

Papel de nuevas proteínas mitocondriales en el balance energético

A. Zorzano, D. Bach, S. Pich, M. Palacín

Departament de Bioquímica i Biologia Molecular, Facultat de Biologia. Universitat de Barcelona e Institut de Recerca Biomèdica de Barcelona. Parc Científic de Barcelona. Barcelona

Correspondencia:

A. Zorzano

Departament de Bioquímica i Biologia Molecular, Facultat de Biologia. Universitat de Barcelona e Institut de Recerca Biomèdica de Barcelona.

Parc Científic de Barcelona. Barcelona

azorzano@bio.ub.es

Resumen

La actividad mitocondrial es clave en el control de la termogénesis y del gasto energético en organismos homeotermos. Recientemente se ha prestado mucha atención a las proteínas mitocondriales de la familia UCP como posibles reguladores de la respiración desacoplada. No obstante, existen otros aspectos de la biología de las mitocondrias que pueden ser cruciales en la comprensión de su función. Así, en diferentes tipos celulares las mitocondrias se organizan en filamentos y en redes mitocondriales que resultan de la actividad de procesos de fusión y fisión. La demostración de que mitofusina-2, proteína implicada en la fusión mitocondrial estimula la oxidación mitocondrial de sustratos, la respiración celular y el potencial de membrana mitocondrial sugiere que esta proteína pudiera jugar un papel importante en la actividad metabólica mitocondrial y, en consecuencia, en el balance energético. Además, la observación de que la expresión de mitofusina-2 se reprime en el músculo esquelético de sujetos obesos sugiere un posible papel en la fisiopatología y/o en la etiopatología de la obesidad.

Palabras clave: Proteínas desacoplantes. Termogénesis. Gasto energético. Mitofusina-2. Oxidación mitocondrial.

Introducción

El peso corporal depende del balance entre la ingesta energética y el gasto energético. La energía se consume en los procesos del metabolismo basal, en la termogénesis inducida por el ejercicio y en la termogénesis adaptativa, la cual es una respuesta a los cambios ambientales tales como el frío, el consumo de alimentos y la infección viral o microbiana.

El conocimiento de las bases moleculares y genéticas relativas a los procesos bioquímicos de la termogénesis es aún ciertamente limitado. La termogénesis inducida por el frío en roedores se sabe que involucra la actividad del tejido adiposo marrón y la proteína desacopladora mitocondrial UCP¹. La identificación de nuevas potenciales proteínas desacopladoras condujo a la reevaluación de los mecanismos moleculares que componen la termogénesis y a su posible contribución a la patogénesis de la obesidad². No obstante, a pesar de los avances más re-

Summary

Mitochondrial activity plays a key role in the control of thermogenesis and energy expenditure in homeothermic organisms. Recently, much attention has been paid to the novel protein members of UCP family as putative regulators of uncoupled respiration. Nevertheless, it is likely that other aspects, as yet unrecognized, of mitochondrial biology are also crucial to comprehend mitochondrial function. Thus, mitochondria are organized in filaments or in networks in many cell types as a result of the operation of fusion and fission events. The demonstration that mitofusin-2, a protein involved in mitochondrial fusion, stimulates the mitochondrial oxidation of substrates, cell respiration and mitochondrial membrane potential suggests that this protein may play an important role in mitochondrial metabolism, and as a consequence, in energy balance. Furthermore, the observation that mitofusin-2 expression is repressed in obese skeletal muscle suggests a possible role in the pathophysiology and/or etiopathology of obesity.

Key words: Uncoupling proteins. Thermogenesis. Energy expenditure. Mitofusin-2. Mitochondrial oxidation.

cientos, desconocemos la base molecular de aspectos centrales de la termogénesis.

Importancia de la actividad mitocondrial en la termogénesis y en el balance energético

La regulación de la temperatura corporal es esencial en individuos homeotermos, y permite la intervención de mecanismos termogénicos que se disparan en respuesta a cambios en la temperatura interna o externa. Los procesos de termorregulación no sólo se inducen por exposición al frío o al calor y la hibernación en algunas especies sino también por una variedad de situaciones fisiopatológicas que permiten variar la temperatura corporal. Estas situaciones incluyen el ayuno, la ingesta de alimentos, el ejercicio físico, el hipotiroidismo o el hipertirodismo, el consumo de alcohol, la infección, el feocromocitoma,

tumores malignos, la hipertermia maligna y el hipermetabolismo severo del síndrome de Luft (acoplamiento defectuoso entre la respiración celular y la fosforilación oxidativa).

