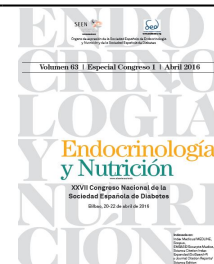




Endocrinología y Nutrición



P-028. - PAPEL DEL TSC2 EN LA REGULACIÓN DE LA DINÁMICA MITOCONDRIAL Y DE LA MITOFAGIA

A. García Aguilar^a, A. Bartolomé^b, C. Guillén Viejo^a y M.R. Benito de las Heras^a

^aDepartamento de Bioquímica y Biología Molecular II, Facultad de Farmacia, Universidad Complutense de Madrid, CIBER de Diabetes y Enfermedades Metabólicas Relacionadas (CIBERDEM), Instituto de Salud Carlos III (ISCIII), Madrid. ^bColumbia University Medical Center, Nueva York.

Resumen

Introducción: TSC2 es un regulador negativo de la ruta mTORC1, y la eliminación del mismo en la célula ? pancreática causa una hiperactivación de esta vía generando un aumento de la masa de las células ? mediada principalmente por una hipertrofia celular. mTORC1 está implicado en la biogénesis mitocondrial y es un inhibidor clásico de la macroautofagia, y su hiperactivación, conduce a una inhibición tanto de la autofagia como de la mitofagia (autofagia específica de mitocondrias), resultando en un aumento de la masa mitocondrial. Una macroautofagia eficiente es esencial para el mantenimiento de la homeostasis de la célula ?. En este trabajo, se describe el papel esencial del TSC2 sobre la regulación específica de la mitofagia.

Material y métodos: Hemos utilizado dos líneas celulares de fibroblastos embrionarios murinos (MEF) *TSC2* +/+ y *TSC2* -/- para el análisis de los efectos de la proteína TSC2 sobre la mitofagia y dinámica mitocondrial. Se han realizado estudios de análisis de expresión génica y proteica, inmunofluorescencia, transfección transitoria relacionadas con la ruta mTORC1, flujo autofágico y mitofagia. También, hemos generado MEF *TSC2* +/+ y *TSC2* -/- que expresan de una manera estable la construcción GFP-LC3B.

Resultados: Hemos observado que las células MEF *TSC2* -/- presentan una hiperactivación de la ruta mTORC1 y un impedimento en la activación de la autofagia, mediante el uso de un inhibidor del flujo autofágico (cloroquina). Asimismo, tras una estimulación con un inductor de mitofagia (CCCP) se recluta PINK1 en la membrana mitocondrial con un potencial de membrana colapsado. Sin embargo, las células MEF *TSC2* -/- con CCCP presentan un defecto cuantitativo (a nivel transcripcional) de acumulación de PINK1, y en presencia de rapamicina (inductor de la macroautofagia) se induce la transcripción de PINK1, pero no su acumulación por *western blot*. La reintroducción de TSC2 en las células MEF *TSC2* -/- es capaz de revertir la acumulación de PINK1 en presencia de CCCP y activar la mitofagia. Por otro lado, la eliminación de esta proteína conduce a una alteración de la dinámica mitocondrial (equilibrio fusión/fisión).

Conclusiones: En la progresión a la diabetes tipo 2 existe una hiperactivación de la ruta de mTORC1 en la célula ?. Dicha hiperactivación conduce a una autofagia impedida. TSC2 es capaz de disminuir dicha ruta y tiene un papel *per se* en la activación de la mitofagia y en el mantenimiento de la homeostasis mitocondrial. Entender las bases moleculares que suceden en el deterioro de la célula ? pancreática es de vital importancia para atenuar la progresión a la diabetes tipo 2.