

Tesi doctoral presentada per En/Na

Yolanda CÁMARA NAVARRO

amb el títol

**"Estudio funcional de la proteína desacopladora
mitocondrial UCP3 en relación con la apoptosis y
las especies reactivas de oxígeno"**

per a l'obtenció del títol de Doctor/a en

BIOLOGIA

Barcelona, 25 de juliol de 2005.

Facultat de Biologia
Departament de Bioquímica i Biología Molecular



UNIVERSITAT DE BARCELONA



CONCLUSIONES

1.- La presencia de niveles elevados de UCP3 en células no musculares, confiere a las mitocondrias un comportamiento bioquímico propio de la presencia de una proteína desacopladora funcional (desacoplamiento inducido por ácidos grasos e inhibible por GDP).

2.- En estas condiciones, UCP3 no induce la apoptosis pero sensibiliza las células al estímulo apoptótico con implicación mitocondrial (staurosporina), lo que se evidencia en la sobre-inducción de caspasa-3, caspasa-9, y la mayor liberación de citocromo c en presencia de UCP3. La presencia de UCP3 en la mitocondria favorece la translocación de Bax y aumenta la sensibilidad del poro de transición en la permeabilidad mitocondrial (MPTP) a la apertura en respuesta a calcio.

3.- La expresión de UCP3 en mitocondrias de hígado, obtenida mediante transferencia génica al ratón, no modifica de manera sustancial los parámetros metabólicos circulantes y los parámetros bioenergéticos mitocondriales estudiados, pero produce una sensibilización a la apertura del MPTP.

4.- Las células musculares en cultivo adquieren resistencia a la activación de la apoptosis al diferenciarse a miotubos, una disminución transitoria del contenido en ROS a lo largo de la diferenciación, y una disminución en la expresión de genes codificantes para enzimas antioxidantes y en los niveles de glutatión reducido.

5.- La activación de vías apoptóticas (caspasa-3, caspasa-9) por staurosporina se da en paralelo a un aumento de ROS, pero este último fenómeno no es necesario para la activación de los procesos apoptóticos. Existe, en general, una fuerte independencia entre las vías que conllevan el aumento de ROS y las vías apoptóticas en respuesta a la staurosporina, independientemente del estadio de diferenciación en que se encuentre la célula muscular.

6.- La inducción de niveles altos de expresión de UCP3 en células musculares diferenciadas, vía transferencia génica con un vector adenovírico, disminuye de forma moderada el potencial de membrana pero no repercute en los niveles de ROS ni en el estrés oxidativo en general. La presencia de UCP3 no influye en la generación de ROS

en respuesta a staurosporina y no protege sino que incluso sensibiliza moderadamente la activación de caspasas en respuesta a staurosporina.

7.- Los ácidos grasos, especialmente el palmitato, aumentan los niveles de ROS en células musculares diferenciadas (miotubos) pero no inducen efectores de apoptosis como la caspasa-3. La presencia de UCP3 produce un aumento moderado de ROS y de sensores celulares de estrés oxidativo como NF- κ B en respuesta a palmitato.

Como conclusión general, cabe indicar que UCP3, pese a mostrar un comportamiento bioquímico compatible con el de un desacoplante fisiológico, no disminuye ROS ni el estrés oxidativo en el contexto celular muscular. Su presencia no protege a las células del estímulo apoptótico sino al contrario, las sensibiliza. Ello debe producirse por mecanismos distintos a posibles efectos sobre ROS y podría implicar la interacción indirecta (vía consecuencias bioenergéticas) o directa de UCP3 con la maquinaria que regula a nivel mitocondrial el proceso de apoptosis, especialmente el MPTP.