

La proteína desacoplante mitocondrial UCP3, ¿un nuevo actor en el metabolismo muscular de los ácidos grasos?

F. Villarroya

Departament de Bioquímica i Biologia Molecular. Universitat de Barcelona. Barcelona. España.

Introducción

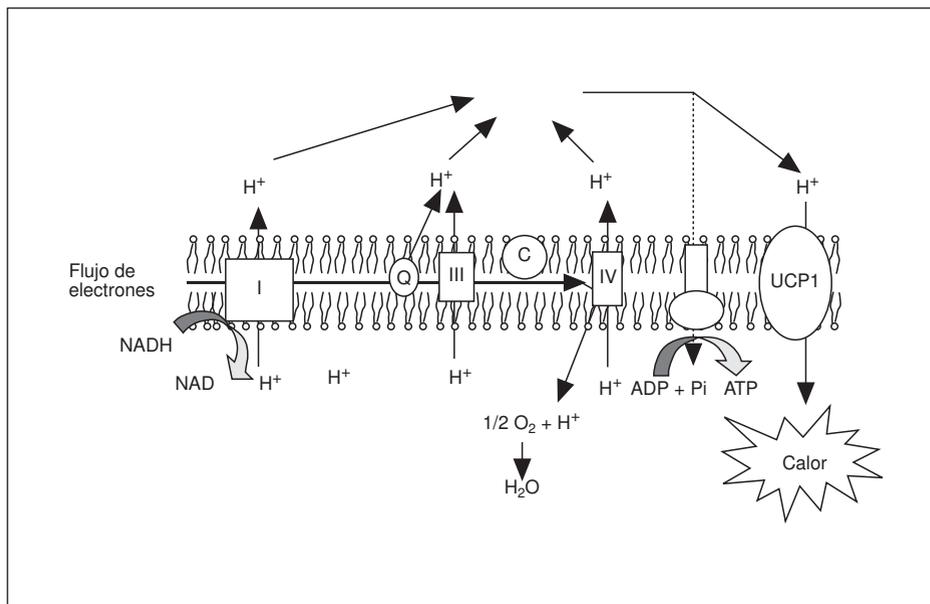
La investigación sobre proteínas desacoplantes mitocondriales (UCP) ha estado ligada históricamente al estudio del equilibrio energético en el organismo. El peso corporal es el resultado del equilibrio entre la entrada de energía metabólica (dieta) y el gasto energético. Conocer los mecanismos moleculares que determinan el gasto energético es esencial para la comprensión de la etiopatogenia de la obesidad y otras alteraciones metabólicas en que el exceso de energía se acumula en forma de grasas. Desde el punto de vista fisiológico, existen varios componentes que determinan el gasto energético en mamíferos: el ejercicio físico, la tasa metabólica basal, el efecto térmico de la comida y la termogénesis adaptativa. En humanos, diversos estudios han establecido que una reducción en la termogénesis adaptativa es una de las alteraciones en la homeostasis energética que dan lugar a la obesidad. Estudios en varias poblaciones de obesos, y especialmente en subpoblaciones que muestran resistencia a la disminución del peso corporal en respuesta a dietas hipocalóricas, han revelado una disminución en el gasto energético^{1,2}. La obesidad puede ser, por tanto, explicada no sólo sobre la base de un aumento en la ingestión de alimentos, sino también por un defecto en el gasto energético, y por ello los mecanismos moleculares que determinan este proceso son objeto de una activa investigación.

El desacoplamiento mitocondrial: un mecanismo fisiológico de regulación del gasto energético

Probablemente el mecanismo mejor conocido de regulación del gasto energético es el que viene mediado por la proteína desacoplante-1 mitocondrial (UCP1) del tejido adiposo marrón. La proteína UCP1 es capaz de mediar un desacoplamiento fisiológico de la fosforilación oxidativa mitocondrial, ya que actúa como vía de permeabilización a los protones en la membrana mitocondrial interna. Ello da lugar a un aumento en la tasa de oxidación de sustratos asociado a niveles mínimos de síntesis de ATP, de forma que la energía liberada por la oxidación aparece en forma de calor tal y como se muestra en la figura 1. La proteína UCP1 se halla tan sólo en la grasa parda o tejido adiposo marrón, tejido especializado en la termogénesis adaptativa³. Los adipocitos marrones contienen depósitos de triglicéridos en forma multilocular, así como un gran número de mitocondrias que contienen UCP1. El tejido adiposo marrón es el lugar principal en que se da la termogénesis no asociada a temblor en roedores, mamíferos invernantes y neonatos de la mayoría de mamíferos, incluyendo la especie humana⁴. Aunque su papel principal es la termogénesis en respuesta a ambientes fríos con el objetivo de preservar la temperatura corporal, en 1979, Rothwell y Stock propusieron que la maquinaria termogénica del tejido adiposo marrón podría servir para “quemar” el exceso de calorías procedentes de la dieta y actuar como un mecanismo de prevención de la acumulación de grasa corporal en respuesta a la hiperfagia⁵. Esta hipótesis fue confirmada en 1994 con la obtención de ratones transgénicos deficientes en tejido adiposo marrón los cuales mostraban no sólo intole-

Correspondencia: Dr. F. Villarroya.
Departament de Bioquímica i Biologia Molecular.
Universitat de Barcelona.
Avda. Diagonal, 645. 08028 Barcelona. España.
Correo electrónico: gombau@porthos.bio.ub.es

Figura 1. Esquema del funcionamiento de la proteína UCP1 como desacoplante fisiológico de la fosforilación oxidativa respecto a la cadena respiratoria. UCP1 permeabiliza la membrana mitocondrial interna a los protones dando lugar a altas tasas de oxidación y disipación de energía en forma de calor. I, III y IV: complejos I, III y IV de la cadena respiratoria.



rancia al frío sino también obesidad en respuesta a dietas ricas en grasas⁶.

Aunque la relevancia del tejido adiposo marrón y UCP1 en la termogénesis inducida por la dieta es clara en roedores, no ocurre lo mismo en relación con humanos adultos, en los que la mayoría de los investigadores considera que el papel del tejido adiposo marrón es poco relevante. Ello es debido a que los humanos, como otros mamíferos de tamaño grande, carecen de depósitos definidos de tejido adiposo marrón en la vida adulta. El tejido adiposo marrón se halla presente en distintas localizaciones anatómicas del neonato, pero involuciona con la edad y los depósitos adiposos de humanos en edad adulta corresponden a tejido adiposo blanco que no tienen la función de disipar energía sino todo lo contrario, de almacenarla en forma de triglicéridos⁷. No obstante, la cuestión no se encuentra totalmente zanjada, ya que existen ciertas evidencias procedentes de la genética y la biología molecular que no permiten excluir de forma definitiva un posible papel fisiológico del adipocito marrón en adultos. En primer lugar, se sabe que en humanos adultos existe la posibilidad de activar el tejido adiposo marrón frente a determinadas situaciones patológicas, como por ejemplo en pacientes de feocromocitoma⁸, o fisiológicas, tal y como se ha observado en trabajadores finlandeses expuestos con frecuencia a ambientes fríos⁹. Por otra parte, pese a la ausencia de depósitos definidos de tejido adiposo marrón, en humanos adultos pueden hallarse adipocitos marrones dispersos entre los