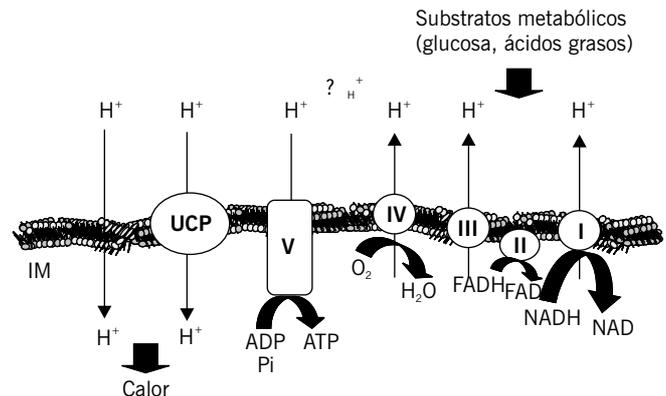
La termogénesis no es sólo un proceso activado o inhibido de acuerdo con el estado fisiopatológico del organismo. Es además un proceso característico de las células de los organismos homeotermos, y ello explica por qué su temperatura corporal se mantiene cerca de 37 °C incluso cuando el organismo se somete a temperaturas bajas. Cuando un mamífero se expone a la temperatura de neutralidad térmica (entre 18-20 °C en humanos), el calor producido corresponde al liberado mediante los procesos del metabolismo basal. La velocidad metabólica estándar puede ser medida de manera directa mediante la producción de calor o a través del consumo de oxígeno.

El metabolismo celular genera calor. Aparte de los períodos de la reproducción o de la lactancia, una considerable proporción de la energía que un individuo adulto en reposo obtiene de la ingesta alimentaria se pierde en forma de calor liberado durante el metabolismo celular³. En los animales, la energía libre deriva de la oxidación de los azúcares, la grasa y la proteína procedentes de la dieta. Esta oxidación se acopla con la reducción de NAD a NADH, de manera que la oxidación del NADH por la cadena de transporte de electrones se acopla, a su vez, a la generación de un gradiente de protones a través de la membrana mitocondrial interna (teoría quimiosmótica de Mitchell). La síntesis de ATP por la mitocondria se acopla al retorno de esos protones a la matriz mitocondrial por la ATP sintetasa mitocondrial. La teoría de Mitchell predice que la pérdida del gradiente de protones no acoplado a la fosforilación de ADP (denominado de manera general como goteo de protones) aumenta la disipación de energía en forma de calor. Además, procesos tales como son la síntesis de proteínas, el mantenimiento de los gradientes de sodio y de potasio a través de las membranas celulares, o la contracción muscular son procesos acoplados a la hidrólisis de ATP, y en consecuencia, termogénicos. En su momento se pensó que el metabolismo energético estaba completamente acoplado a la producción de ATP. Sin embargo, hoy sabemos que no todo el consumo de oxígeno tiene lugar en la mitocondria, y que una proporción significativa de la respiración mitocondrial no está acoplada a la síntesis de ATP (Figura 1).

La oxidación de sustratos y el tránsito de electrones por la cadena respiratoria producen calor, pero en el caso de la respiración desacoplada, esta generación de calor será independiente de la producción de trabajo. Se ha calculado que el goteo de protones es el responsable de cerca del 20% del consumo de oxígeno total en células, tejidos y organismos enteros⁴⁻⁶. Una cierta pérdida del gradiente de protones es inherente a todas las biomembranas, que no son absolutamente impermeables a los protones. Las tasas de este goteo de protones por decirlo así, "basal", depende de la superficie de la membrana mitocondrial interna y de la composición en ácidos grasos de los fosfolípidos de la membrana mitocondrial interna⁷⁻⁹. No obstante, esta permeabilidad puede aumentarse mediante la actividad de las denominadas proteínas desacopladoras UCPs, o por otros mecanismos aún no descritos en términos moleculares.

Dos aspectos han centrado una mayor atención con respecto al control del gasto energético: por un lado, el control del circuito neural sobre la termogénesis adaptativa y sobre el metabolismo basal, y por otro lado, la regulación de la termogénesis

Figura 1. Principales actividades metabólicas de la mitocondria



IM indica la membrana mitocondrial interna. El esquema representa la actividad de la cadena respiratoria, de la fosforilación oxidativa así como otros mecanismos de desacoplamiento y generación consiguiente de calor

en tejidos periféricos, que al fin son los que oxidan los sustratos. Aquí nos referiremos únicamente al segundo aspecto.

Cuando nos referimos a gasto metabólico y a termogénesis en tejidos periféricos, pensamos en aquellos que por su actividad intrínseca y/o por su masa total, juegan un papel en la regulación global del metabolismo. Así, en humanos, el tejido muscular se erige como el principal protagonista. En contraste, en roedores es el tejido adiposo marrón el principal tejido responsable de la termogénesis adaptativa. Tanto el músculo esquelético como el tejido adiposo marrón tienen el común su elevado contenido en mitocondrias.

La activa producción de calor en el tejido adiposo se explica mediante la elevada expresión de la proteína desacopladora UCP-1. Se ha propuesto que esta proteína actúa como un transportador de protones desde el espacio intermembrana mitocondrial hacia la matriz mitocondrial, provocando la pérdida del gradiente mitocondrial de protones, y en consecuencia, aumentando la respiración desacoplada y la generación de calor. En apoyo de esta idea, ratones deficientes en UCP-1 son extremadamente sensibles al frío pero no son susceptibles al desarrollo de obesidad, situación que sí se genera tras la ablación genética del tejido adiposo marrón en el ratón¹⁰. En consecuencia, deben existir otros mecanismos que operan controlando la tasa metabólica en el propio tejido adiposo marrón en roedores.

