dos, entonces se establece un círculo vicioso (Figura 3). Finalmente, el daño oxidativo mitocondrial, la depleción de ATP y la sobrecarga de calcio juntos inducen la apertura del poro de la transición de la permeabilidad mitocondrial (PTPm)<sup>(28)</sup>. Este fenómeno consiste en la formación de un poro en la membrana interna que produce edema y alteración de la función de este organelo<sup>(28)</sup> (Figura 3).

El papel fisiológico del PTPm y su composición aún no se conocen, sin embargo, es claro que contribuye a diversas patologías tales como el daño por isquemia/reperfusión que es uno de los fenómenos más estudiados<sup>(28)</sup>. Se sabe, por ejemplo, que durante el proceso de daño por reperfusión la formación del PTPm requiere la participación de la ciclofilina D, una enzima de tipo peptidilprolil isomerasa *cis-trans* de la

matriz mitocondrial; es decir, isomeriza los enlaces peptídicos desde el estado *trans* al *cis*, lo que facilita el plegamiento de proteínas y, por tanto, la estructura funcional del PTPm<sup>(28)</sup>.

Esta constelación de efectos tóxicos constituidos por el daño oxidativo, la alteración de la homeostasis de calcio, la alteración en la síntesis de ATP y la inducción del PTPm se presenta en diversas disfunciones mitocondriales primarias y secundarias. Consecuentemente las intervenciones terapéuticas dirigidas a disminuir estos procesos se pueden aplicar a muchas condiciones patológicas diferentes. Esto es contrario al modelo usual de desarrollo de medicamentos, donde un blanco proteínico bien definido que está vinculado a una sola condición patológica específica pueda ser modulado de manera precisa por una molécula pequeña, unida selectivamente. La visión actual es la intervención terapéutica en los procesos de daño general a nivel celular y esto es esencial para que la farmacología mitocondrial alcance su máximo potencial.

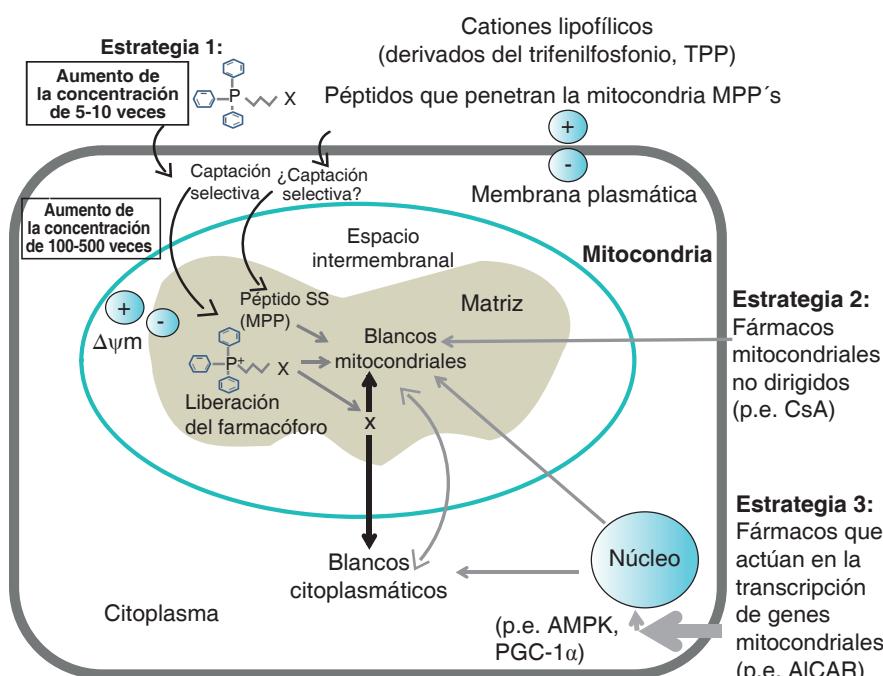
### Estrategias para la farmacología mitocondrial

Existen tres estrategias para la farmacología mitocondrial (Figura 4)<sup>(4,29)</sup>. La primera es sintetizar moléculas que se acumulen dentro de la mitocondria de manera selectiva. La segunda estrategia es usar moléculas que se unan a blancos dentro de la mitocondria. Esta estrategia se basa en la localización del blanco para obtener la especificidad del efecto. El tercer abordaje es modular los procesos fuera de la mitocondria que finalmente impacten positivamente en la función mitocondrial.

#### Dirigiendo moléculas bioactivas a las mitocondrias

En esta primera estrategia ya se han desarrollado cationes lipofílicos y péptidos dirigidos a las mitocondrias que se han usado como moléculas bioactivas y que se dirigen hacia las mitocondrias *in vivo* (Figura 4)<sup>(4,29,30)</sup>. Estas estrategias llevan a una concentración dramáticamente más alta del compuesto en cuestión dentro de las mitocondrias, lo que incrementa grandemente su potencia y permite que se use menor cantidad del compuesto. Esto lleva a minimizar el metabolismo extra mitocondrial que podría llevar a la inactivación del fármaco, a su excreción o a desarrollar efectos secundarios tóxicos. Esta estrategia de entrega del fármaco también capacita a moléculas que usualmente son pobremente captadas por las mitocondrias para que se dirijan a las mitocondrias; dicha estrategia se logra cambiando la hidrofobicidad de la molécula, por ejemplo.

Una limitación es que estos procedimientos típicamente involucran químicos que tienden a localizarse hacia la matriz mitocondrial y hacia la superficie del lado de la matriz de la membrana interna. Por otro lado, existen procesos que se llevan a cabo en la superficie externa de la membrana interna, en el espacio intermembranal y en la membrana externa de

**Figura 4.**

Las tres estrategias para intervención farmacológica de la disfunción mitocondrial. La primera consiste en dirigir compuestos a las mitocondrias mediante su conjugación a un cation lipofílico (TPP), lo que lleva a una captación selectiva de la parte molecular bioactiva o farmacóforo (X) en la matriz mitocondrial. Se pueden usar alternativamente péptidos SS o MPP. Todos estos compuestos pueden actuar dentro de las mitocondrias o se puede liberar el farmacóforo activo dentro de la matriz. Secundariamente se pueden usar compuestos que no son dirigidos a las mitocondrias, pero que actúan al unirse a blancos específicos. Finalmente, diversos compuestos pueden actuar en la disfunción mitocondrial al afectar procesos fuera de las mitocondrias, por ejemplo, al modular la actividad de diversas cinasas o de factores de transcripción o al aumentar la actividad o expresión de coactivadores transcripcionales como el PGC-1 $\alpha$ . Modificado de: Smith RAJ, Hartley RC, Cocheme HM, and Murphy MP. Mitochondrial pharmacology. *Trends in Pharmacological Sciences* 2012; 33:341-352.

la mitocondria que podrían ser importantes en algunas patologías pero aún no existen estrategias para dirigirlas a estos compartimentos. Otra limitación es que comúnmente estos abordajes no son específicos de órganos y los compuestos generalmente se acumulan preferencialmente en tejidos con alto contenido mitocondrial. Aun con estas limitaciones, ya existen abordajes prometedores en este sentido.