adipocitos blancos dentro de los depósitos de tejido adiposo. Dado que el único marcador que permite la distinción inequívoca de un adipocito como blanco o marrón es precisamente UCP1, se han realizado estudios sobre la expresión del gen *UCP1* en depósitos adiposos de humanos adultos mediante métodos de alta sensibilidad implicando la PCR (reacción en cadena de la polimerasa). Dichos análisis han demostrado la presencia de una pequeña, pero sustancial expresión de UCP1 en diversos depósitos adiposos de adultos, así como alteraciones de dicha expresión en individuos obesos^{10,11}. Otra contribución al debate sobre el papel del adipocito marrón en el adulto procede de la genética. Múltiples estudios han establecido asociaciones significativas entre polimorfismos del gen *UCP1* y alteraciones relacionadas con la obesidad, tales como la tendencia a la ganancia de peso corporal con el tiempo tanto en individuos normales como en los ya obesos. La asociación más frecuente corresponde a un polimorfismo de base única en la región 5' no codificante del gen *UCP1* humano, una región donde se hallan los elementos potenciales de regulación de la transcripción del gen^{12,13}.

1997: identificación de las nuevas proteínas desacoplantes mitocondriales, hito en la investigación sobre bioenergética en humanos

Un hito en la investigación en este campo tuvo lugar en 1997 cuando varios laboratorios identificaron genes codificantes para proteínas con una identidad significativa con UCP1. Se les llamó

UCP2 (54% de identidad), UCP3 (57% de identidad) y UCP4 (34% de identidad) y se estableció así toda una nueva familia de proteínas UCP mitocondriales¹⁴⁻¹⁶. Estos hallazgos fueron considerados como clave en la investigación sobre los mecanismos moleculares del gasto energético, ya que, a diferencia de UCP1, las nuevas UCP no tenían su expresión restringida al adipocito marrón, sino que se expresaban de forma importante en diversos tejidos humanos. La idea subyacente tras el descubrimiento de las nuevas UCP era que si su mecanismo de acción era similar al de UCP1 podrían explicar un mecanismo similar de control del gasto energético en humanos adultos. De hecho, se sabía que un cierto grado de permeabilidad a los protones (o dicho de otro modo, la “no-perfecta” impermeabilidad) de la membrana mitocondrial interna es responsable de una parte importante del gasto energético en humanos¹⁷. Sin embargo, en ese momento se desconocía si dicho fenómeno era debido a la actividad de determinadas proteínas, tipo UCP1, o se debía a propiedades intrínsecas de la membrana mitocondrial interna. Las nuevas proteínas UCP aparecían como candidatos óptimos de dicha función en los tejidos y órganos humanos.

Desde 1997, más de 300 artículos científicos han sido publicados sobre distintos aspectos de la biología de las nuevas UCP, lo cual da idea del impacto creado por su descubrimiento. No obstante, 5 años después de este descubrimiento, nos hallamos lejos de comprender los mecanismos precisos de funcionamiento, su función específica y cuán parecida es ésta a UCP1, así como cuál es su papel, si es que realmente existe, en el control del gasto energético y las alteraciones metabólicas. No obstante, nos hallamos ante un panorama que indica que estas nuevas UCP ejercen un papel en determinados procesos relacionados con la eficiencia energética mitocondrial, así como en múltiples procesos biológicos en que el metabolismo energético es determinante.

Las nuevas UCP y el gasto energético: ¿UCP3 es el mejor candidato?

Los modelos experimentales de sobreexpresión de las proteínas UCP2, UCP3 y UCP4 han indicado de todas ellas que poseen la capacidad de desacoplar la fosforilación oxidativa de la cadena respiratoria^{14,16,18}. Sin embargo, la relevancia fisiológica de dicha observación y la posibilidad de que dichas proteínas estuvieran actuando de forma análoga a UCP1 fue cuestionada rápidamente por los estudios acerca de su expresión génica. Así, el ARNm de UCP2 se expresa de forma ubicua, aunque mayori-

tariamente en macrófagos, bazo, intestino o pulmón¹⁴, es decir, tejidos y órganos no asociados a los procesos de termogénesis inducida por la dieta en humanos. De forma análoga, la expresión del ARNm de UCP4 se produce de forma preferente en el cerebro¹⁶. Por el contrario, se pudo establecer que UCP3 se expresaba de forma casi exclusiva en el tejido musculoesquelético, el principal tejido termogénico en humanos^{15,19}. Asimismo, tanto en animales de experimentación como en humanos, la expresión del gen *UCP3* se induce tras el nacimiento²⁰ o tras una dieta rica en grasas²¹, estímulos fisiológicos en que la termogénesis adaptativa se ve estimulada. No obstante, de nuevo la hipótesis de que UCP3 podría ser un mediador de la termogénesis adaptativa se vio cuestionada por una observación acerca de su expresión génica: el gen *UCP3* incrementaba su expresión intensamente en respuesta al ayuno tanto en animales experimentales como en humanos²², situación en la que promover el gasto energético no tendría sentido. Todos los resultados posteriores y la evidencia actualmente recopilada a través de múltiples trabajos indica que la expresión del gen *UCP3* en el tejido musculoesquelético no responde al estatus energético global del organismo y a sus necesidades globales de mayor o menor gasto energético según la situación fisiológica, sino específicamente a la disponibilidad de ácidos grasos como sustrato metabólico.

Ácidos grasos y control de la expresión del gen UCP3 en el tejido musculoesquelético

Todos los estudios realizados hasta el momento han demostrado que siempre que niveles elevados de ácidos grasos se hallan disponibles para ser utilizados por el tejido musculoesquelético, la expresión del gen *UCP3* se halla fuertemente inducida. Esto es así tanto si los ácidos grasos libres circulantes proceden de la lipólisis en el tejido adiposo blanco, como en el ayuno o tras el ejercicio^{22,23}, o bien proceden de la dieta como en la respuesta a ingesta de leche tras el nacimiento o en respuesta a una dieta hiperlipídica^{20,21}. En modelos experimentales en que no hay un incremento de los niveles circulantes de ácidos grasos, pero se produce una elevada disponibilidad de éstos en la célula muscular, como tras bloquear la oxidación de ácidos grasos mediante etomoxir o produciendo la sobreexpresión de la lipoproteína lipasa en el músculo, se produce, así mismo, un incremento en la expresión de la UCP3^{24,25}. La infusión de lípidos en voluntarios humanos causa una potente inducción del gen *UCP3* en el tejido musculoesquelético²⁶ y, de hecho, los niveles de ARNm de UCP3 en el músculo mues-

tran una correlación positiva con los niveles de ácidos grasos libres en el suero de pacientes en varias situaciones fisiopatológicas²⁷.