En los últimos años se han identificado otros miembros de la familia de las UCPs particularmente interesantes: UCP-2, proteína expresada en múltiples tejidos, y UCP-3, proteína expresada sobre todo en músculo y tejido adiposo marrón. Se ha propuesto que estas proteínas pudieran participar en el control del gasto energético en diversos tipos celulares y en tejidos. En este sentido, se ha descrito que tanto UCP-2 como UCP-3 aumentan la tasa de respiración desacoplada cuando se sobreexpresan en cultivos celulares, y la sobre-expresión de UCP-3 en el músculo esquelético de ratones transgénicos protege contra el desarrollo de la obesidad¹¹. Asimismo, la exposición de animales al frío, situación que se caracteriza por un incremento en el gasto energético, conduce al aumento en la expresión de

UCP-3 tanto en músculo como en tejido adiposo marrón. No obstante, también existen argumentos que contradicen la visión del papel termogénico de UCP-2 y UCP-3. Así, el ayuno, situación que se asocia a una reducción en el gasto energético total, provoca un incremento en la expresión génica de UCP-2 y de UCP-3¹². Además, los ratones “knock-out” carentes de UCP-2 o de UCP-3 no presentan ni tendencia a la obesidad, ni tienen un reducido gasto energético basal, ni son sensibles al frío¹³⁻¹⁵. En consecuencia, el posible papel termogénico de UCP-2 y de UCP-3 aún debe confirmarse.

Las mitocondrias pueden organizarse en filamentos o en redes

Clásicamente las mitocondrias se presentan en los libros de texto como orgánulos parecidos a gránulos, y con una forma más o menos elipsoidal. Ésta es la imagen que nos han proporcionado los estudios de microscopía electrónica, y que se ha grabado en nuestra conciencia científica colectiva. Más allá de este concepto, a finales de los setenta, algunos investigadores analizaron la morfología mitocondrial con nuevas técnicas. Mediante microscopía electrónica de alto voltaje, Bakeeva, *et al.*¹⁶ mostraron que las mitocondrias de diafragma de rata neonatal se presentaban como una red intrincada que se extendía a través de la fibra muscular. Debe aclararse que la observación de tales estructuras filamentosas no es fácil por los métodos clásicos de la microscopía electrónica ya que los corte ultrafinos de tejido nos da imágenes en dos dimensiones pero no reflejan la distribución real de las mitocondrias en el citoplasma. Los filamentos mitocondriales se extienden en tres dimensiones y en distintas direcciones, lo que dificulta la observación en un único plano de una porción significativa de un filamento. La razón por la que Bakeeva y colaboradores detectaron la existencia de una red mitocondrial fue debido a que la buscaron cerca de la línea Z, región en la que se localizan la mayoría de las mitocondrias, y ello lo realizaron por microscopía de alto voltaje utilizando secciones relativamente gruesas. Años después, Kayar, *et al.*¹⁷ confirmaron la existencia de estas redes mitocondriales en músculo de caballo mediante reconstrucción de secciones ultrafinas seriadas. Tanto por técnicas basadas en microscopía electrónica como por microscopía confocal de fluorescencia basada en reconstrucciones-3D, la organización de las mitocondrias como red compleja de filamentos largos interconectados, ha sido demostrada en corazón y en distintos tipos de fibras de músculo esquelético^{18,19}, todos ellos tejidos de elevada demanda energética. Por el contrario, otros tejidos muy ricos en mitocondrias, como el hígado, muestran las mitocondrias como orgánulos aislados y con forma redondeada.

Lejos de ser estáticas, las mitocondrias están en movimiento constante e interaccionan con otros orgánulos como el retículo endoplasmático²⁰ o con otras mitocondrias. Mediante análisis de grabación en vídeo de imágenes adquiridas por microscopía de fluorescencia, se han visualizado las mitocondrias moviéndose desde las regiones perinucleares de la célula a las regiones más periféricas unidas tanto a microtúbulos como a filamentos de actina²¹⁻²⁴. Durante su movimiento a través de los elementos del citoesqueleto, las mitocondrias se fusionan con otras formando filamentos, o éstas se disgregan produciendo mitocondrias aisladas, las cuales, a su vez, se dirigen en

distintas direcciones para volverse a fusionar con otras mitocondrias. En resumen, existen secuencias en vídeo que muestran el dinamismo de estos procesos de fusión y fisión mitocondrial^{25,26}.