Los cationes lipofílicos como los derivados del trifenilfosfonio (TPP) son rápida y abundantemente captados por las mitocondrias *in vivo*. Esta captación es impulsada por el gran potencial membranal que presenta la matriz mitocondrial  $\Delta\psi_m$  que al ser negativo, atrae fuertemente a los cationes<sup>(4)</sup>. El mecanismo de captación ocurre por el movimiento de los cationes lipofílicos a través de la membrana plasmática y a través de la membrana interna mitocondrial, lo que obedece al gradiente electroquímico. Por su parte, existe una gran área de superficie hidrofóbica extensa que permite la interacción de la parte lipofílica de estas moléculas. Además, estos cationes tienen radios iónicos grandes que bajan la energía de activación para cruzar las membranas. La ecuación de Nernst describe adecuadamente la captación dependiente de potencial de los cationes lipofílicos, la captación se incrementa 10 veces por cada 60 mV aproximadamente de  $\Delta\psi_m$ . Esta gran fuerza electromotriz para los cationes produce su captación mitocondrial en varios cientos de veces su concentración dentro de la mitocondria *in vivo* (Figura 4)<sup>(31,32)</sup>. El uso de

cationes lipofílicos facilita la entrega de moléculas unidas a ellos hacia el interior de las células. Esto fue demostrado primero con el cation lipofílico rodamina 123, el cual forma un complejo con el fármaco anticáncer: cis-platin<sup>(33)</sup>. Desde entonces la unión covalente del cation lipofílico TPP se ha establecido como un método genérico y confiable para dirigir las moléculas pequeñas activas y como sondas de prueba a las mitocondrias *in vivo*<sup>(4)</sup>.

Dentro de la estrategia del uso de moléculas acumulables dentro de la mitocondria, además de los cationes lipofílicos, se han utilizado algunos péptidos dirigidos a la mitocondria. En este sentido los péptidos Szeto-Schiller (SS)<sup>(30)</sup> y los llamados «péptidos que penetran la mitocondria» (MPPs) han probado ser los más útiles hasta la fecha. Ambas clases de péptidos comprenden una mezcla de residuos de aminoácidos aromáticos (o con su grupo alquil hidrofóbico) con residuos catiónicos que les imparten naturaleza anfipática constitutiva. De esta manera son captados por las mitocondrias en las células y pueden ser usados para entregar fármacos unidos o «moléculas cargo»<sup>(30,34)</sup>. El mecanismo de captación de péptidos por las mitocondrias es menos claro que para las especies derivadas del TPP, sin embargo, estudios realizados con diversos MPPs sugieren que la carga y la hidrofobicidad de los péptidos determinan su acumulación en la matriz mitocondrial<sup>(35)</sup>, aunque no se ha establecido si el pasaje de los MPPs a través de la bicapa de fosfolípidos está

mediado por alguna proteína de membrana o simplemente son captados por las mitocondrias obedeciendo el gradiente electroquímico  $\Delta\psi_m$ .

Por el contrario, se piensa que la captación de los péptidos SS es independiente de  $\Delta\psi_m$  y que depende de la unión selectiva a la membrana interna mitocondrial; sin embargo, aún no se conocen los detalles de este proceso y la naturaleza de los sitios de unión putativos no son claros<sup>(30)</sup>. Para conocer los mecanismos biofísicos de captación de los dos tipos de péptidos se requiere de mayor investigación que permita un mejor manejo de estas moléculas acarreadoras selectivas. En la actualidad ya se usan terapéuticamente los cationes lipofílicos y los péptidos dirigidos a las mitocondrias para acarrear moléculas activas covalentemente unidas para su captación en la mitocondria<sup>(4,30)</sup>, pues han probado ser una estrategia confiable. En el cuadro I se enlistan algunas de las

moléculas utilizadas para ser acarreadas de manera selectiva hacia las mitocondrias.

Una variante de este abordaje es el diseño de una molécula tal que desprenda una parte bioactiva en la matriz mitocondrial (Figura 4). Recientemente se ha utilizado esta estrategia para la entrega de ácido lipoico temporalmente unido a TPP por una unión éster hidrolizable enzimáticamente<sup>(30)</sup>. También recientemente se ha logrado la liberación de óxido nítrico (NO) dentro de la mitocondria al reducirse una molécula pequeña llamada «S-Nitrosotiol dirigido a las mitocondrias» (MitoSNO) unida a una parte catiónica, el TPP lipofílico<sup>(37)</sup>. Un avance en este tipo de abordaje es usar al TPP conectado al fármaco mediante una molécula fotosensible que al ser estimulada con la luz apropiada sea fotolizada *in situ* y libere el agente activo dentro de las mitocondrias en un tejido particular o en una célula. Este abordaje ya se probó en células usando

**Cuadro I.** Compuestos terapéuticos dirigidos a las mitocondrias.<sup>a</sup>

<i>In vivo</i>		
Compuesto	Modo de acción	Indicaciones
MitoQ	Antioxidante	Daño por I/R cardíaco Parkinsonismo inducido por toxinas Hipertensión Sepsis Daño renal en diabetes tipo 1 Preservación renal <i>ex vivo</i> Toxicidad por cocaína Hígado graso por alcoholismo Hepatitis C
SS31	Antioxidante	Daño por I/R cardíaco Neuroprotección Resistencia a la insulina Atrofia muscular inducida por inmovilización Daño por quemaduras al músculo esquelético
MitoTempo MitoSNO TP187 <i>In vitro</i> Compuesto MitoCsA Ácido Lipoico RevMito	Antioxidante S-Nitración Toxina mitocondrial Blanco terapéutico Transición de la permeabilidad mitocondrial Entrega hidrolizable de ácido lipoico dentro de la mitocondria	Hipertensión Daño por I/R cardíaco Cáncer
MitoCP MitoVES MitoPorfirina MitoFotoDNP	Antioxidante Toxina anticáncer Terapia fotodinámica en cáncer Entrega a la mitocondria del desacoplador activado por luz	

<sup>a</sup> Se enlista solamente un ejemplo representativo de compuestos dirigidos a la mitocondria. Si se requiere mayor información consultar referencia 4.