Tanto aproximaciones farmacológicas como genéticas han llevado a la identificación de los receptores activados por proliferadores peroxisomales (PPAR), miembros de la súper familia de receptores nucleares de hormonas, como los principales mediadores de la regulación de la transcripción del gen *UCP3* por los ácidos grasos. Estos receptores actúan como factores de transcripción dependientes de ligando y responden a diversos tipos de ácidos grasos así como a fibratos o tiazolidindionas, fármacos que activan los distintos subtipos de PPAR con distinta especificidad²⁸. Tanto la activación PPAR α como PPAR δ , receptores con elevada expresión en el tejido musculoesquelético humano, da lugar a una inducción de la expresión del gen *UCP3*. Una única inyección de un fármaco capaz de activar los subtipos PPAR α y PPAR δ es capaz de provocar los mismos efectos que los ácidos grasos libres sobre la expresión del gen *UCP3* en el músculo de ratón²⁹. Ratones modificados genéticamente con una disrupción dirigida (*knockout*) de PPAR α muestran un bloqueo en la inducción del gen *UCP3* por los ácidos grasos durante el período perinatal aunque no en la vida adulta, probablemente debido al papel compensador de PPAR δ (F. Villarroya y R. Iglesias, resultados no publicados). Las bases moleculares del estímulo sobre la transcripción del gen *UCP3* que ejercen los ácidos grasos residen en la presencia en el promotor génico de UCP3 en humanos y en roedores de elementos capaces de unir y ser activados por los receptores PPAR α y PPAR δ ³⁰.

UCP3 y metabolismo muscular de ácidos grasos

Es, pues, evidente que la expresión génica de UCP3 es enormemente sensible al estímulo de los ácidos grasos. Pese a que ello no supone ninguna evidencia directa de un papel específico de UCP3 en el metabolismo lipídico, el posible papel de UCP3 en la maquinaria de metabolización de los ácidos grasos de la mitocondria del tejido musculoesquelético se mostró pronto a una lógica línea de investigación. Diversas aproximaciones experimentales *in vitro* han confirmado dicho papel y, por ejemplo, la sobreexpresión de UCP3 en cultivos celulares de tejido musculoesquelético humano dan lugar a un incremento en la oxidación de sustratos, así como a un uso preferente de los ácidos grasos respecto a la glucosa como sustrato oxidativo³¹. Asimismo, ratones transgénicos en los que se provoca una sobreexpresión de UCP3 humana en

el tejido musculoesquelético son delgados pese a mostrar hiperfagia³². Algunos autores han cuestionado el significado fisiológico de estos resultados debido a posibles efectos poco específicos de la sobreexpresión de UCP3 sobre la función mitocondrial y el grado de acoplamiento³³. En cualquier caso, el incremento en la oxidación de ácidos grasos promovida por la sobreexpresión de UCP3 evidencia el potencial de esta proteína como posible diana farmacológica para incrementar la oxidación de dichos ácidos grasos en el músculo. Será necesario, además, efectuar una evaluación cuidadosa, mediante la utilización de anticuerpos específicos, de cuáles son los niveles "fisiológicos" de la proteína UCP3 en el músculo cuando individuos sanos se hallan bajo estímulos nutricionales y metabólicos, como la hiperfagia o la dieta rica en grasas.

Una aproximación experimental distinta se ha desarrollado mediante la obtención de ratones modificados genéticamente con disrupción dirigida del gen *UCP3* (ratones UCP3 *knockout*)^{34,35}. Dichos animales no muestran alteraciones masivas del metabolismo lipídico ni del equilibrio energético en respuesta a la hiperfagia y sólo se detectó en ellos una disminución en la síntesis de ATP a partir de ADP y una sobreproducción de especies reactivas de oxígeno en el músculo (véase más adelante)³⁴. Sin embargo, estudios posteriores mostraron una alteración en el cociente respiratorio indicativo de una disminución relativa de la oxidación de lípidos respecto a hidratos de carbono³⁶. Varias investigaciones se hallan en curso para determinar con precisión los mecanismos compensatorios por parte de otras UCP o en general los mecanismos homeostáticos que explican el fenotipo de estos ratones.

En cualquier caso, el efecto de UCP3 promoviendo la oxidación de ácidos grasos en el músculo puede deberse a distintos mecanismos. En primer lugar, si la función primaria de UCP3 es establecer un cierto grado de desacoplamiento, ello implica una reducción en el potencial de la membrana mitocondrial interna. Esto puede inhibir la actividad de la lanzadera malato/aspartato³⁷, lo cual favorece la utilización de NADH de origen intramitocondrial (procedente de la oxidación de ácidos grasos) respecto al NADH originado en el citosol (procedente de la glucólisis). Mediante este mecanismo indirecto UCP3 puede dirigir el reparto de los sustratos oxidables de forma que se favorezca la oxidación de ácidos grasos respecto a glucosa. En segundo lugar, podría ocurrir que la función primaria de UCP3 fuese el transporte intramitocondrial de ácidos grasos. Cabe destacar que, incluso para UCP1, la proteína UCP mejor caracterizada

Tabla 1. Resumen de datos sobre asociación entre polimorfismos del gen *UCP3* y fenotipos relacionados con la obesidad

Polimorfismo	Fenotipo asociado	Población	Año
<i>POSITIVO</i>			
c-55t	IMC y tasa metabólica basal	Indios Pima	1999 ⁴³
c-55t	IMC en interacción con la actividad física	Francia	2000 ⁴⁴
c-55t	Distribución del tejido adiposo en mujeres	Asiática y europea	2000 ⁴⁵
c-55t	IMC	Reino Unido	2001 ⁴⁶
c-55t	IMC	Islas Palau	2001 ⁴⁷
c-55t	Obesidad	China	2002 ⁴⁸
RsaI CC	Tasa metabólica basal y oxidación de grasas en respuesta a sobrealimentación	EE.UU.	2001 ⁵⁰
GAIV6	Obesidad	Québec	2001 ⁵¹
GAIV6	Composición corporal en respuesta al ejercicio	Québec	2002 ⁵²
<i>NEGATIVO</i>			
c-55t	Sin asociación con obesidad	Dinamarca	2001 ⁵³

IMC: índice de masa corporal.