Durante los últimos años, se han identificado y clonado algunas proteínas implicadas en los procesos de fusión y fisión mitocondrial. En la levadura, la fisión mitocondrial está mediada por una proteína relacionada con la dinamina o Dnm1p²⁷. Dnm1p presenta una elevada similitud a otras dinaminas en su dominio GTPasa, la cual se pierde en el extremo C-terminal de la proteína. Otra proteína relacionada con la dinamina es Mgm1p, la cual parece ser requerida para los procesos de fisión o remodelaje de la membrana mitocondrial interna²⁸. Las proteínas homólogas en mamífero de Dnm1p y Mgm1p son Drp1 y OPA1, y se expresan de forma ubicua y contribuyen a la correcta función y distribución mitocondriales^{29,30}. Una tercera GTPasa, no relacionada con la dinamina, fue identificada en *Drosophila* y se denominó Fzo, encontrándose implicada en la fisión mitocondrial³¹. En humanos, existen dos proteínas homólogas a Fzo denominadas Mitofusina-1 (Mfn1) y Mitofusina-2 (Mfn2)³². Mientras que la expresión de Mfn1 es ubicua, Mfn2 se expresa preferentemente en corazón, músculo esquelético y tejido adiposo marrón³³. Las dos proteínas parecen estar implicadas en los procesos de fusión mitocondrial³³⁻³⁵. No podemos olvidar que los procesos de fusión y la fisión mitocondrial implican a cuatro membranas, y por tanto aunque se han identificado algunas proteínas requeridas para estos procesos, es probable que existan más proteínas implicadas y aún no identificadas.

La teoría de “los cables transmisores de energía”

En paralelo a la identificación de la existencia de filamentos y redes mitocondriales en algunos tejidos como resultado de extensos procesos de fusión y fisión, se planteó la cuestión de cuál pudiera ser el papel fisiológico de la existencia de esta organización mitocondrial.

Uno de los primeros grupos científicos que intentaron responder a esta pregunta fue el dirigido por Victor Skulachev, en Moscú³⁶. En una serie de experimentos “*in vivo*”, emplearon microirradiación láser para seguir el acoplamiento de la energía mitocondrial. Marcaron las mitocondrias con una sonda que penetraba en los orgánulos dependiendo de su electronegatividad; estas sondas se acumulan principalmente en las mitocondrias, debido a su elevado potencial de membrana negativo. En estas condiciones, usando un haz suficientemente estrecho de luz láser, perforaron la membrana mitocondrial en un punto. La despolarización mitocondrial puede visualizarse por la pérdida de la tinción dependiente de potencial, mostrando, de este modo, que las mitocondrias estaban conectadas y organizadas en diferentes agregados que se extendían por el citoplasma³⁶. El hecho de que un filamento extenso y otros filamentos conectados con él, se despolarizaran cuando se generaba en la lesión en la membrana mitocondrial en un único punto de 0,5mm de diámetro, demostró que las redes mitocondriales funcionaban como una unidad eléctrica compartiendo el mismo potencial de membrana. Recientemente, se han obtenido conclusiones similares por otros grupos, mediante medidas de recuperación de fluorescencia después del “photobleaching” (FRAP)³⁷, o siguiendo sucesos sincrónicos de despolarización³⁸. Estas observaciones,

junto con el hecho de que las redes mitocondriales extensas son constitutivas en tejidos compuestos de células con gasto energético elevado, como es el caso del músculo, condujo a Skulachev a proponer la teoría de "los cables transmisores de energía"^{39,40}. Esta teoría propone que una red mitocondrial extensa es eficiente en condiciones en las que la disponibilidad de oxígeno en la región central de la fibra muscular se convierte en el paso limitante con el objeto de mantener la actividad de la cadena respiratoria. En estas condiciones, el funcionamiento mitocondrial pudiera ser de tal modo que las mitocondrias subsarcolemas consumieran el oxígeno que difunde desde el capilar hasta el sarcolema; a continuación, el gradiente de protones generado por la cadena respiratoria sería transmitido en el retículo de mitocondrias localizado en el espesor de la fibra a través de los filamentos mitocondriales, donde tendría lugar la síntesis de ATP. Esta organización de la transmisión de la energía tiene dos ventajas importantes: a. puede permitir una concentración de oxígeno baja en el centro de la fibra muscular o célula sin producir consecuencias negativas para la producción de energía; y b. cuando existe una gran demanda de ATP, la tasa de síntesis de ATP puede mantenerse a elevada velocidad, sin ser limitada por la tasa de difusión de oxígeno (o de sustratos) a través del citosol, ya que la transmisión del gradiente de protones a través de las mitocondrias debiera ser prácticamente inmediata. Este mecanismo podría ser de gran importancia en situaciones de hipoxia o durante el ejercicio intenso.

La función mitocondrial en enfermedades metabólicas

Un defecto en la función mitocondrial puede desencadenar enfermedades metabólicas tales como la diabetes. Así, una mutación puntual en el DNA mitocondrial conduce a una forma de diabetes que se hereda vía materna y se asocia con sordera. A su vez, la obesidad o la diabetes se asocian a defectos en el metabolismo mitocondrial. Así, por ejemplo, se ha observado una disminución marcada en la respiración celular y en el potencial de membrana en cardiomiocitos de rata durante la diabetes inducida por estreptozotocina⁴¹. Asimismo, se han detectado tasas de oxidación del estado 3 reducidas tanto a partir de palmitoilcarnitina como a partir de piruvato, en mitocondrias aisladas de ratones diabéticos db/db⁴². Además, en músculo esquelético de animales obesos se ha descrito una reducida captación de glucosa en estado basal y tras estimulación por insulina^{43,44}, y un reducido consumo de oxígeno⁴⁵ lo que sugiere que la obesidad se caracteriza por una tasa reducida de oxidación de sustratos.