TPP conectado a un desacoplador de la respiración celular, el 2, 4 dinitrofenol (DNF) mediante una molécula conectora fotolábil, la cual libera al DNF dentro de las mitocondrias después de la irradiación<sup>(38)</sup>.

Las mitocondrias también se puede usar como una cámara de reacción intracelular con dos compuestos dirigidos a las mitocondrias simultáneamente para que reaccionen y formen un producto nuevo<sup>(39)</sup> o para generar una molécula bioactiva dentro de las mitocondrias que pueda entonces difundir fuera del organelo para mejorar la eficiencia o duración de su acción sobre blancos extra mitocondriales<sup>(37)</sup> (Figura 4). Finalmente, es posible aumentar la ventana terapéutica de un fármaco conocido mediante el secuestro de compuestos activos dentro de la mitocondria para minimizar la toxicidad en otros sitios en la célula<sup>(40)</sup>.

Estas dos estrategias dirigidas a la mitocondria han demostrado que funcionan *in vivo*. Es posible que compuestos TPP dirigidos a las mitocondrias puedan ser entregados *in vivo* después de su administración oral, ya sea en el agua de bebida<sup>(32)</sup>, ya en tabletas<sup>(41,42)</sup> por vía intraperitoneal (IP)<sup>(43)</sup> o vía intravenosa (IV)<sup>(31)</sup> por gotas oculares<sup>(44)</sup> y dentro de órganos *ex vivo* mediante infusión<sup>(37,45)</sup>.

Los compuestos TPP se han administrado de manera segura por largo plazo en diversos modelos de roedores<sup>(33,46)</sup>. También se han dado oralmente a pacientes en estudios de fase II hasta por un año sin ningún problema de seguridad<sup>(41,42)</sup>. Los compuestos TPP se pueden entregar muy rápidamente a las mitocondrias dentro de órganos, tales como el corazón en los primeros minutos posteriores a una inyección IV<sup>(31)</sup>, por lo que lo convierte en un tratamiento rápido y factible de disfunción mitocondrial<sup>(47)</sup>. La captación de compuestos TPP no es uniforme entre los diferentes órganos. Los compuestos TPP cruzan la barrera hemato-encefálica en suficiente cantidad como para proteger el cerebro de la degeneración en varios modelos de enfermedad<sup>(43,46)</sup>, sin embargo, la captación es menor que para el resto de los órganos probados<sup>(32)</sup>. Estudios recientes han demostrado que el metabolismo de los compuestos TPP se realiza principalmente a través de la reacción del componente «cargo» y la parte TPP remanente no se modifica y los compuestos se excretan en la bilis y en la orina<sup>(48)</sup>.

La experiencia con el sistema peptídico *in vivo* es menor que con los cationes lipofílicos, pues se tienen datos solamente de los péptidos SS<sup>(30)</sup>. Estos péptidos pueden ser entregados de manera segura *in vivo* mediante administración subcutánea, IV e IP<sup>(30)</sup> y llevan a la captación por el tejido. Sin embargo, la captación en las mitocondrias *in vivo* se ha inferido indirectamente por estudios *in vitro* y mediante la observación de la protección contra el daño mitocondrial.

De las terapias dirigidas a la mitocondria, la principal aplicación terapéutica ha sido su utilidad para acarrear antioxidantes que bloqueen el daño oxidativo mitocondrial<sup>(4,30)</sup>. Los ensayos clínicos en los que se han probado compuestos

antioxidantes convencionales no dirigidos han tenido una pobre eficacia<sup>(49)</sup>. Estos resultados se deben, en parte, a que estos compuestos no se acumulan particularmente en las mitocondrias, el sitio de donde se da la mayor parte del daño oxidativo. En cambio, si en estos ensayos se hubiera logrado acumular a los antioxidantes cientos de veces adentro de las mitocondrias, como se consigue en otros ensayos, se hubiera logrado un resultado más efectivo contra el daño oxidativo.

El antioxidante dirigido a las mitocondrias más extensamente estudiado hasta la fecha es la ubiqüinona modificada con TPP, la MitoQ, la cual ha demostrado eficacia en un rango amplio de modelos animales de desórdenes y en estudios en humanos<sup>(50)</sup> (Cuadro I). Las propiedades únicas de los cationes lipofílicos hace que una dosis de MitoQ administrada oralmente o IV rápidamente sea captada desde la circulación hacia las células a través de la membrana plasmática, siendo el potencial de membrana citoplasmico la fuerza que mueve a los cationes<sup>(31)</sup>. Dentro del citosol, el  $\Delta\psi_m$  lleva a una captación adicional del MitoQ dentro de la matriz mitocondrial y el grado de esta captación puede ser de cientos de veces. Una vez dentro de las mitocondrias la molécula de MitoQ se adsorbe a la superficie en contacto con la matriz de la membrana interna, lo que facilita su habilidad para proteger los complejos de la fosforilación oxidativa. La forma ubiqüinona de MitoQ es rápidamente reducida por el complejo II respiratorio a la forma ubiqüinol, la cual es un antioxidante que inhibe efectivamente la lipoperoxidación mitocondrial y reacciona directamente con oxidantes como el peroxinitrito. La forma ubiqüinona del MitoQ también puede reaccionar directamente con el anión superóxido.

La gran capacidad de captación de MitoQ y compuestos relacionados, además de su eficacia como antioxidantes, el rápido reciclaje a sus formas activas los hacen antioxidantes altamente efectivos. Se han desarrollado toda una serie de antioxidantes dirigidos a las mitocondrias que incorporan la función TPP incluyendo versiones de nitróxido, nitrones, plastoquinonas y tocoferoles que han demostrado su eficacia en modelos animales (Cuadros I y II). El péptido SS, SS31, que contiene una parte antioxidante inherente, ha demostrado ser efectivo en modelos animales y actualmente se está aplicando en estudios humanos<sup>(30)</sup>. La amplia eficacia de los antioxidantes dirigidos a las mitocondrias apoya fuertemente el concepto de que el daño oxidativo mitocondrial constituye un importante blanco terapéutico.