y que es capaz de interactuar con los ácidos grasos, el papel preciso de dichos ácidos grasos en el proceso bioquímico del desacoplamiento mitocondrial mediado por UCP es poco claro. Pese a hallarse bien establecido que los ácidos grasos activan la vía de conductancia a los protones y interactúan con UCP1, dos modelos distintos han sido propuestos en relación con su papel en todo este proceso. Así, los ácidos grasos podrían actuar como activadores de la conductancia a los protones, siendo dicha actividad de transporte de protones intrínseca de UCP1³⁸. Otros autores proponen que UCP1 actuaría como catalizador del paso de los ácidos grasos a través de la membrana mitocondrial interna y que su interconversión entre formas aniónicas y no aniónicas a ambos lados de dicha membrana tendría como resultado la conductancia a los protones observada en presencia de UCP1³⁹. En tanto UCP3 es igualmente sensible a la activación e interacción con ácidos grasos, podría ocurrir que UCP3 presentase propiedades de transporte de ácidos grasos en la mitocondria. Sin embargo, cabe destacar que los efectos positivos de la sobreexpresión de UCP3 en la oxidación de ácidos grasos desaparecen en presencia de etomoxir; es decir, cuando se inhibe el mecanismo convencional de transporte de ácidos grasos al interior de la mitocondria en que interviene la carnitina palmitoiltransferasa³¹. Ello indicaría que los efectos de UCP3 promoviendo la oxidación de ácidos grasos se producirían por mecanismos indirectos. Por otra parte, recientemente se ha propuesto que UCP3 podría actuar como un transportador de ácidos grasos en "sentido opuesto"^{40,41}. De acuerdo con este modelo, los ácidos grasos en forma aniónica cruzarían de la membrana mitocondrial interna al compartimento citosólico en situaciones en que las cantidades de ácidos grasos dentro de la mitocondria

podrían exceder la capacidad de oxidación. No obstante, esta hipótesis carece aún de datos experimentales que la apoyen.

UCP3, equilibrio energético y obesidad en humanos: aproximaciones genéticas y fisiológicas

La localización de los nuevos genes UCP en el genoma fue una de las primeras observaciones que contribuyeron al interés en estos nuevos genes en relación con enfermedades metabólicas. Los genes *UCP2* y *UCP3* se hallan adyacentes, separados por unas pocas kilobases, tanto en el genoma de ratón (cromosoma 7) como en el genoma humano (cromosoma 11). Dicha zona se halla asociada a *loci* de caracteres cuantitativos (QTL) en relación con la obesidad y la diabetes mellitus tipo 2 (DM2)⁴².

La investigación genética sobre la asociación entre formas polimórficas del gen *UCP3* y situaciones de alteración en el equilibrio energético y la obesidad han dado lugar a conclusiones interesantes. La tabla 1 resume dichos estudios de asociación y muestra que, junto con algunos resultados negativos, varios polimorfismos del gen *UCP3* se asocian de manera significativa con alteraciones metabólicas relacionadas con la obesidad. La asociación de variantes del gen *UCP3* con fenotipos relacionados con obesidad estaría de acuerdo con el hecho de que el tejido musculoesquelético es un lugar relevante del gasto energético en humanos.

Uno de los polimorfismos hallados más frecuentemente en el gen *UCP3* es el cambio de un sólo nucleótido en la región proximal del promotor transcripcional del gen (cambio de C a T en -55). Los primeros datos indicaron que la variante T se asociaba con niveles altos de la expresión del ARNm para UCP3⁴³ y son varios los estudios poste-

riores que asocian dicho polimorfismo con varios fenotipos relacionados con la obesidad en distintas poblaciones.

Además del -55C a T, otros polimorfismos han sido descritos en el gen *UCP3*, así como su asociación con alteraciones metabólicas relacionadas con la obesidad. Así, una variante nucleotídica silente en el exón 3 ha sido asociada con fenotipos relacionados con la obesidad y con la respuesta metabólica a la hiperfagia y a las hormonas tiroideas^{49,50}. Una repetición de microsatélite GA (GAIV6) se ha asociado, asimismo, con fenotipos relacionados con la obesidad y con los cambios de composición corporal tras el ejercicio^{51,52}. Otros estudios de interés desde el punto de vista de la genética se han realizado a partir de la identificación de mutantes correspondientes a la zona de *splicing* del gen^{54,55}. Cuando se realizó la primera caracterización del gen *UCP3* humano se estableció que dicho gen daba lugar a dos ARNm, *UCP3L (long)* y *UCP3S (short)* ARNm⁴². El ARNm *UCP3L* codifica para la proteína *UCP3* completa mientras que *UCP3S* es el producto de un proceso de finalización prematura y da lugar a una posible forma corta de *UCP3* a la que falta la región de la proteína potencialmente implicada en el control de la actividad por nucleótidos. La mutación en la zona de *splicing* impide la síntesis de *UCP3L* y sólo es permisiva para la síntesis de la proteína *UCP3S*. Al menos dos estudios han determinado el impacto de dicha mutación en el metabolismo humano, aunque en dos contextos genéticos distintos, llegando a conclusiones opuestas. Mientras que un equipo describió una reducción en la oxidación global de grasas en individuos portadores de dicha mutación en homocigosis⁵⁴, el otro equipo no halló ningún efecto significativo⁵⁵.

Una aproximación distinta seguida por diversos investigadores ha sido determinar si existía una relación entre *UCP3* y la obesidad mediante el análisis de los cambios en los niveles de expresión del ARNm para *UCP3* o de la proteína *UCP3* en el tejido musculoesquelético de pacientes obesos. Tal y como puede observarse en la tabla 2, la mayoría de este tipo de estudios no han hallado ningún cambio significativo en los niveles del ARNm para *UCP3* en pacientes obesos.

Ello podría indicar que las asociaciones genéticas observadas anteriormente podrían tener un papel más sutil que la aparición de cambios en la expresión génica de *UCP3*, o bien estos cambios podrían darse en situaciones tempranas de instauración de la obesidad y no ser ya evidentes cuando dicha obesidad está ya instaurada y el paciente es incorporado al estudio.

Tabla 2. Resumen de datos sobre cambios en la expresión génica de UCP3 en tejido musculoesquelético de pacientes obesos

Población	Niveles de UCP3 ARNm en tejido musculoesquelético	Año
Suecia	Inalterados	1998 ⁵⁶
Francia	Inalterados	1998 ⁵⁷
EE.UU.	Inalterados	1999 ⁵⁸
Canadá	Disminuidos	2002 ⁵⁹
Italia	Inalterados	2002 ⁶⁰

UCP3 y diabetes mellitus tipo 2

La segunda alteración metabólica más extensivamente estudiada en relación con *UCP3* es la DM2. Dicha alteración se halla muy a menudo asociada a la obesidad, siendo ésta el principal factor de riesgo conocido para la aparición de esta enfermedad. Se considera que alteraciones en el metabolismo de los ácidos grasos en el tejido musculoesquelético contribuyen de forma importante a la aparición de resistencia a la insulina y DM2. El tejido musculoesquelético de pacientes diabéticos muestra importantes alteraciones en el metabolismo lipídico, incluidas una disminuida oxidación de ácidos grasos y la acumulación de grasa en las fibras musculares⁶¹. Así, *UCP3*, dado su posible papel en la oxidación muscular de ácidos grasos, puede ser un gen candidato para la DM2 así como una diana potencial para la manipulación farmacológica del metabolismo lipídico muscular. En algunos de los estudios análogos a los mencionados anteriormente en relación con la obesidad, se han analizado las posibles asociaciones entre polimorfismos del gen *UCP3* y DM2. Mientras que algunos estudios indican asociación positiva con el polimorfismo c-55t^{47,48,62} otros no han hallado dicha asociación⁶³. Más concluyentes parecen varios estudios independientes que han descrito una disminución en la expresión génica de *UCP3* en el tejido musculoesquelético de pacientes con DM2 (tabla 3). Pese al remarcable interés y significación de estas observaciones en poblaciones y laboratorios diversos, una de las principales limitaciones de esta aproximación es la dificultad en establecer hasta qué