En el mismo sentido, mediante medidas obtenidas por tomografía computacional, Simoneau, *et al.*⁴⁶ mostraron que el incremento en las reservas de grasas en músculo esquelético de sujetos obesos o diabéticos de tipo 2 estaba estrechamente relacionado con una reducida capacidad oxidativa en músculo y con la presencia de resistencia a la insulina. Además, la velocidad máxima de los enzimas oxidativos está disminuida en diabéticos de tipo 2, mientras que la actividad de enzimas glucolíticas está elevada⁴⁷. La relación existente entre las actividades hexoquinasa y citrato sintasa presenta una fuerte correlación con la sensibilidad a la insulina, sugiriendo que una alteración

entre la capacidad oxidativa mitocondrial y la capacidad glucolítica pudiera ser un componente importante en el desarrollo de resistencia a la insulina⁴⁷. Kelley, *et al.*⁴⁸ han descrito una disminución de la fosforilación oxidativa así como del ciclo de los ácidos tricarbónicos en el músculo esquelético de pacientes diabéticos de tipo 2. Esta alteración en la capacidad bioenergética de las mitocondrias de músculo esquelético se asocia con la presencia de mitocondrias de tamaño más pequeño en sujetos diabéticos de tipo 2 y en sujetos obesos⁴⁸. Recientemente, Petersen, *et al.*⁴⁹ han mostrado una actividad de oxidación mitocondrial disminuida en el músculo esquelético de personas de edad avanzada y con resistencia a insulina en comparación con personas jóvenes. Estos cambios se asocian a un incremento en la acumulación de grasa en músculo e hígado, sugiriendo que la deficiente actividad mitocondrial pudiera ser el elemento conector entre la disminuida oxidación de sustratos y la resistencia a la insulina.

Agrupando todos estos estudios, se desprende que una disfunción mitocondrial (tanto primaria o secundaria a otras iniciales) pudiera ser un elemento central en la fisiopatología de la obesidad y/o de la diabetes. Una actividad defectuosa de la cadena respiratoria implica un menor consumo de oxígeno y una menor oxidación de sustratos. Un defecto en la oxidación de lípidos conducirá a un incremento en la deposición de lípidos, aspecto que se ha descrito como factor causal de la resistencia a la insulina y en la diabetes. Un defecto en la oxidación de sustratos total (tanto de carbohidratos como de lípidos) estará asociado a un reducido gasto energético, que es uno de los factores principales para el desarrollo de la obesidad⁵⁰. Además, una actividad disminuida de la cadena respiratoria, podría comprometer el componente de la respiración destinado a termogénesis.

Implicaciones de morfología mitocondrial en el metabolismo

De todas las observaciones mencionadas anteriormente destacan dos conceptos básicos: a. en algunos tejidos como el músculo esquelético, las mitocondrias están organizadas formando intrincadas redes mitocondriales, y estas redes trabajan como unidades eléctricas para transmitir el potencial de membrana mitocondrial, y b. se requiere una función mitocondrial normal para la correcta homeostasis de sustratos oxidativos, ya que una disfunción mitocondrial puede conducir a enfermedades metabólicas o contribuir a la fisiopatología de la obesidad y de la diabetes.

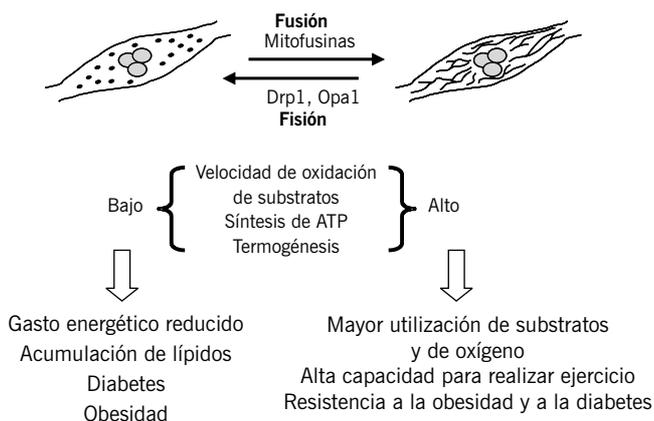
A partir de estos puntos, se puede plantear una cuestión ciertamente relevante como es si existe algún tipo de relación entre la morfología mitocondrial y el metabolismo mitocondrial. Y si la respuesta fuera afirmativa, se puede lanzar una pregunta adicional sobre si este tipo de interacción funcional pudiera jugar algún papel en el desarrollo o en la fisiopatología de enfermedades metabólicas tales como la diabetes o la obesidad.