Se han desarrollado otros tipos de terapias dirigidas a la mitocondria, por ejemplo, el incremento observado en  $\Delta\psi_m$  de las células cancerosas ha llevado al desarrollo de varias toxinas dirigidas hacia la mitocondria, diseñadas para acumularse en estos organelos y matar selectivamente a dichas células<sup>(51,52)</sup> (Cuadro I). Las estrategias de entrega pueden usarse también para entregar otros componentes bioactivos o farmacóforos a las mitocondrias (Cuadro I). Aunque diversas

posibilidades están siendo exploradas *in vitro*, solamente unas pocas han sido establecidas en aplicaciones *in vivo* hasta la fecha. Un ejemplo reciente es el agente S-nitrante dirigido a las mitocondrias, MitoSNO<sup>(37)</sup>, el cual indujo la S-nitración del complejo I respiratorio que protege a la mitocondria y al corazón *in vivo* del daño por I/R<sup>(37,47)</sup>.

De esta manera el dirigir compuestos bioactivos y farmacóforos a las mitocondrias es un procedimiento ya establecido y confiable que puede aumentar importantemente las opciones para el diseño de compuestos que buscan tratar daño mitocondrial en pacientes, además es una plataforma central para el futuro desarrollo de la farmacología mitocondrial.

#### *Modulando blancos terapéuticos y procesos mitocondriales mediante fármacos*

Las mitocondrias contienen muchos blancos potenciales y procesos que son específicos de este organelo y pueden ser modulados por fármacos. Entre las sustancias que actúan como fármacos convencionales al unirse y afectar específicamente a las proteínas blanco dentro de la mitocondria está la ciclosporina A (CsA). Esta sustancia se conoce por su efecto inmunosupresor, pero también es un inhibidor efectivo de la ciclofilina D dentro de la mitocondria lo que evita la formación del PTPm<sup>(29)</sup>. La inducción del PTPm en modelos animales de daño por I/R se produce por un daño oxidativo elevado, por depleción de ATP y por alteración en la homeostasis del ión calcio, lo cual en su conjunto lleva a la inducción dependiente de ciclofilina D de la formación del PTPm en la membrana interna mitocondrial. Una vez formado el poro produce edema mitocondrial y detiene la síntesis de ATP llevando a una muerte celular necrótica, que es un factor mayor en el daño por I/R. La CsA al unirse e inhibir a la ciclofilina D evita la inducción del PTPm.

La CsA se ha utilizado en ensayos piloto en humanos para probar el efecto terapéutico de bloquear el PTPm después del infarto al miocardio<sup>(53)</sup>. La CsA ha sido efectiva también en dos síndromes degenerativos relacionados, llamados miopatía de Bethlem y distrofia muscular congénita, que son producidas por mutaciones en el gen de la colágena VI<sup>(54,55)</sup>. Sorprendentemente, las mutaciones en esta proteína extracelular llevan a una disfunción mitocondrial incrementada y a la muerte celular en modelos de ratones. Estos efectos pueden disminuirse con CsA, sugiriendo que la inducción del PTPm es central en la muerte celular-muscular que subyace a estas patologías<sup>(55-57)</sup>. Estas observaciones llevaron a realizar un ensayo piloto con cinco pacientes que presentaban miopatías de la colágena VI y quienes mejoraron significativamente su función mitocondrial y celular después de un mes de tratamiento oral de CsA<sup>(58)</sup>.

Los inhibidores de la ciclofilina D son ejemplos muy prometedores de cómo pueden ser modulados los blancos potenciales de las mitocondrias mediante fármacos. Actual-

mente se están desarrollando variantes de CsA específicas de la mitocondria que no se unen a las ciclofilinas que se encuentran fuera de la mitocondria, esto con la finalidad de evitar los efectos inmunosupresores y efectos colaterales tóxicos del uso de CsA a largo plazo<sup>(59)</sup>. Otro blanco mitocondrial potencial interesante para la intervención farmacológica es la ruta intrínseca de muerte celular apoptótica<sup>(52)</sup>. Lo anterior se puede abordar de varias maneras, pero un blanco prometedor es el paso clave de permeabilización de la membrana externa mitocondrial (MOMP) durante la cual, la ruptura externa de la membrana libera proteínas como el citocromo c (cyt c) desde el espacio intermembranal y, por tanto, induce la apoptosis celular<sup>(52)</sup> (Figura 3). Aunque la naturaleza de la MOMP por sí misma aún no es conocida, ésta involucra una interrelación entre proteínas antiapoptóticas como la proteína-2 del linfoma de células B (BCL-2) que impide la apoptosis y las proteínas pro-apoptóticas relacionadas como la proteína antagonista/asesina homóloga a BCL-2 (BAK)<sup>(52)</sup>. La activación de proteínas pro-apoptóticas como la BAK lleva a la formación de un poro en la membrana externa mitocondrial y a la MOMP; esto es contrarrestado mediante el secuestro de BAK por BCL-2. Las moléculas pequeñas que alteran esta interacción (por ejemplo, ABT-737)<sup>(52)</sup> hacen a las células más susceptibles a la apoptosis y, por tanto, son útiles en matar células cancerosas que se han hecho resistentes a la apoptosis debido a la expresión incrementada de BCL-2<sup>(52)</sup>.

Otros blancos mitocondriales prometedores para la intervención farmacológica son los procesos de fisión, fusión y autofagia que permiten a las células responder al daño, ya sea por degradar las mitocondrias dañadas o por entrar en apoptosis<sup>(10)</sup>. La acumulación de daño y mitocondrias defectuosas disminuye la reserva de mitocondrias que funcionan correctamente e incrementa la probabilidad de muerte celular a través de la liberación de factores pro-aptóticos de las mitocondrias alteradas. Esto puede ocurrir con las mitocondrias dañadas que actúan como consumidoras de ATP por reversión de la sintasa de ATP y por incrementar el estrés oxidativo celular. Al aumentar la depuración de las mitocondrias dañadas se permitiría a la célula poder recargar la reserva de mitocondrias en buen estado y, por tanto, normalizar el aporte de ATP y la homeostasis de calcio. Así, el objetivo es diseñar moléculas pequeñas para manipular estos procesos para eliminar a las mitocondrias dañadas activando el proceso de autofagia.