Tabla 3. Resumen de datos sobre cambios en la expresión génica de UCP3 en tejido musculoesquelético de pacientes diabéticos tipo 2

Población	Alteración en tejido musculoesquelético	Año
EE.UU.	Niveles de UCP3 ARNm aumentados	1998 ⁶⁴
Suecia	Niveles de UCP3 ARNm disminuidos	1998 ⁶⁵
Francia	Ausencia de inducción de los niveles de UCP3 ARNm en respuesta al ayuno	1999 ⁶⁶
Holanda	Niveles de proteína UCP3 disminuidos	2001 ⁶⁷

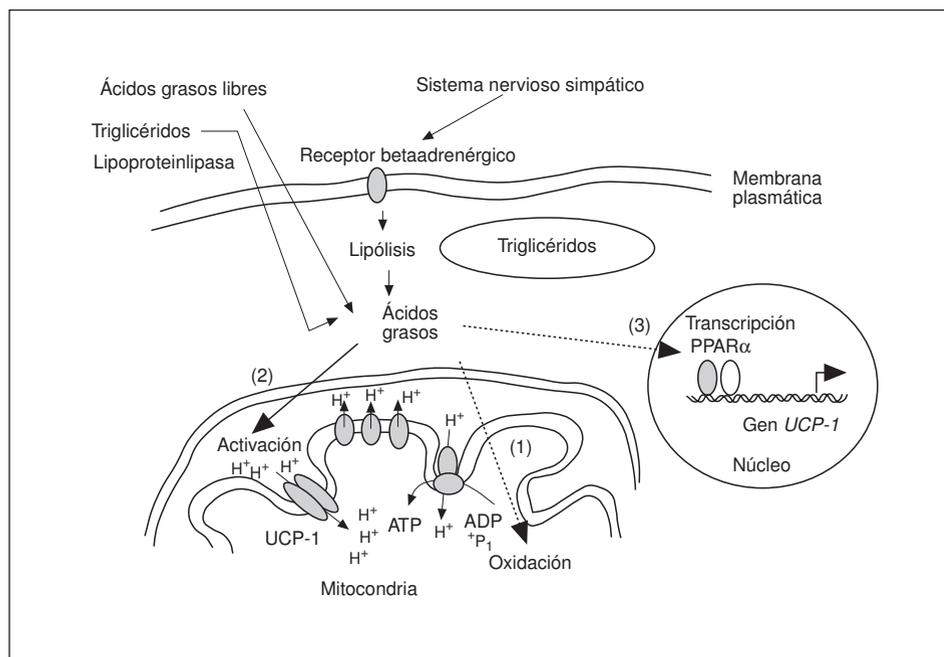


Figura 2. Esquema del triple papel de los ácidos grasos en el metabolismo y la función celular en relación con la actividad desacoplante mitocondrial de UCP1: sustrato de los procesos oxidativos mitocondriales (1), activador de la conductancia a los protones de la membrana mitocondrial interna por interacción directa con UCP1 (2) y activador de la transcripción del gen *UCP1* vía PPAR α (3).

punto modificaciones en el gen *UCP3* puedan ejercer un papel primario en el desarrollo de la enfermedad, o ser sólo consecuencia indirecta del conjunto de modificaciones asociadas a la enfermedad. En el caso de la DM2, es evidente que la enfermedad puede causar un conjunto de alteraciones metabólicas y de señalización hormonal en el músculo que pueden afectar indirectamente a la expresión de *UCP3*. No obstante, en este caso la enfermedad suele ir acompañada de niveles elevados de ácidos grasos libres circulantes, que son a su vez los principales inductores fisiológicos de la expresión del gen *UCP3*. El hecho de que ello no se asocie a un incremento de los niveles de *UCP3*, sino lo contrario, hace pensar que los bajos niveles de *UCP3* en pacientes diabéticos deben atribuirse a una disminución intrínseca en la capacidad o regulación de la expresión del gen *UCP3*. En este mismo sentido, se ha descrito que no sólo los niveles del ARNm para *UCP3* se hallan disminuidos en pacientes diabéticos, sino que existe, además, un bloqueo en la inducción del gen *UCP3* en respuesta al ayuno⁶⁶. En cualquier caso, sea el que sea el origen de la disminución en la expresión del gen *UCP3* asociada a la DM2, ésta puede contribuir a la progresión de las alteraciones metabólicas en el paciente diabético. Cabe destacar que los fibratos, agentes farmacológicos inductores del gen *UCP3* en el músculo³⁰, pueden mejorar la sensibilidad a la insulina independientemente de su efecto hipolipidémico⁶⁸. Así, la identificación de fármacos que fueran capaces de activar la expresión o activi-

dad de *UCP3* en el músculo tendrían interés de cara a potenciar la oxidación de ácidos grasos, disminuyendo así su acumulación muscular, al tiempo que podría favorecer la sensibilidad a la insulina. La sobreexpresión de *UCP3* en cultivos de células musculares humanas aumenta la oxidación de ácidos grasos sin impedir la utilización de glucosa³¹, lo cual refuerza el interés de *UCP3* como posible diana farmacológica en el tratamiento de la DM2.

Regulación de la producción de especies reactivas de oxígeno: nuevas direcciones en la investigación sobre *UCP3*

El fenotipo moderado en ratones con disrupción dirigida (*knockout*) del gen *UCP3* en relación con el metabolismo lipídico global llevó a considerar otras posibles consecuencias de la falta de *UCP3* que podrían revelar funciones hasta entonces desconocidas para esta proteína. En este sentido se pudo observar que el efecto más evidente hallado en varias líneas de ratones sin *UCP3* era un aumento en la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) en el músculo. ROS son subproductos de la actividad de la cadena respiratoria debido a la reducción incompleta del oxígeno por parte de los electrones procedentes del flujo de la cadena respiratoria. Son metabolitos extraordinariamente reactivos y potencialmente deletéreos que han sido implicados en procesos de envejecimiento celular, apoptosis y en diversos estados patológicos, incluida la diabetes⁶⁹. La actividad de la cadena respira-

