


UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALENCIA  
SAN VICENTE MÁRTIR



**Estudio de la maquinaria de  
transporte de proteínas y ARN a las  
mitocondrias y su posible relación  
con el pronóstico del cáncer.**

TRABAJO FIN DE GRADO PARA OPTAR  
AL TÍTULO DE  
“GRADO EN MEDICINA”

Presentado por:

*Carmen María Ros Orts*

Tutor: Dr. José Miguel Hernández Andreu

En Valencia, a 9 de mayo de 2022



## AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, gracias a Dios, por estar presente cada día en mi vida, por acompañarme durante estos seis años de inmensa felicidad y por darme fuerzas en los momentos de debilidad. Gracias por poner en mi camino a personas tan maravillosas como el Dr. José Rafael Blesa, quien me dio la oportunidad de realizar la beca de colaboración en el laboratorio desde el primer curso del grado. Fue una persona admirable a la que siempre recordaré con mucho cariño y que llevo en mi corazón.

Gracias al Dr. José Miguel Hernández por ayudarme a realizar este trabajo, por todo el tiempo dedicado y por su paciencia.

Gracias a todo el equipo del laboratorio, por todo lo aprendido y por haberme hecho sentir parte del mismo. Gracias al Dr. Ignacio Ventura por aconsejarme y tranquilizarme, al Dr. Jesús Ángel Prieto, por su preocupación e interés, a Rafa, a Sandra, por estar siempre pendientes de mis necesidades.

Gracias al Dr. Joaquín Andani, que siempre me dio ánimos y supo valorar mi esfuerzo y trabajo.

Gracias a la Universidad Católica de Valencia y a todos los profesores que me han preparado para ser un buen médico, pero, ante todo, una gran persona, por los valores que me han transmitido. Espero estar a la altura.

Gracias a mis compañeros de clase que, a día de hoy, son mis mejores amigos, que supieron animarme cuando yo creía que no podía. Gracias por los días interminables de biblioteca online.

Gracias a mis abuelos y a todos mis familiares, que siempre confiaron en mí y me animaron para conseguir mi sueño.

A mi tía, que ha sido un referente para mí y siempre ha estado ahí de manera incondicional. Gracias, tía Tere, espero ser tan buen médico como tú.

A mis hermanos, que me han acompañado en las horas de estudio y de no tan estudio y de los que he aprendido tanto.

Y, sobre todo, gracias a mis padres, porque sin ellos esto no hubiera sido posible, siempre han creído en mí y han sido mi gran apoyo en los momentos más difíciles.

## ÍNDICE DE CONTENIDOS

1. INTRODUCCIÓN.....	13
1.1.Las mitocondrias.....	13
1.1.1. Estructura y composición.....	13
1.1.1.1.Membrana externa.....	14
1.1.1.2.Membrana interna.....	14
1.1.1.3.Espacio intermembrana.....	16
1.1.1.4.Matriz mitocondrial.....	16
1.1.2. Origen.....	17
1.1.3. Funciones.....	17
1.2.La mitocondria y el cáncer.....	20
1.3.Transporte de macromoléculas a la mitocondria.....	25
1.3.1. Transporte de proteínas.....	25
1.3.1.1. Importación de proteínas con presecuencia.....	27
1.3.1.2.Importación de proteínas mediada por OXA.....	29
1.3.1.3. Importación de proteínas transportadoras.....	30
1.3.1.4. Importación de proteínas al espacio intermembrana.....	31
1.3.1.5. Importación de proteínas de membrana externa.....	32
1.3.2. Transporte de ARN.....	35
1.3.2.1. ARNt.....	36
1.3.2.2. ARNr 5S.....	36
1.3.2.3. ARN H1.....	36
1.3.2.4. RMRP.....	37
1.3.2.5. SAMMSON.....	37
1.3.2.6. hTERC.....	37
1.3.2.7. MicroARN.....	37
1.3.2.8. Mecanismo de importación del ARN.....	38

2. <b>HIPÓTESIS</b> .....	40
3. <b>JUSTIFICACIÓN</b> .....	41
4. <b>OBJETIVOS</b> .....	42
5. <b>MATERIAL Y MÉTODOS</b> .....	43
6. <b>RESULTADOS</b> .....	47
7. <b>DISCUSIÓN</b> .....	61
8. <b>CONCLUSIONES</b> .....	65
9. <b>BIBLIOGRAFÍA</b> .....	66