Existen también compuestos que interactúan con la maquinaria de fusión y fisión mitocondrial tales como el inhibidor de la división mitocondrial-1 (Mdivi-1)<sup>(60)</sup>. Este compuesto inhibe a la proteína relacionada con la dinamina-1 (DRP-1) que se requiere para la fisión mitocondrial y la fragmentación<sup>(60)</sup>. La inhibición de la fragmentación mitocondrial por Mdivi-1 disminuye la MOMP y la muerte celular apoptótica<sup>(60)</sup>, así como la muerte celular después de daño I/R<sup>(61)</sup>; de esta manera la modulación de la fragmentación mitocondrial tiene potencial

**Cuadro II.** Compuestos terapéuticos que afectan potencialmente a las mitocondrias.

<i>In vivo</i>		
Compuesto	Modo de acción	Indicaciones potenciales
Ciclosporina A (CsA)	Inhibe PTPm	Lesión por I/R Miopatía de Bethlem Distrofia muscular congénita de Ullrich
Dicloroacetato (DCA) Idebenona I	Activa a la piruvato deshidrogenasa Antioxidante. Bloquea el complejo I al “saltar”	Mejora la función cardíaca Cardiomiopatía y Neurodegeneración
Azul de metileno 2,4-Dinitrofenol (DNF)	Aumenta la actividad del complejo IV Desacoplante	Modelos de Alzheimer Obesidad y estrés oxidativo aumentado
Bezafibrato	Agonista PPAR eleva la expresión de PGC-1 $\alpha$	Aumento de la biogénesis mitocondrial
AICAR	AMPK agonista aumenta la biogéne- sis mitocondrial <sup>(71)</sup>	Aumenta la actividad de PGC-1 $\alpha$
CGP37157	Inhibe el intercambiador mitocondrial $\text{Ca}^{2+}/\text{Na}^+$	Evita la pérdida de la homeostasis de calcio mitocondrial
Mdivi-1	Inhibe a la proteína relacionada con la dinamina-1 (DRP-1)	Impacta en la MOMP, en la muerte celular apoptótica y en la lesión I /R cardíaca

terapéutico. Existen muchos otros blancos putativos a fármacos que pueden ser selectivamente modificados por moléculas pequeñas (una selección de algunos de los ejemplos más prometedores se enlista en el cuadro II), los cuales fueron elegidos para ilustrar el amplio rango de los sistemas y de los abordajes que pueden ser utilizados para modular la función mitocondrial.

Diversos procesos que son específicos a las mitocondrias pueden ser modulados en formas menos convencionales con fines terapéuticos potenciales. Un buen ejemplo de éstos es la fuga de protones a través de la membrana interna mitocondrial<sup>(62)</sup>. El incrementar la tasa de fuga de protones a través de la membrana interna tiene dos beneficios terapéuticos potenciales: la respiración mitocondrial será menos eficiente y, por tanto se puede inducir la conversión de la grasa almacenada en calor<sup>(62)</sup> como ocurre durante la termogénesis en las mitocondrias del tejido adiposo café mediante la proteína desacoplante-1 y secundariamente, un desacoplamiento ligero podría reducir el estrés oxidativo al disminuir el nivel de la fuerza motriz para los protones y la cantidad de acarreadores de electrones oxidativos como lo son la NADH y la CoQ<sup>(62)</sup>.

La fuga de protones mitocondriales puede incrementarse por el uso de ionóforos o desacoplantes que directamente acarrean protones a través de la membrana interna. El mejor ejemplo de esto es el DNF (Cuadro II), el cual se encontró que producía pérdida de peso en trabajadores de la industria de armamentos que manejaban compuestos nitroaromáticos y por lo que fue subsecuentemente usado como un agente

adelgazante en la década de 1930<sup>(62)</sup>. Sin embargo, la ventana terapéutica fue bastante estrecha llevando a muertes y su uso fue desde entonces abandonado<sup>(62)</sup>. No obstante, el DNF fue muy efectivo en la promoción de la pérdida de peso, de tal modo que ha habido diversos intentos para modificar sustancias desacoplantes de manera que puedan ser usadas con seguridad como tratamientos para la obesidad crónica, por ejemplo, el desarrollo de desacopladores autolimitantes<sup>(63,64)</sup>. Alternativamente ha habido una búsqueda de factores que pueden acelerar la pérdida de protones mediante la activación de rutas endógenas dentro de las mitocondrias<sup>(64)</sup>, pero aún no se ha encontrado ningún factor que pueda ser efectivo *in vivo*.

Otro abordaje terapéutico potencial para aliviar los desórdenes mitocondriales es saltarse secciones dañadas de la cadena respiratoria, por ejemplo, si un paso particular en la cadena respiratoria se encuentra defectuoso debido a una mutación en el DNAmt, es factible pensar que si se proporciona una ruta para que los electrones «brinquen» este defecto respiratorio, podría bombarse protones aún; de esta manera continuaría la síntesis de ATP en los pasos dañados de la cadena respiratoria. Contrariamente, el facilitar que electrones «salten» un paso de bombeo de protones en mitocondrias normales podría ser beneficioso también ya que llevaría a una síntesis de ATP menos eficiente. Éstos podrían actuar como un desacoplamiento ligero y disminuir tanto el estrés oxidativo, como la acumulación de grasa. La eficacia de brincar pasos en la cadena respiratoria *in vivo* ha sido demostrada al

saltarse el complejo I mediante la sobreexpresión en la mosca de la fruta de una NADH dehidrogenasa de levaduras que no bombea protones<sup>(65)</sup>; esta maniobra aumentó el tiempo de vida de la mosca. Otro abordaje similar es el brincarse a la citocromo oxidasa de la cadena en la mosca de la fruta usando una oxidasa terminal alternativa<sup>(66)</sup>.

El reto para este abordaje es lograr estos efectos usando una molécula pequeña con potencial redox para brincar un paso de bombeo de protones normal o defectuoso dentro de la mitocondria *in vivo*. El compuesto exitoso necesitaría tener potencial de reducción apropiado y una cinética de reacción para transferir electrones y, por tanto, brincar uno de los tres sitios de bombeo de protones en la cadena respiratoria. Un compuesto que ha demostrado ser prometedor en este sentido dentro de las células es el azul de metileno<sup>(67)</sup>, el cual puede captar electrones desde varias NAD(P)H deshidrogenasas y luego donarlos al cyt c. Por otro lado, existe un beneficio terapéutico de las ubiquinonas de cadena corta como la idebenona que podría deberse al menos en parte a que se salta al complejo I dañado o defectuoso al captar electrones en el citosol desde la NAD(P)H:quinona oxidoreductas 1 sensible a dicoumerol y pasarlos al complejo III<sup>(68)</sup>. Finalmente, en un estudio realizado en un solo paciente el tratamiento con ascorbato y menadiona para brincarse un defecto en el complejo III demostró que produjo mejoría en las funciones mitocondriales y musculares<sup>(69)</sup>. De esta manera, el manipular la ruta del flujo de protones a través de la cadena respiratoria es, por tanto, una estrategia terapéutica mitocondrial potencial pero constituye un reto para la química medicinal.

