

RESUMEN: “*Caenorhabditis elegans* como organismo modelo para estudiar enfermedades mitocondriales asociadas a defectos en la modificación del tRNA”

La modificación post-transcripcional de la uridina situada en la posición de tambaleo (U_{34}) de ciertos tRNAs es un proceso conservado evolutivamente, realizado por proteínas homólogas pertenecientes a las familias MnmA/MTU1, MnmE/GTPBP3 y MnmG/MTO1. Este carácter universal sustenta la idea del importante papel que debe tener dicha modificación para la biología de células y organismos. De hecho, mutaciones en los genes humanos *MTU1* y *GTPBP3* o *MTO1* causan fallo hepático infantil agudo y cardiomiopatía hipertrófica infantil, respectivamente, que producen letalidad durante los primeros meses de vida. Se asume que la causa primaria de estas enfermedades es la ausencia de las modificaciones introducidas por la proteína MTU1 en la posición 2 (un grupo tiol) y las proteínas GTPBP3 y MTO1 (un grupo taurinometil) en la posición 5 de la U_{34} en un grupo de tRNAs mitocondriales (mt-tRNAs). Sin embargo, los mecanismos subyacentes en estas enfermedades (y en otras asociadas también a la ausencia de tales modificaciones) no están claros, desconociéndose las razones por las cuales el déficit de la fosforilación oxidativa resultante en todos los casos (atribuido a alteraciones de la traducción mitocondrial de proteínas) produce fenotipos tan diversos. Nuestra hipótesis es que la señalización retrógrada mitocondria-núcleo promovida por la hipomodificación de los mt-tRNAs en posición 2 ó 5 de la U_{34} es diferente y la respuesta nuclear en cada caso viene modulada por el programa genético y epigenético de células y organismos.

En este trabajo, hemos utilizado al nematodo *Caenorhabditis elegans* como organismo modelo para estudiar los efectos producidos por la inactivación de las proteínas homólogas de MTU1, GTPBP3 y MTO1 a las que hemos denominado MTTU-1, MTCU-1 y MTCU-2, respectivamente. Hemos comprobado que estas proteínas, codificadas por el núcleo, son de localización mitocondrial y están implicadas en la modificación de la U_{34} de los mt-tRNAs. Los mutantes simples *mtcu-1* y *mtcu-2* presentan una reducción en su fertilidad y, en el caso del mutante simple *mttu-1*, fenotipos asociados a termosensibilidad (alargamiento de su ciclo reproductivo y reducción de su fertilidad). Los fenotipos exhibidos por los mutantes simples *mttu-1*, *mtcu-1* y *mtcu-2* sustentan la hipótesis de que la mutación *mttu-1*, por un lado, y las mutaciones *mtcu-1* y *mtcu-2*, por otro, promueven señales retrógradas diferentes que producen patrones de expresión nuclear específicos. Así, un rasgo fenotípico dependiente de genes nucleares (como lo es la transcripción y/o estabilidad de los mt-tRNAs) y la expresión de genes nucleares como *ucp-4*,

hsp-6, *hsp-60* y otros implicados en el metabolismo mitocondrial muestran un patrón diferente en los dos grupos de mutantes. Los genes *hsp-6* y *hsp-60*, usados como marcadores de la respuesta a estrés mitocondrial (UPR^{mt} o “mitochondrial unfolded protein response”), están regulados a la baja en el mutante *mttu-1*, lo que podría relacionarse con la termosensibilidad de este mutante en relación a su fertilidad y ciclo reproductivo. Los tres mutantes simples exhiben una reducción en la expresión de genes de la glicólisis y de la β -oxidación de los ácidos grasos (más severa en el mutante *mttu-1*), una inducción en un marcador de glutaminólisis y una inducción en el gen *ucp-4* (más acusada en el mutante *mttu-1*) implicado en el transporte de succinato (un intermediario del ciclo del ácido tricarbóxico, TCA) a la mitocondria. Dado que los tres mutantes simples presentan una disfunción OXPHOS relativamente suave, proponemos que los cambios de expresión en genes que modulan el metabolismo mitocondrial revelan una reprogramación del ciclo del TCA que compensa la disminución en el aporte de acetyl-CoA procedente de glicólisis y oxidación de ácidos grasos con la activación de rutas anapleróticas del ciclo del TCA basadas en la importación de succinato a la mitocondria por UCP-4 y en el aporte de α -cetoglutarato procedente de la glutaminólisis. Esta reprogramación podría asociarse a la entrada de equivalentes reducidos (en la forma de FADH₂) en el sistema OXPHOS a través del complejo II que compensaría, en parte, la posible disfunción del complejo I. En la Tesis también se analizan los efectos de la anulación simultánea de las modificaciones en las posiciones 2 y 5 de la U₃₄. El doble mutante *mttu-1;mtcu-2* presenta una disfunción OXPHOS severa, con una ratio AMP/ATP 5 veces superior al control, que resulta en letalidad embrionaria, detención del desarrollo en estadios larvarios tempranos y esterilidad completa en los adultos que presentan, por otra parte, una longevidad unas dos veces superior a la cepa control. Este incremento de la longevidad está modulado por rutas de señalización que dependen de AMPK, fundamentalmente de la subunidad catalítica AAK-1, y de hormonas esteroideas, a través de las proteínas DAF-9 y DAF-12.

En resumen, este trabajo muestra, por primera vez a nivel de un organismo modelo animal, la importante reprogramación de genes relacionados con el metabolismo mitocondrial en respuesta a la hipomodificación de la U₃₄ de los mt-tRNAs y revela nuevas conexiones entre rutas de señalización que incrementan la longevidad.