toria y el grado de acoplamiento son importantes factores determinantes de la producción de ROS por la mitocondria. Un grado moderado de desacoplamiento disminuye la producción de ROS en tanto promueve el flujo de electrones en relación con la disponibilidad de ADP⁷⁰. Los niveles elevados de ROS cuando UCP3 está ausente de la mitocondria del músculo³⁴ sugieren un papel del desacoplamiento moderado inducido por UCP3 en minimizar la producción de ROS en condiciones fisiológicas. Además, se ha descrito recientemente que UCP3, así como otras UCP, ven aumentada su actividad de conductancia a los protones bajo la influencia de ROS⁷¹. Así, ROS podría aumentar el desacoplamiento mitocondrial como un mecanismo regulador de retroinhibición para disminuir precisamente un exceso de producción de ROS. No obstante, si el papel primario de UCP3 fuera éste, cabe preguntarse por qué los ácidos grasos son tan potentes en la inducción del gen *UCP3*. Se ha descrito que varios tipos de ácidos grasos aumentan la producción de ROS^{72,73}. En consecuencia, sería razonable que los propios ácidos grasos aportaran los mecanismos de protección vía dicha inducción cuando los niveles de ácidos grasos disponibles son elevados y cabe evitar una sobreproducción de ROS. Sin embargo, otros datos indican que los ácidos grasos pueden incluso reducir la producción de ROS y existen, asimismo, efectos directos de los ácidos grasos promoviendo el desacoplamiento mitocondrial, sea en forma directa o vía UCP⁷⁴. Serán necesarias futuras investigaciones para establecer si existen realmente diferencias importantes en la producción de ROS en el tejido musculoesquelético en relación con la disponibilidad de ácidos grasos y hasta qué punto el aumento de la expresión y actividad de UCP3 en respuesta a dichos ácidos grasos tiene un papel de protección frente a ROS para la célula muscular. En cualquier caso, los ácidos grasos aparecen en el centro de la biología de UCP3, tanto desde un punto de vista regulador como metabólico. En el caso de UCP1, el modelo mejor caracterizado hasta ahora de funcionamiento de una proteína UCP, los ácidos grasos ejercen una triple función que se resume en la figura 2. En el adipocito marrón son a la vez sustrato metabólico de la elevada oxidación mitocondrial cuando UCP1 está activa, son activadores directos de UCP1 como vía de conductancia a los protones, e inducen la transcripción del gen *UCP1* vía receptores PPAR α ^{3,75}. Los tres aspectos parecen darse por igual para UCP3 en el tejido musculoesquelético^{30,31} y la interpretación de su significado fisiológico en relación con la eficiencia del gasto energético muscular, la

utilización metabólica de sustratos lipídicos y la producción de ROS en este tejido nos dará las claves del futuro de UCP3 como diana terapéutica de intervención sobre el metabolismo muscular.

Agradecimientos

Este trabajo se ha realizado con el apoyo del equipo de investigación en Genética y Biología Molecular de Proteínas Mitocondriales del Departamento de Bioquímica y Biología Molecular de la Universidad de Barcelona, con el apoyo económico del Ministerio de Ciencia y Tecnología. (SAF2002-03648), Generalitat de Catalunya (SGR2001-00117) y Fundació la Marató de TV3.

Bibliografía

- 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.
- Roberts SB, Savage J, Coward WA, Chew B, Lucas A. Energy expenditure and intake in infants born to lean and overweight mothers. *N Engl J Med* 1988;318:461-6.
- Nicholls DG, Locke RM. Thermogenic mechanisms in brown fat. *Physiol Rev* 1984;64:1-64.
- Himms-Hagen J, Ricquier D. Brown adipose tissue. En: Bray G, Bouchard C, James WPT, eds. *Handbook in obesity*. New York: Dekker, 1998; p. 415-41.
- Rothwell NJ, Stock MJ. A role for brown adipose tissue in diet-induced thermogenesis. *Nature* 1979;281:31-5.
- Lowell BB, Susulic V, Hamann A, Lawitts JA, Himms-Hagen J, et al. Development of obesity in transgenic mice after genetic ablation of brown adipose tissue. *Nature* 1993;366:740-2.
- Garruti G, Ricquier D. Analysis of uncoupling protein and its ARNm in adipose tissue deposits of adult humans. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1992;16:383-90.
- Bouillaud F, Villarroya F, Hentz E, Raimbault S, Cassard AM, Ricquier D. Detection of brown adipose tissue uncoupling protein ARNm in adult patients by a human genomic probe. *Clin Sci* 1988;75:21-7.
- Huttunen P, Hirvonen J, Kinnula V. The occurrence of brown adipose tissue in outdoor workers. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 1981;46:339-45.
- Champigny O, Ricquier D. Evidence from in vitro differentiating cells that adrenoreceptor agonists can increase uncoupling protein ARNm level in adipocytes of adult humans: an RT-PCR study. *J Lipid Res* 1996;37:1907-14.
- Oberkofler H, Dallinger G, Liu YM, Hell E, Krempler F, Patsch W. Uncoupling protein gene: quantification of expression levels in adipose tissues of obese and non-obese humans. *J Lipid Res* 1997;38:2125-33.
- Clement K, Ruiz J, Cassard-Doulcier AM, Bouillaud F, Ricquier D, Basdevant A, et al. Additive effect of A \pm G (-3826) variant of the uncoupling protein gene and the Trp64Arg mutation of the beta 3-adrenergic receptor gene on weight gain in morbid obesity. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1996;20:1062-6.
- Oppert JM, Vohl MC, Chagnon M, Dionne FT, Cassard-Doulcier AM, Ricquier D, et al. DNA polymorphism in the uncoupling protein (UCP) gene and human body fat. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1994;18:526-31.
- Fleury C, Neverova M, Collins S, Raimbault S, Champigny O, Levi-Meyrueis C, et al. Uncoupling protein-2: a novel gene linked to obesity and hyperinsulinemia. *Nat Genet* 1997;15:269-72.
- Vidal-Puig A, Solanes G, Grujic D, Flier JS, Lowell BB. UCP3: an uncoupling protein homologue expressed preferentially and abundantly in skeletal muscle and brown adipose tissue. *Biochem Biophys Res Commun* 1997;235:79-82.