En nuestro laboratorio hemos analizado la relación existente entre la extensión de la red mitocondrial y el metabolismo de la mitocondria³³. Como se comentó anteriormente, la mitofusina-2 (Mfn2) es una proteína importante en la fusión mitocondrial en mamíferos y se expresa principalmente en corazón y músculo esquelético, es decir, en tejidos con una de-

manda energética elevada y con una organización mitocondrial en forma de redes. Hemos empleado la infección con una construcción adenoviral de una secuencia antisentido para Mfn2 para reprimir la expresión de la proteína en células musculares. En miotubos L6E9, la represión de Mfn2 condujo a la disgregación de la red mitocondrial, con la subsiguiente aparición de mitocondrias aisladas y por lo tanto, quedando desacopladas eléctricamente³³. La teoría de Skulachev de los “cables transmisores de energía” propone que una distribución mitocondrial desagregada debiera tener una menor capacidad para oxidar sustratos. De hecho, la incubación de células, con reprimida expresión de Mfn2, en presencia de glucosa 5 mM se caracterizó por tasas de oxidación³³. Además, como consecuencia del disminuido transporte de electrones en la mitocondria, se observó una disminución en el potencial de membrana mitocondrial³³. Ésta alteración en el transporte electrónico, se relacionó con una disminución en la respiración desacoplada más que con una reducción en la tasa de síntesis de ATP³³. De estos resultados concluimos que la extensión de la red mitocondrial regula la capacidad máxima de oxidación de sustratos y del consumo celular de oxígeno.

Nuestro laboratorio también ha descrito que la expresión de Mfn2 se reprime en músculo esquelético de sujetos obesos³³ lo que sugiere: a. que la Mfn2 puede que participe en la fisiopatología de la obesidad, y/o, b. que incluso Mfn2 pudiera participar en el desencadenamiento de la obesidad. En este sentido, hemos observado que las mitocondrias de músculo esquelético de ratas obesas Zucker son de tamaño más pequeñas respecto al grupo control, mientras que el volumen mitocondrial es el mismo en los dos grupos³³. Esta observación es para-

Figura 2. Esquema hipotético sobre la interacción entre morfología y metabolismo mitocondriales



La generación de redes mitocondriales es el resultado de procesos de fusión y de fisión. La fusión mitocondrial está mediada en mamíferos por Mitofusina-1 y Mitofusina-2, mientras que la fisión mitocondrial es mediada por Drp1 y Opa1. Una red mitocondrial bien desarrollada permite una elevada utilización de sustratos oxidativos, y en consecuencia, una elevada tasa de síntesis de ATP y una alta respiración no acoplada (termogénesis). Esta elevada utilización de sustratos y de oxígeno puede permitir una mayor capacidad de realizar ejercicio así como resistencia a la obesidad y a la diabetes. Por el contrario, una red mitocondrial reducida se caracteriza por una menor utilización de sustratos oxidativos, ya que la difusión de sustratos o del oxígeno se hace limitante en el citoplasma. Ello pudiera conducir a una reducción del gasto energético, la acumulación de lípidos y el aumento del riesgo en de desarrollar obesidad o diabetes

lela a la publicada por Kelley, *et al.* en músculo esquelético de sujetos obesos y diabéticos⁴⁸ y sugieren una menor fusión mitocondrial en el músculo en la obesidad. Nosotros proponemos que una disminuída expresión de Mfn2 conduce a una alteración de la red mitocondrial por lo menos en el músculo lo cual a su vez genera una reducción en la tasa de oxidación de sustratos y en el consumo de oxígeno, así como a una aumentada deposición de lípidos incrementada. Debe notarse que estos dos aspectos son determinantes confiriendo susceptibilidad tanto a obesidad como a la diabetes. Por el contrario, una red mitocondrial intacta en corazón y en músculo esquelético, debe facilitar un mejor uso de sustratos y de oxígeno tal y como se menciona en la teoría de “los cables transmisores de Skulachev”. Pensamos que ello puede ser central para una correcta y óptima función del músculo y para mantener una cierta resistencia al desarrollo de obesidad o de diabetes (Figura 2). Esta hipótesis plantea toda una serie de cuestiones, como son: a. ¿qué procesos permiten que la oxidación de sustratos sea superior en presencia de elevados niveles de Mfn2?, b. ¿qué elementos son relevantes desde el punto de vista mecanístico para aumentar la oxidación de sustratos? ¿Es la propia proteína Mfn2, son proteínas asociadas, son otros elementos pero dependientes de la forma de la mitocondria? Estas preguntas deberán ser contestadas experimentalmente.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado gracias a ayudas recibidas del Ministerio de Ciencia y Tecnología (SAF2002-02125), Fundació la Marató de TV3 (300720), ayuda SGR01-118 de la Generalitat de Catalunya, y del Instituto de Salud Carlos III RCMN (C03/08), RGTO (G03/028) y RGDM (G03/212).