#### *Agentes farmacológicos que afectan a las mitocondrias indirectamente*

Una estrategia final es usar moléculas pequeñas para modular sistemas fuera de las mitocondrias que controlen el número y actividad de estos organelos. Típicamente esto involucra manipulación de rutas endógenas que normalmente capacitan a la actividad mitocondrial a responder a las demandas del medio ambiente, como puede ser una carga de trabajo incrementada o cambios en el aporte de nutrientes. Esto se puede lograr mediante la alteración de la transcripción de genes mitocondriales codificados por el núcleo y, en este sentido, diversas rutas pueden manipularse, ya sea directamente o indirectamente. El ejemplo más estudiado es el PGC-1 $\alpha$ , el maestro regulador de la biogénesis mitocondrial. El PGC-1 $\alpha$  regula a la alta la actividad de los factores de transcripción que están involucrados en la biogénesis mitocondrial, como el factor respiratorio nuclear (NRF)-1, que a su vez modula la expresión de otros factores como el factor de transcripción A mitocondrial (TFAM). Éstos son importantes para la replicación y transcripción del DNAm<sup>(13)</sup>.

La regulación a la alta mediante fármacos de la actividad del PGC-1 $\alpha$  podría ser una manera de restaurar la biogénesis mitocondrial para compensar algún defecto mitocondrial o para responder a un incremento en la demanda de energía. El nivel de expresión de PGC-1 $\alpha$  es controlado por la actividad de PPAR $\gamma$ . A corto plazo la actividad de PGC-1 $\alpha$  responde a AMPK; este último actúa como un sensor del nivel ATP/ADP citosólico y por lo tanto está involucrado en la respuesta a un déficit de energía vía la fosforilación del PGC-1 $\alpha$  ello lo lleva a migrar hacia el núcleo y activar genes mitocondriales codificados por el núcleo. La actividad del PGC-1 $\alpha$  puede también responder a la proteína cinasa dependiente de calcio/calmodulina (CAMPK) IV, haciéndolo capaz de responder a señales de calcio como las involucradas en la contracción muscular. El PGC-1 $\alpha$  también se afecta por NO mediante los niveles de GMPC y su actividad puede incrementarse vía acetilación<sup>(13,70)</sup>. La actividad del PGC-1 $\alpha$  se ha modificado farmacológicamente mediante regulación a la alta de su expresión a través del uso de agonista de PPARs, bezafibrato. Este abordaje compensa un defecto en un factor de ensamble del complejo IV en un modelo de ratón *in vivo*<sup>(71)</sup>. La manipulación farmacológica de la actividad del PGC-1 $\alpha$  es una estrategia que promete mucho como una terapia para las disfunciones mitocondriales.

Otras rutas estrechamente relacionadas y que se llegan a traslapar pueden regular aumentando la actividad mitocondrial al alterar la transcripción. Entre éstas se encuentran deacetilasas dependientes de NAD $^+$  que pertenecen a la familia de las sirtuinas<sup>(70)</sup>. Por ejemplo, la reserva nuclear de la sirtuina 3 puede deacetilar y, por tanto, activar al factor de transcripción FOXO3a regulando a la alta la expresión de enzimas antioxidantes mitocondriales como la MnSOD<sup>(72)</sup>. Cambios en el estado de acetilación de las histonas y otros factores de transcripción y coactivadores como el PGC-1 $\alpha$  también afectan la transcripción de genes mitocondriales; esto complica la interpretación de la actividad sirtuina en la mitocondria, sin embargo, la sugerencia de que moléculas pequeñas activadoras de la sirtuina derivadas de resveratrol tiene aplicaciones clínicas potenciales ha estimulado el interés en la manipulación farmacológica de las mitocondrias mediante la modulación de la actividad sirtuina<sup>(73-76)</sup>. La manipulación farmacológica de la función mitocondrial por moléculas pequeñas que actúan en rutas endógenas que controlan la expresión de genes mitocondriales constituye una estrategia farmacológica altamente atractiva, ya que capacitan la función del organelo para responder a la demanda y al daño de manera eficiente y rápida.

## **CONCLUSIÓN**

En esta revisión nos enfocamos sobre los principios generales de la farmacología mitocondrial ilustrados con unos cuantos

ejemplos claves que demuestran el potencial y los retos intrínsecos al considerar a las mitocondrias como un blanco farmacológico para generar intervenciones apropiadas. Hasta la fecha las mitocondrias se han subestimado como un blanco terapéutico, pero presenta un potencial enorme. En particular, la disfunción mitocondrial secundaria contribuye a un amplio rango de patologías; esto implica que las terapias que se diseñen para interactuar con los mecanismos subcelulares básicos de control mitocondrial pueden aplicarse a diversas

enfermedades, tales como el tratamiento con antioxidantes dirigidos a las mitocondrias, la inhibición de formación del PTPm mediante diversos fármacos conocidos como el acetaminofén<sup>(77)</sup> o el uso de CsA cardioprotectores en cirugías cardíacas<sup>(78)</sup>. Se requiere reconocer los retos de la farmacología mitocondrial para alcanzar su máximo potencial, por ejemplo, el desarrollo de biomarcadores y mediciones de la función mitocondrial *in vivo* para asegurar de que la terapia está teniendo efecto en las mitocondrias.