16. Mao W, Yu XX, Zhong A, Li W, Brush J, Sherwood SW, et al. UCP4, a novel brain-specific mitochondrial protein that reduces membrane potential in mammalian cells. *FEBS Lett* 1999;443: 326-30.
17. Porter RK, Brand MD. Body mass dependence of H⁺ leak in mitochondria and its relevance to metabolic rate. *Nature* 1993;362: 628-30.
18. Gong DW, He Y, Karas M, Reitman M. Uncoupling protein-3 is a mediator of thermogenesis regulated by thyroid hormone, beta3-adrenergic agonists, and leptin. *J Biol Chem* 1997;272:24129-32.
19. Boss O, Samec S, Paoloni-Giacobino A, Rossier C, Dulloo A, Seydoux J, et al. Uncoupling protein-3: a new member of the mitochondrial carrier family with tissue-specific expression. *FEBS Lett* 1997;408:39-42.
20. Brun S, Carmona MC, Mampel T, Vinas O, Giralt M, Iglesias R, et al. Activators of peroxisome proliferator-activated receptor-alpha induce the expression of the uncoupling protein-3 gene in skeletal muscle: a potential mechanism for the lipid intake-dependent activation of uncoupling protein-3 gene expression at birth. *Diabetes* 1999;48:1217-22.
21. Brun S, Carmona MC, Mampel T, Vinas O, Giralt M, Iglesias R, et al. Uncoupling protein-3 gene expression in skeletal muscle during development is regulated by nutritional factors that alter circulating non-esterified fatty acids. *FEBS Lett* 1999;453:205-9.
22. Boss O, Samec S, Kuhne F, Bijlenga P, Assimakopoulos-Jeannet F, Seydoux J, et al. Uncoupling protein-3 expression in rodent skeletal muscle is modulated by food intake but not by changes in environmental temperature. *J Biol Chem* 1998;273:5-8.
23. Tsuboyama-Kasaoka N, Tsunoda N, Maruyama K, Takahashi M, Kim H, Ikemoto S, et al. Up-regulation of uncoupling protein 3 (UCP3) ARNm by exercise training and down-regulation of UCP3 by denervation in skeletal muscles. *Biochem Biophys Res Commun* 1998;247:498-503.
24. Kratky D, Strauss JG, Zechner R. Tissue-specific activity of lipoprotein lipase in skeletal muscle regulates the expression of uncoupling protein 3 in transgenic mouse models. *Biochem J* 2001; 355:647-52.
25. Samec S, Seydoux J, Dulloo AG. Skeletal muscle UCP3 and UCP2 gene expression in response to inhibition of free fatty acid flux through mitochondrial beta-oxidation. *Pflugers Arch* 1999;438:452-7.
26. Khalfallah Y, Fages S, Laville M, Langin D, Vidal H. Regulation of uncoupling protein-2 and uncoupling protein-3 ARNm expression during lipid infusion in human skeletal muscle and subcutaneous adipose tissue. *Diabetes* 2000;49:25-31.
27. Boss O, Bobbioni-Harsch E, Assimakopoulos-Jeannet F, Muzzin P, Munger R, Giacobino JP, et al. Uncoupling protein-3 expression in skeletal muscle and free fatty acids in obesity. *Lancet* 1998;351: 1933.
28. Hihl AK, Michalik L, Wahli W. PPARs: transcriptional effectors of fatty acids and their derivatives. *Cell Mol Life Sci* 2002;59:790-8.
29. Pedraza N, Solanes G, Carmona MC, Iglesias R, Vinas O, Mampel T, et al. Impaired expression of the uncoupling protein-3 gene in skeletal muscle during lactation: fibrates and troglitazone reverse lactation-induced downregulation of the uncoupling protein-3 gene. *Diabetes* 2000;49:1224-30.
30. Pedraza N, Solanes G, Giralt M, Villarroya F. Metabolic control of the uncoupling protein-3 (UCP3) gene expression in skeletal muscle. First International Symposium on PPARs. Giovanni Lorenzini Foundation, 2000.
31. Garcia-Martinez C, Sibille B, Solanes G, Darimont C, Mace K, Villarroya F, et al. Overexpression of UCP3 in cultured human muscle lowers mitochondrial membrane potential, raises ATP/ADP ratio, and favors fatty acid vs. glucose oxidation. *FASEB J* 2001; 15: 2033-5.
32. 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.
33. Cadenas S, Echtay KS, Harper JA, Jekabsons MB, Buckingham JA, Grau E, et al. The basal proton conductance of skeletal muscle mitochondria from transgenic mice overexpressing or lacking uncoupling protein-3. *J Biol Chem* 2002;277:2773-8.
34. 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.
35. 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;275:16251-57.
36. Bezaire V, Hofmann W, Kramer JK, Kozak LP, Harper ME. Effects of fasting on muscle mitochondrial energetics and fatty acid metabolism in Ucp3(-/-) and wild-type mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2001;281:E975-E82.
37. Sibille B, Keriel C, Fontaine E, Catelloni F, Rigoulet M, Leverve XM. Octanoate affects 2,4-dinitrophenol uncoupling in intact isolated rat hepatocytes. *Eur J Biochem* 1995;231:498-502.
38. Pecqueur C, Couplan E, Bouillaud F, Ricquier D. Genetic and physiological analysis of the role of uncoupling proteins in human energy homeostasis. *J Mol Med* 2001;79:48-56.
39. Jezek P, Engstova H, Zackova M, Vercesi AE, Costa AD, Arruda P, et al. Fatty acid cycling mechanism and mitochondrial uncoupling proteins. *Biochim Biophys Acta* 1998;1365:319-27.
40. Himms-Hagen J, Harper ME. Physiological role of UCP3 may be export of fatty acids from mitochondria when fatty acid oxidation predominates: an hypothesis. *Exp Biol Med* 2001;226:78-84.
41. Schrauwen P, Saris WH, Hesselink MK. An alternative function for human uncoupling protein 3: protection of mitochondria against accumulation of nonesterified fatty acids inside the mitochondrial matrix. *FASEB J* 2001;15:2497-502.
42. Solanes G, Vidal-Puig A, Grujic D, Flier JS, Lowell BB. The human uncoupling protein-3 gene. Genomic structure, chromosomal localization, and genetic basis for short and long form transcripts. *J Biol Chem* 1997;272:25433-6.
43. Schrauwen P, Xia J, Walder K, Snitker S, Ravussin E. A novel polymorphism in the proximal UCP3 promoter region: effect on skeletal muscle UCP3 ARNm expression and obesity in male non-diabetic Pima Indians. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1999;23:1242-5.
44. Otabe S, Clement K, Dina C, Pelloux V, Guy-Grand B, Froguel P, et al. A genetic variation in the 5' flanking region of the UCP3 gene is associated with body mass index in humans in interaction with physical activity. *Diabetologia* 2000;43:245-9.
45. Cassell PG, Saker PJ, Huxtable SJ, Kousta E, Jackson AE, Hattersley AT, et al. Evidence that single nucleotide polymorphism in the uncoupling protein 3 (UCP3) gene influences fat distribution in women of European and Asian origin. *Diabetologia* 2000;43:1558-64.
46. Halsall DJ, Luan J, Saker P, Huxtable S, Farooqi IS, Keogh J, et al. Uncoupling protein 3 genetic variants in human obesity: the c-55T promoter polymorphism is negatively correlated with body mass index in a UK Caucasian population. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2001;25:472-7.
47. Yanagisawa Y, Hasegawa K, Dever GJ, Otto CT, Sakuma M, Shibata S, et al. Uncoupling protein 3 and peroxisome proliferator-activated receptor gamma2 contribute to obesity and diabetes in palauans. *Biochem Biophys Res Commun* 2001;281:772-8.
48. Shen H, Xiang K, Jia W. Effects of uncoupling protein 3 gene -55 C \pm T variant on lipid metabolism, body fat, its distribution and non-insulin-dependent diabetes mellitus in Chinese. *Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi* 2002;19:317-21.
49. Otabe S, Clement K, Dubois S, Lepretre F, Pelloux V, Leibel R, et al. Mutation screening and association studies of the human uncoupling protein 3 gene in normoglycemic and diabetic morbidly obese patients. *Diabetes* 1999;48:206-8.
50. Ukkola O, Tremblay A, Sun G, Chagnon YC, Bouchard C. Genetic variation at the uncoupling protein 1, 2 and 3 loci and the response to long-term overfeeding. *Eur J Clin Nutr* 2001;55:1008-15.
51. Lanouette CM, Giacobino JP, Perusse L, Lacaille M, Yvon C, Chagnon YC, et al. Association between uncoupling protein 3 gene and obesity-related phenotypes in the Quebec Family Study. *Mol Med* 2001;7:433-41.
52. Lanouette CM, Chagnon YC, Rice T, Perusse L, Muzzin P, Giacobino JP, et al. Uncoupling protein 3 gene is associated with body composition changes with training in HERITAGE study. *J Appl Physiol* 2002;92:1111-8.
53. Dalgaard LT, Sorensen TL, Drivsholm T, Borch-Johnsen K, Andersen T, Hansen T, et al. A prevalent polymorphism in the promoter of the UCP3 gene and its relationship to body mass index and long term weight change in the Danish population. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:1398-402.
54. Argyropoulos G, Brown AM, Willi SM, Zhu J, He Y, Reitman M, et al. Effects of mutations in the human uncoupling protein 3 gene on the respiratory quotient and fat oxidation in severe obesity and type 2 diabetes. *J Clin Invest* 1998;102:1345-51.