Bibliografía

- Himms-Hagen J, Ricquier D. Brown adipose tissue. En: Bray G, Bouchard C, James W. Marcel Dekker. *Handbook of Obesity* ed. New York, Basel, Hong Kong, 1998;415-41.
- Ricquier D, Bouillaud F. Mitochondrial uncoupling proteins: from mitochondria to the regulation of energy balance. *Mitochondrial uncoupling proteins: from mitochondria to the regulation of energy balance. J Physiol* 2000;529:3-10.
- Girardier L. Brown fat: an energy dissipating tissue. En: Girardier L, Stock M. E. ed. *Mammalian Thermogenesis*. London: Chapman & Hall, 1983;51-97.
- Brand MD. Uncoupling to survive? The role of mitochondrial inefficiency in ageing. *Exp Gerontol* 2000;35:811-20.
- Rolfe DF, Brand MD. Contribution of mitochondrial proton leak to skeletal muscle respiration and to standard metabolic rate. *Am J Physiol* 1996;271:C1380-1389.
- Rolfe DF, Newman JM, Buckingham JA, Clark MG, Brand MD. Contribution of mitochondrial proton leak to respiration rate in working skeletal muscle and liver and to SMR. *Am J Physiol* 1999;276:C692-699.
- Brand MD, Couture P, Else PL, Withers KW, Hulbert AJ. Evolution of energy metabolism. Proton permeability of the inner membrane of liver mitochondria is greater in a mammal than in a reptile. *Biochem J* 1991;275:81-6.
- Brand MD, Chien LF, Ainscow EK, Rolfe DF, Porter RK. The causes and functions of mitochondrial proton leak. *Biochim Biophys Acta* 1994;1187:132-9.

