



1. DATOS BÁSICOS DEL TFG:

Título: Mecanismos patológicos moleculares en síndromes de deficiencia del ADN mitocondrial

Descripción general (resumen y metodología):

Las **enfermedades mitocondriales (MD)** constituyen un importante grupo de trastornos genéticos raros que representan un desafío tanto para su diagnóstico como para su tratamiento, ya que representan una gran heterogeneidad en todos los niveles: clínico, bioquímico y genético¹⁻³. Los datos epidemiológicos indican que aproximadamente 1 de cada 4,300 personas es afectado por MD⁴.

Entre los múltiples subtipos de MD, los defectos en el mantenimiento del ADN mitocondrial (mtDNA) son trastornos particularmente frecuentes y graves, y menos estudiados. En estas condiciones, variantes patogénicas primarias en genes del ADN nuclear (nDNA) provocan una inestabilidad secundaria del mtDNA, que se manifiesta como depleción del mtDNA, múltiples deleciones, o ambas⁵. El síndrome de depleción de ADN mitocondrial ("mitochondrial DNA depletion syndrome" – MDDS) se debe a una deficiencia primaria de GUK1 que codifica la guanilato quinasa 1, una enzima que cataliza la fosforilación del monofosfato de guanosina y del monofosfato de desoxiguanosina (GMP y dGMP [(d)GMP]) a difosfato de guanosina y difosfato de desoxiguanosina (GDP y dGDP [(d)GDP]), y existe en dos variantes: citosólica y mitocondrial⁶. MDDS es una enfermedad debilitante y progresiva para la cual actualmente no existen tratamientos disponibles. Estudios preliminares en células de pacientes han mostrado eficacia con forodesina, dG o la combinación de ambos.

Recientemente se ha desarrollado un nuevo modelo de ratón knock-in/knock-out (cGuk1 KI/KO) de inicio tardío inducido por tamoxifeno (a los 2,5 meses de vida), que manifiesta la disfunción orgánica sistémica⁶ y se asemeja a los síntomas desarrollados en humanos. Trasladaremos estas terapias a ratones cGuk1KI/KO, iniciando el tratamiento el mismo día de la inyección de tamoxifeno, antes de la aparición de los síntomas, con el fin de evaluar la posible prevención de estos. La deficiencia de GUK1 provoca una disminución de la función mitocondrial.

Se evaluará el efecto del tratamiento sobre la bioenergética mitocondrial. Se usarán 3 grupos de ratones ((GUK1^{KI/LOXP} control, cGUK1^{KI/KO}, cGUK1^{KI/KO} + tratamiento). Nosotros evaluaremos bioenergética mitocondrial usando la técnica de Seahorse Flux Analyzer (Agilent) y mediremos la expresión de los complejos de la cadena respiratoria mediante Western blot (WB), además, analizaremos las actividades individuales de las enzimas de los complejos respiratorios usando espectrofotometría.

Tipología: Trabajos experimentales, de toma de datos de campo o de laboratorio.

Objetivos planteados:

Hito:

Evaluar la efectividad de la terapia farmacológica propuesta en el modelo cGuk1KI/KO de inicio tardío inducido por tamoxifeno, para comprender mejor su efecto sobre la bioenergética mitocondrial.

Objetivos planteados

1. Se realizará un estudio de función mitocondrial a través de la respiración mitocondrial con el analizador de flujo Seahorse (Agilent). Además, se medirán las actividades enzimáticas de los complejos respiratorios de forma individual mediante espectrofotometría.

2. Adicionalmente, se evaluará el estado de la cadena de transporte de electrones mitocondrial mediante la medición de la expresión de los complejos respiratorios mitocondriales usando WB.

Bibliografía básica:

1. DiMauro, S. et al. Nat Rev Neurol **9**, 429-444, doi:10.1038/nrneurol.2013.126 (2013).
2. Schon, E. A. et al. Nature reviews. Genetics **13**, 878-890, doi:10.1038/nrg3275 (2012).
3. Gorman, G. S. et al. Nat Rev Dis Primers **2**, 16080, doi:10.1038/nrdp.2016.80 (2016).
4. Schaefer, A. M. et al. Ann Neurol **63**, 35-39, doi:10.1002/ana.21217 (2008).
5. Hirano, M. in The Molecular and Genetic Basis of Neurologic and Psychiatric Disease 177-185 (Lippincott Williams & Wilkins, 2007).
6. Hidalgo-Gutierrez, A. et al. Ann Neurol **96**, 1209-1224, doi:10.1002/ana.27071 (2024).

Recomendaciones y orientaciones para el estudiante:

El estudiante tiene que comprometerse a aprender y realizar las técnicas propuestas, tener capacidad de análisis de los resultados, y participar en la toma de decisiones.

El conocimiento de lengua extranjera (inglés) es importante para poder leer los artículos científicos y hacer su análisis crítico.

Al igual que deberá aprender a aislar mitocondrias de distintos tejidos de ratón, realizar Western blot, espectrofotometría, uso de Seahorse (Agilent), usar software 1D Image Analysis. La representación y el análisis de los datos se realizarán con los programas GraphPad Prism 9. Capacidad de trabajar en equipo, iniciativa y espíritu emprendedor.

Plazas: 1

2. DATOS DEL TUTOR/A:

Nombre y apellidos: IRYNA RUSANOVA RUSANOVA

Ámbito de conocimiento/Departamento: BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR I

Correo electrónico: irusanova@ugr.es

3. COTUTOR/A DE LA UGR (en su caso):

Nombre y apellidos: AGUSTIN HIDALGO GUTIERREZ

Ámbito de conocimiento/Departamento: FISIOLOGÍA

Correo electrónico: ahg@ugr.es

4. COTUTOR/A EXTERNO/A (en su caso):

Nombre y apellidos:

Correo electrónico:

Nombre de la empresa o institución:

Dirección postal:

Puesto del tutor en la empresa o institución:

Centro de convenio Externo:

5. DATOS DEL ESTUDIANTE:

Nombre y apellidos:

Correo electrónico: