

**Título:** "MITOCHODRIAL ROLE OF APOPTOSIS-INDUCING FACTOR (AIF):OXIDATIVE PHOSPHORYLATION AND REACTIVE OXIGEN SPECIES."

**Nombre:** APOSTOLOVA ATANASOVSKA, NADEZDA

**Universidad:** Universitat de València (Estudi General)

**Departamento:** Farmacología

**Fecha de lectura:** 12/03/2008

**Programa de doctorado:** FARMACOLOGIA

**Dirección:**

> **Director:** JUAN VICENTE ESPLUGUES MOTA

> **Codirector:** JAMES McCREATH KENNETH

> **Codirector:** ANA MARIA CERVERA ZAMORA

**Tribunal:**

> **presidente:** SALVADOR FRANCISCO ALIÑO PELLICER

> **secretario:** PILAR D'OCON NAVAZA

> **vocal:** A. JOZA NICHOLAS

> **vocal:** G.J. NIJTMANS LEONARDUS

> **vocal:** Jordi Muntané Relat

**Descriptor:**

> FISICA DE LOS RADICALES LIBRES

> BIOLOGIA MOLECULAR

> BIOLOGIA CELULAR

**El fichero de tesis** no ha sido incorporado al sistema.

**Localización:** BIBLIOTECA FACULTAD DE FARMACIA, UNIVERSIDAD DE VALENCIA (ESTUDI GENERAL)

**Resumen:** La función proapoptótica del Factor Inductor de Apoptosis (Apoptosis-Inducing Factor, AIF) está bien documentada en la bibliografía, sin embargo su papel fisiológico en la mitocondria es menos conocido. Empleando la metodología de interferencia por ARN (RNA interference, RNAi), estudiamos si la modulación de la expresión proteica de AIF en cultivo celular modifica la producción celular de especies reactivas de oxígeno (Reactive Oxygen Species, ROS). Así, observamos que las células transfectadas con los cassettes de interferencia siAIF tenían niveles de AIF reducidos con el consiguiente aumento significativo en los niveles de las ROS. Posteriormente, analizamos si este efecto es un mecanismo generalizado, utilizando dos líneas celulares humanas, las Hep3B y HeLa, y también empleando una línea AIF-knockout de células madre de ratón. Las ROS incrementadas fueron de origen mitocondrial, puesto que el silenciamiento de AIF en células que carecen de la cadena de transporte electrónico funcional (Electron Transport Chain, ETC) en la mitocondria no llevó a un incremento de ROS.

El aumento de las ROS que detectamos tras el silenciamiento de AIF fue suficiente para la activación del Factor inducible por hipoxia (Hypoxia-inducible Factor, HIF-1 ), un factor de transcripción sensible a los cambios en el estatus redox intracelular. Además, este efecto se puede revertir usando antioxidantes, tanto el antioxidante general N-Acetil Cisteína, como el antioxidante MitoQ, específico de la mitocondria. Este fenómeno demuestra la implicación de los ROS en la estabilización de HIF1- .

Los análisis del consumo de oxígeno celular mostraron que las células de AIF silenciado sufren una disminución en la respiración celular, al nivel del Complejo I de la cadena de transporte electrónico mitocondrial. Empleando la técnica de Western Blot, comprobamos que dos subunidades del Complejo I, la subunidad 39 y la 20kDa, estaban significativamente disminuidas. Estu