## REFERENCIAS

1. Wallace DC, et al. Mitochondrial energetics and therapeutics. *Annu Rev Pathol*. 2010;5:297-348.
2. Duchen MR, Szabadkai G. Roles of mitochondria in human disease. *Essays Biochem*. 2010;47:115-137.
3. Murphy E, et al. Mitochondria: from basic biology to cardiovascular disease. *J Mol Cell Cardiol*. 2009;46:765-766.
4. Smith RAJ, et al. Mitochondria-targeted small molecule therapeutics and probes. *Antioxid Redox Signal*. 2011;15:3021-3038.
5. Mammucari C, et al. Molecules and roles of mitochondrial calcium signaling. *BioFactors* 2011;37: 219-227.
6. Murphy MP. How mitochondria produce reactive oxygen species. *Biochem J*. 2009;417:1-13.
7. Arnoult D, et al. Mitochondria in innate immunity. *EMBO Rep*. 2011;12:901-910.
8. Tormos KV, et al. Mitochondrial complex III ROS regulate adipocyte differentiation. *Cell Metab*. 2011;14:537-544.
9. Calvo SE, Mootha VK. The mitochondrial proteome and human disease. *Annu Rev Genomics Hum. Genet*. 2010;11:25-44.
10. Green DR, et al. Mitochondria and the autophagy-inflammation-cell death axis in organismal aging. *Science*. 2011;333:1109-1112.
11. Narendra DP, Youle RJ. Targeting mitochondrial dysfunction: role for PINK1 and Parkin in mitochondrial quality control. *Antioxid Redox Signal*. 2011;14:1929-1938.
12. Kim I, et al. Selective degradation of mitochondria by mitophagy. *Arch Biochem Biophys*. 2007;462:245-253.
13. Ahmed W, Ziouzenkova O, Brown J, et al. PPARs and their metabolic modulation: new mechanisms for transcriptional regulation? *J of Inter Med*. 2007;262:184-198.
14. Ventura-Clapier R, et al. Transcriptional control of mitochondrial biogenesis: the central role of PGC-1alpha. *Cardiovasc Res*. 2008;79:208-217.
15. Goto Y, et al. A mutation in the tRNA<sup>Leu</sup> (UUR) gene associated with the MELAS subgroup of mitochondrial encephalomyopathies. *Nature*. 1990;348:651-653.
16. Erickson RP. Leber's optic atrophy, a possible example of maternal inheritance. *Am J Hum Genet*. 1972;24(3):348-349.
17. Fukuhara N, Tokiguchi S, Shirakawa K, Tsubaki T. Myoclonus epilepsy associated with ragged-red fibres (mitochondrial abnormalities): disease entity or a syndrome? Light-and electron-microscopic studies of two cases and review of literature. *Journal of the neurological sciences*. 1980;47.
18. Smeitink J, et al. The genetics and pathology of oxidative phosphorylation. *Nat Rev Genet*. 2001;2: 342-352.
19. Leonard JV, Schapira AH. Mitochondrial respiratory chain disorders II: neurodegenerative disorders and nuclear gene defects. *Lancet*. 2000;355:389-394.
20. Angelini C, et al. Mitochondrial disorders of the nuclear genome. *Acta Myol*. 2009;28:16-23.
21. Saada A, et al. Mutations in NDUFAF3 (C3orf60), encoding an NDUFAF4 (C6orf66)-interacting complex I assembly protein, cause fatal neonatal mitochondrial disease. *Am J Hum Genet*. 2009;84:718-727.
22. McKenzie M, Ryan MT. Assembly factors of human mitochondrial complex I and their defects in disease. *IUBMB Life*. 2010;62:497-502.
23. Halestrap A. Biochemistry: a pore way to die. *Nature*. 2005;434:578-579.
24. Murphy MP. Mitochondria - a neglected drug target. *Curr Opin Invest Drugs*. 2009;10:1022-1024.
25. Cree LM, et al. The inheritance of pathogenic mitochondrial DNA mutations. *Biochim Biophys Acta*. 2009;1792:1097-1102.
26. Hassani A, et al. Mitochondrial myopathies: developments in treatment. *Curr Opin Neurol*. 2010;23:459-465.
27. Kyriakouli DS, et al. Progress and prospects: gene therapy for mitochondrial DNA disease. *Gene Ther*. 2008;15:1017-1023.
28. Rasola A, Bernardi P. Mitochondrial permeability transition in Ca<sup>2+</sup> dependent apoptosis and necrosis. *Cell Calcium*. 2011;50:222-233.
29. Murphy MP, Smith RAJ. Targeting antioxidants to mitochondria by conjugation to lipophilic cations. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 2007;47:629-656.
30. Szeto HH, Schiller PW. Novel therapies targeting inner mitochondrial membrane from discovery to clinical development. *Pharm. Res*. 2011; 8:2669-2679.
31. Porteous CM, et al. Rapid uptake of lipophilic triphenylphosphonium cations by mitochondria *in vivo* following intravenous injection: implications for mitochondria-specific therapies and probes. *Biochim Biophys Acta*. 2010;1800:1009-1017.
32. Rodriguez-Cuenca S, et al. Consequences of long-term oral administration of the mitochondria-targeted antioxidant MitoQ to wild-type mice. *Free Radic Biol Med*. 2010;48:161-172.
33. Teicher BA, et al. Efficacy of Pt (Rh-123) 2 as a radiosensitizer with fractionated X rays. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 1987;13:1217-1224.
34. Yousif LF, et al. Targeting mitochondria with organelle-specific compounds: strategies and applications. *ChemBioChem*. 2009;10:1939-1950.
35. Yousif LF, et al. Mitochondria-penetrating peptides: sequence effects and model cargo transport. *ChemBioChem*. 2009;10:2081-2088.
36. Ripcke J, et al. Small-molecule targeting of the mitochondrial compartment with an endogenously cleaved reversible tag. *ChemBioChem*. 2009;10:1689-1696.
37. Prime TA, et al. A mitochondria-targeted S-nitrosothiol modulates respiration, nitrosates thiols, and protects against ischemia-reperfusion injury. *Proc Natl Acad Sci*. 2009;106:10764-10769.
38. Chalmers S, et al. Selective uncoupling of individual mitochondria within a cell using a mitochondria-targeted photoactivated protonophore. *J Am Chem Soc*. 2012;134:758-761.
39. Rotenberg SA, et al. A self-assembling protein kinase C inhibitor. *Proc Natl Acad Sci*. 1991;88:2490-2494.
40. Pereira MP, Kelley SO. Maximizing the therapeutic window of an antimicrobial drug by imparting mitochondrial sequestration in human cells. *J Am Chem Soc*. 2011;133:3260-3263.