9. Porter RK, Hulbert AJ, Brand MD. Allometry of mitochondrial proton leak: influence of membrane surface area and fatty acid composition. *Am J Physiol* 1996;271:R1550-1560.
10. Lowell BB, Flier JS. Brown adipose tissue, beta 3-adrenergic receptors, and obesity. *Annu Rev Med* 1997;48:307-16.
11. Clapham JC, Arch JR, Chapman H, Haynes A, Lister C, Moore GB, et al. Mice overexpressing human uncoupling protein-3 in skeletal muscle are hyperphagic and lean. *Nature* 2000;406:415-8.
12. Boss O, Hagen T, Lowell BB. Uncoupling proteins 2 and 3: potential regulators of mitochondrial energy metabolism. *Diabetes* 2000;49:143-56.
13. Arsenijevic D, Onuma H, Pecqueur C, Raimbault S, Manning BS, Miroux B, et al. Disruption of the uncoupling protein-2 gene in mice reveals a role in immunity and reactive oxygen species production. *Nat Genet* 2000;26:435-9.
14. Gong DW, Monemdjou S, Gavrilova O, Leon LR, Marcus-Samuels B, Chou CJ, et al. Lack of obesity and normal response to fasting and thyroid hormone in mice lacking uncoupling protein-3. *J Biol Chem* 2000;275:16251-7.
15. Vidal-Puig AJ, Grujic D, Zhang CY, Hagen T, Boss O, Ido Y, et al. Energy metabolism in uncoupling protein 3 gene knockout mice. *J Biol Chem* 2000;275:16258-66.
16. Bakeeva LE, Chentsov YuS, Skulachev VP. Mitochondrial framework (reticulum mitochondriale) in rat diaphragm muscle. *Biochim Biophys Acta* 1978;501:349-69.
17. Kayar SR, Hoppeler H, Mermod L, Weibel ER. Mitochondrial size and shape in equine skeletal muscle: a three-dimensional reconstruction study. *Anat Rec* 1988;222:333-9.
18. Tiivel T, Kaday L, Kuznetsov A, Kaambre T, Peet N, Sikk P, et al. Developmental changes in regulation of mitochondrial respiration by ADP and creatine in rat heart in vivo. *Mol Cell Biochem* 2000;208:119-28.
19. Ogata T, Yamasaki Y. Ultra-high-resolution scanning electron microscopy of mitochondria and sarcoplasmic reticulum arrangement in human red, white, and intermediate muscle fibers. *Anat Rec* 1997;248:214-23.
20. Rizzuto R, Pinton P, Carrington W, Fay FS, Fogarty KE, Lifshitz LM, et al. Close contacts with the endoplasmic reticulum as determinants of mitochondrial Ca²⁺ responses. *Science* 1998;280:1763-66.
21. Bereiter-Hahn, J. Behavior of mitochondria in the living cell. *International Review Of Cytology* 1990;122:1-63.
22. Hermann GJ, Shaw JM. Mitochondrial dynamics in yeast. *Annu Rev Cell Dev Biol* 1998;14:265-303.
23. Shaw JM, Nunnari J. Mitochondrial dynamics and division in budding yeast. *Trends Cell Biol.* 2002; 12: 178-184.
24. Krendel M, Sgourdas G, Bonder EM. Disassembly of actin filaments leads to increased rate and frequency of mitochondrial movement along microtubules. *Cell Motil Cytoskeleton* 1998;40:368-378.
25. Suelmann R, Fischer R. Mitochondrial movement and morphology depend on an intact actin cytoskeleton in *Aspergillus nidulans*. *Cell Motil Cytoskeleton* 2000;45:42-50.
26. Legesse-Miller A, Massol RH, Kirchhausen T. Constriction and Dnm1p recruitment are distinct processes in mitochondrial fission. *Mol Biol Cell* 2003;14:1953-63.
27. Otsuga D, Keegan BR, Brisch E, Thatcher JW, Hermann GJ, Bleazard W, Shaw JM. The dynamin-related GTPase, Dnm1p, controls mitochondrial morphology in yeast. *J Cell Biol* 1998;143:333-49.
28. Wong ED, Wagner JA, Gorsich SW, McCaffery JM, Shaw JM, Nunnari J. The dynamin-related GTPase, Mgm1p, is an intermembrane space protein required for maintenance of fusion competent mitochondria. *J Cell Biol* 2000;151:341-52.
29. Delettre C, Lenaers G, Griffoin JM, Gigarel N, Lorenzo C, Belenguer P, et al. Nuclear gene OPA1, encoding a mitochondrial dynamin-related protein, is mutated in dominant optic atrophy. *Nat Genet* 2000;26:207-10.
30. Smirnova E, Shurland DL, Ryazantsev SN, van der Bliek AM. A human dynamin-related protein controls the distribution of mitochondria. *J Cell Biol* 1998;143:351-8.
31. Hales KG, Fuller MT. Developmentally regulated mitochondrial fusion mediated by a conserved, novel, predicted GTPase. *Cell* 1997;90:121-9.
32. Santel A, Fuller MT. Control of mitochondrial morphology by a human mitofusin. *J Cell Sci* 2001;114:867-74.
33. Bach D, Pich S, Soriano FX, Vega N, Baumgartner B, Oriola J, et al. Mitofusin-2 determines mitochondrial network architecture and mitochondrial metabolism. A novel regulatory mechanism altered in obesity. *J Biol Chem* 2003;278:17190-7.
34. Santel A, Frank S, Gaume B, Herrler M, Youle RJ, Fuller MT. Mitofusin-1 protein is a generally expressed mediator of mitochondrial fusion in mammalian cells. *J Cell Sci* 2003;116:2763-74.
35. Legros F, Lombes A, Frachon P, Rojo M. Mitochondrial fusion in human cells is efficient, requires the inner membrane potential, and is mediated by mitofusins. *Mol Biol Cell* 2002;13:4343-54.
36. Amchenkova AA, Bakeeva LE, Chentsov YS, Skulachev VP, Zorov DB. Coupling membranes as energy-transmitting cables. I. Filamentous mitochondria in fibroblasts and mitochondrial clusters in cardiomyocytes. *J Cell Biol* 1988;107:481-95.
37. Collins TJ, Berridge MJ, Lipp P, Bootman MD. Mitochondria are morphologically and functionally heterogeneous within cells. *EMBO J* 2002;21:1616-27.
38. De Giorgi F, Lartigue L, Ichas F. Electrical coupling and plasticity of the mitochondrial network. *Cell Calcium* 2000;28:365-70.
39. Skulachev VP. Power transmission along biological membranes. *J Membr Biol* 1990;114:97-112.
40. Skulachev VP. Mitochondrial filaments and clusters as intracellular power-transmitting cables. *Trends Biochem Sci* 2001;26:23-9.
41. Tanaka Y, Konno N, Kako KJ. Mitochondrial dysfunction observed in situ in cardiomyocytes of rats in experimental diabetes. *Cardiovasc Res* 1992;26:409-14.
42. Kuo TH, Moore KH, Giacomelli F, Wiener J. Defective oxidative metabolism of heart mitochondria from genetically diabetic mice. *Diabetes*. 1983; 32: 781-787.
43. Cuendet GS, Loten EG, Jeanrenaud B, Renold AE. Decreased basal, noninsulin-stimulated glucose uptake and metabolism by skeletal soleus muscle isolated from obese-hyperglycemic (ob/ob) mice. *J Clin Invest* 1976;58:1078-88.
44. Kemmer FW, Berger M, Herberg L, Gries FA, Wirdeier A, Becker K. Glucose metabolism in perfused skeletal muscle. Demonstration of insulin resistance in the obese Zucker rat. *Biochem J* 1979;178:733-41.
45. Kaplan ML, Oh SS. Oxygen consumption of muscles from ob/ob and Ay/a strains of obese mice. *Int J Obes* 1991;15:809-12.
46. Simoneau JA, Colberg SR, Thaete FL, Kelley DE. Skeletal muscle glycolytic and oxidative enzyme capacities are determinants of insulin sensitivity and muscle composition in obese women. *FASEB J* 1995;9:273-8.
47. Simoneau JA, Kelley DE. Altered glycolytic and oxidative capacities of skeletal muscle contribute to insulin resistance in NIDDM. *J Appl Physiol* 1997;83:166-71.
48. Kelley DE, He J, Menshikova EV, Ritov VB Dysfunction of mitochondria in human skeletal muscle in type 2 diabetes. *Diabetes* 2002;51:2944-50.
49. Petersen KF, Befroy D, Dufour S, Dziura J, Ariyan C, Rothman DL, et al. Mitochondrial dysfunction in the elderly: possible role in insulin resistance. *Science* 2003;300:1140-2.
50. Ravussin E, Lillioja S, Knowler WC, Christin L, Freymond D, Abbott WG, et al. Reduced rate of energy expenditure as a risk factor for body-weight gain. *N Engl J Med* 1988;318:467-72.