55. Chung WK, Luke A, Cooper RS, Rotini C, Vidal-Puig A, Rosenbaum M, et al. Genetic and physiologic analysis of the role of uncoupling protein 3 in human energy homeostasis. *Diabetes* 1999; 48:1890-5.
56. Nordfors L, Hoffstedt J, Nyberg B, Thorne A, Arner P, Schalling M, et al. Reduced gene expression of UCP2 but not UCP3 in skeletal muscle of human obese subjects. *Diabetologia* 1998;41:935-9.
57. Millet L, Vidal H, Larrouy D, Andreelli F, Laville M, Langin D. ARNm expression of the long and short forms of uncoupling protein-3 in obese and lean humans. *Diabetologia* 1998;41:829-32.
58. Vidal-Puig A, Rosenbaum M, Considine RC, Leibel RL, Dohm GL, Lowell BB. Effects of obesity and stable weight reduction on UCP2 and UCP3 gene expression in humans. *Obes Res* 1999;7:133-40.
59. Harper ME, Dent R, Monemdjou S, Bezaire V, Van Wyck L, Wells G, et al. Decreased mitochondrial proton leak and reduced expression of uncoupling protein 3 in skeletal muscle of obese diet-resistant women. *Diabetes* 2002;51:2459-66.
60. Sbraccia P, D'Adamo M, Leonetti F, Buongiorno A, Silecchia G, Basso MS, et al. Relationship between plasma free fatty acids and uncoupling protein-3 gene expression in skeletal muscle of obese subjects: in vitro evidence of a causal link. *Clin Endocrinol* 2002;57: 199-207.
61. Mandarino LJ, Consoli A, Jain A, Kelley DE. Interaction of carbohydrate and fat fuels in human skeletal muscle: impact of obesity and NIDDM. *Am J Physiol* 1996;270:E463-E70.
62. Meirhaeghe A, Amouyel P, Helbecque N, Cottel D, Otabe S, Froguel P, et al. An uncoupling protein 3 gene polymorphism associated with a lower risk of developing Type II diabetes and with atherogenic lipid profile in a French cohort. *Diabetologia* 2000;43: 1424-8.
63. Dalgaard LT, Hansen T, Urhammer SA, Drivsholm T, Borch-Johnsen K, Pedersen O. The uncoupling protein 3 -55 C \pm T variant is not associated with Type II diabetes mellitus in Danish subjects. *Diabetologia* 2001;44:1065-7.
64. Bao S, Kennedy A, Wojciechowski B, Wallace P, Ganaway E, Garvey WT. Expression of ARNMs encoding uncoupling proteins in human skeletal muscle: effects of obesity and diabetes. *Diabetes* 1998;47:1935-40.
65. Krook A, Digby J, O'Rahilly S, Zierath JR, Wallberg-Henriksson H. Uncoupling protein 3 is reduced in skeletal muscle of NIDDM patients. *Diabetes* 1998;47:1528-31.
66. Vidal H, Langin D, Andreelli F, Millet L, Larrouy D, Laville M. Lack of skeletal muscle uncoupling protein 2 and 3 ARNm induction during fasting in type-2 diabetic subjects. *Am J Physiol* 1999; 277:E830-7.
67. Schrauwen P, Hesselink MK, Blaak EE, Borghouts LB, Schaart G, Saris WH, et al. Uncoupling protein 3 content is decreased in skeletal muscle of patients with type 2 diabetes. *Diabetes* 2001;50: 2870-3.
68. Matsui H, Okumura K, Kawakami K, Hibino M, Toki Y, Ito T. Improved insulin sensitivity by bezafibrate in rats: relationship to fatty acid composition of skeletal-muscle triglycerides. *Diabetes* 1997;46:348-53.
69. Martindale JL, Holbrook NJ. Cellular response to oxidative stress: signaling for suicide and survival. *J Cell Physiol* 2002;192:1-15.
70. Skulachev VP. Uncoupling: new approaches to an old problem of bioenergetics. *Biochim Biophys Acta* 1998;1363:100-24.
71. Echtay KS, Roussel D, St-Pierre J, Jekabsons MB, Cadenas S, Stuart JA, et al. Superoxide activates mitochondrial uncoupling proteins. *Nature* 2002;415:96-9.
72. Listenberger LL, Ory DS, Schaffer JE. Palmitate-induced apoptosis can occur through a ceramide-independent pathway. *J Biol Chem* 2001;276:14890-5.
73. Hickson-Bick DL, Sparagna GC, Buja LM, McMillin JB. Palmitate-induced apoptosis in neonatal cardiomyocytes is not dependent on the generation of ROS. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2002; 282:H656-H64.
74. Duval C, Auge N, Frisach MF, Casteilla L, Salvayre R, Negre-Salvayre A. Mitochondrial oxidative stress is modulated by oleic acid via an epidermal growth factor receptor-dependent activation of glutathione peroxidase. *Biochem J* 2002;367:889-94.
75. Barbera MJ, Schluter A, Pedraza N, Iglesias R, Villarroya F, Giralt M. Peroxisome proliferator-activated receptor alpha activates transcription of the brown fat uncoupling protein-1 gene. A link between regulation of the thermogenic and lipid oxidation pathways in the brown fat cell. *J Biol Chem* 2001;276:1486-93.