41. Snow BJ, et al. A double-blind, placebo-controlled study to assess the mitochondria-targeted antioxidant MitoQ as a disease modifying therapy in Parkinson's disease. *Mov Disord.* 2010;25:1670-1674.
42. Gane EJ, et al. The mitochondria-targeted anti-oxidant mitoquinone decreases liver damage in a phase II study of hepatitis C patients. *Liver Int.* 2010;30:1019-1026.
43. Ghosh A, et al. Neuroprotection by a mitochondria-targeted drug in a Parkinson's disease model. *Free Radic Biol Med.* 2010;49:1674-1684.
44. Skulachev VP, et al. An attempt to prevent senescence: a mitochondrial approach. *Biochim Biophys Acta.* 2009;1787:437-461.
45. Mitchell T, et al. The mitochondria-targeted antioxidant mitoquinone protects against cold storage injury of renal tubular cells and rat kidneys. *J Pharmacol Exp Ther.* 2011;336:682-692.
46. McManus MJ, et al. The mitochondria-targeted antioxidant MitoQ prevents loss of spatial memory retention and early neuropathology in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *J Neurosci.* 2011;31:15703-15715.
47. Chouchani ET, et al. Identification of S-nitrosated mitochondrial proteins by S-nitrosothiol difference in gel electrophoresis (SNO-DIGE): implications for the regulation of mitochondrial function by reversible S-nitrosation. *Biochem J.* 2010;430:49-59.
48. Li Y, et al. Effect of cyclosporin A on the pharmacokinetics of mitoquinone (MitoQ10), a mitochondria-targeted antioxidant in rat. *Asian J Pharm Sci.* 2010;5:106-113.
49. Bjelakovic G, et al. Antioxidant supplements for prevention of mortality in healthy participants and patients with various diseases. *Cochrane Database Syst Rev.* 2008; 3. CD007176.
50. Smith RAJ, Murphy MP. Animal and human studies with the mitochondria-targeted antioxidant MitoQ. *Ann N Y Acad Sci.* 2010;1201:96-103.
51. Millard M, et al. Preclinical evaluation of novel triphenylphosphonium salts with broad-spectrum activity. *Plos ONE.* 2010;5.
52. Fulda S, et al. Targeting mitochondria for cancer therapy. *Nat Rev Drug Dis.* 2010;9:447-464.
53. Piot C, et al. Effect of cyclosporine on reperfusion injury in acute myocardial infarction. *N Engl J Med.* 2008;359:473-481.
54. Merlini L, Bernardi P. Therapy of collagen VI-related myopathies (Bethlem and Ullrich). *Neurotherapeutics.* 2008;5:613-618.
55. Merlini L, et al. Autosomal recessive myosclerosis myopathy is a collagen VI disorder. *Neurology.* 2008;71:1245-1253.
56. Irwin WA, et al. Mitochondrial dysfunction and apoptosis in myopathic mice with collagen VI deficiency. *Nat Genet.* 2003;35:367-371.
57. Hohenester BR. A therapy for myopathy caused by collagen VI mutations? *Matrix Biol.* 2007;26: 145.
58. Merlini L, et al. Cyclosporin A corrects mitochondrial dysfunction and muscle apoptosis in patients with collagen VI myopathies. *Proc Natl Acad Sci.* 2008;105:5225-5229.
59. Hansson MJ, et al. The nonimmunosuppressive cyclosporin analogs NIM811 and UNIL025 display nanomolar potencies on permeability transition in brain-derived mitochondria. *J Bioenerg Biomembr.* 2004;36:407-413.
60. Cassidy-Stone A, et al. Chemical inhibition of the mitochondrial division dynamin reveals its role in Bax/Bak-dependent mitochondrial outer membrane permeabilization. *Dev Cell.* 2008;14:193-204.
61. Ong SB, et al. Inhibiting mitochondrial fission protects the heart against ischemia/reperfusion injury. *Circulation.* 2010;121:2012-2022.
62. Harper JA, et al. Mitochondrial uncoupling as a target for drug development for the treatment of obesity. *Obes Rev.* 2001;2:255-265.
63. Severin FF, et al. Penetrating cation/fatty acid anion pair as a mitochondria-targeted protonophore. *Proc Natl Acad Sci.* 2010;107:663-668.
64. Lou PH, et al. Mitochondrial uncouplers with an extraordinary dynamic range. *Biochem J.* 2007;407:129-140.
65. Sanz A, et al. Expression of the yeast NADH dehydrogenase Ndi1 in *Drosophila* confers increased lifespan independently of dietary restriction. *Proc Natl Acad Sci.* 2010;107:9105-9110.
66. Fernandez-Ayala DJ, et al. Expression of the *Ciona intestinalis* alternative oxidase (AOX) in *Drosophila* complements defects in mitochondrial oxidative phosphorylation. *Cell Metab.* 2009;9:449-460.
67. Atamma H, Kumar R. Protective role of methylene blue in Alzheimer's disease via mitochondria and cytochrome c oxidase. *J Alzheimer's Dis.* 2010;20:S439-S452.
68. Haefeli RH, et al. NQO1-dependent redox cycling of idebenone: effects on cellular redox potential and energy levels. *PLoS ONE.* 2011;6:e17963.
69. Eleff S, et al. 31P NMR study of improvement in oxidative phosphorylation by vitamins K3 and C in a patient with a defect in electron transport at complex III in skeletal muscle. *Proc Natl Acad Sci.* 1984;81:3529-3533.
70. Fernandez-Marcos PJ, Auwerx J. Regulation of PGC-1alpha, a nodal regulator of mitochondrial biogenesis. *Am J Clin Nutr.* 2011;93:884S-890S.
71. Wenz T, et al. Activation of the PPAR/PGC-1alpha pathway prevents a bioenergetic deficit and effectively improves a mitochondrial myopathy phenotype. *Cell Metab.* 2008;8:249-256.
72. Sundaresan NR, et al. Sirt3 blocks the cardiac hypertrophic response by augmenting Foxo3a-dependent antioxidant defense mechanisms in mice. *J Clin Invest.* 2009;119:2758-2771.
73. Milne JC, et al. Small molecule activators of SIRT1 as therapeutics for the treatment of type 2 diabetes. *Nature.* 2007;450:712-716.
74. Westphal CH, et al. A therapeutic role for sirtuins in diseases of aging? *Trends Biochem Sci.* 2007;32:555-560.
75. Guarente L. Mitochondria - a nexus for aging, calorie restriction, and sirtuins? *Cell.* 2008;132:171-176.
76. Park SJ, et al. Resveratrol ameliorates aging-related metabolic phenotypes by inhibiting cAMP phosphodiesterases. *Cell.* 2012;148:421-433.
77. Hadzimichalis NM, Baliga SS, Golftetti R, Jaques KM, Firestein BL, Merrill GF. Acetaminophen-mediated cardioprotection via inhibition of the mitochondrial permeability transition pore-induced apoptotic pathway. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2007; 293:H3348-3355.
78. Chiari P, Angoulvant D, Mewton N, Desebbe O, Obadia JF, Robin J, Farhat F, Jegaden O, Bastien O, Lehut JJ, Ovize M. Cyclosporine protects the heart during aortic valve surgery. *Anesthesiology.* 2014; 121: 232-238.