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.....	15
Figura 2.....	23
Figura 3.....	26
Figura 4.....	29
Figura 5.....	30
Figura 6.....	31
Figura 7.....	32
Figura 8.....	33
Figura 9.....	34
Figura 10.....	56
Figura 11.....	56
Figura 12.....	57
Figura 13.....	57
Figura 14.....	58
Figura 15.....	58

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.....	46
Tabla 2.....	47
Tabla 3.....	48
Tabla 4.....	48
Tabla 5.....	49
Tabla 6.....	50
Tabla 7.....	51
Tabla 8.....	52
Tabla 9.....	52
Tabla 10.....	53
Tabla 11.....	54
Tabla 12.....	55

## RESUMEN

**INTRODUCCIÓN:** En la actualidad son pocos los estudios que se centran en investigar la maquinaria proteica del transporte de ácidos nucleicos y proteínas a la mitocondria y su posible participación en el pronóstico del cáncer.

Estas proteínas pueden presentar cambios en sus niveles de expresión y esto se ha visto relacionado con el pronóstico favorable o desfavorable del cáncer.

**MATERIAL Y MÉTODOS:** Este trabajo analiza las proteínas implicadas y su comportamiento en los diferentes tejidos tumorales.

Se utilizaron diferentes bases de datos para recoger información de todas las proteínas presentes en células humanas que intervienen en el transporte de ARN y proteínas a la mitocondria y se estudió su posible implicación pronóstica en cáncer.

**RESULTADOS Y CONCLUSIONES:** La maquinaria proteica encargada del transporte de proteínas y ácidos nucleicos a la mitocondria podría estar implicada en el proceso que lleva a un desarrollo más o menos rápido del cáncer, atendiendo a los niveles de expresión de estas.

La localización proteica subcompartimental podría tener importancia en la relación entre proteínas y cáncer. El aumento de los niveles de las proteínas de los complejos III y IV de la cadena respiratoria intervienen en el pronóstico favorable del cáncer de hígado permitiendo un aumento de la respiración celular y un enlentecimiento del proceso canceroso.

Este estudio podría ser de utilidad en un futuro como base para la elección de posibles biomarcadores pronósticos en el desarrollo del proceso tumoral.

**PALABRAS CLAVE:** Mitocondria, transporte de proteínas, transporte de ARN, cáncer, pronóstico.

## **ABSTRACT**

**INTRODUCTION:** Few studies currently focus on investigating the protein machinery of nucleic acid and protein transport to the mitochondria and its possible involvement in cancer prognosis.

These proteins can present changes in their expression levels and this has been related to the favorable or unfavorable prognosis of cancer.

**MATERIAL AND METHODS:** This work analyzes the proteins involved and their behavior in different tumor tissues.

Different databases were used to collect information on all the proteins present in human cells involved in the transport of RNA and proteins to the mitochondria and their possible prognostic implication in cancer was studied.

**RESULTS AND CONCLUSIONS:** The protein machinery responsible for the transport of proteins and nucleic acids to the mitochondria could be involved in the process that leads to a more or less rapid development of cancer, depending on their expression levels.

Subcompartmental protein localization could be of importance in the relationship between proteins and cancer. Increased levels of proteins of complexes III and IV of the respiratory chain are involved in the favorable prognosis of liver cancer, allowing an increase in cellular respiration and a slowing of the cancerous process.

This study could be useful in the future as a basis for the selection of possible prognostic biomarkers in the development of the tumor process.

**KEY WORDS:** Mitochondria, protein transport, RNA transport, cancer, prognosis.

## ABREVIATURAS

ATP: trifosfato de adenosina

ADP: adenosín fosfato

Acetil-CoA: acetil coenzima A

ROS: especies reactivas de oxígeno

mtPTP: poro de transición de permeabilidad mitocondrial

MME: membrana mitocondrial externa

MMI: membrana mitocondrial interna

EIM: espacio intermembrana

VDAC: canal aniónico dependiente de voltaje

ADN: ácido desoxirribonucleico

ARN: ácido ribonucleico

ARNm: ARN mensajero

ARNt: ARN de transferencia

ARNr: ARN ribosómico

NADH: nicotinamida adenina dinucleótida

FADH<sub>2</sub>: flavín adenín dinucleótido

RE: retículo endoplasmático

Bcl: B cell Lymphoma

Apaf-1: factor activador de la apoptosis 1

TNF: factor de necrosis tumoral

APO-1: antígeno de la apoptosis 1

DISC: complejo de señalización inductor de muerte

VEGF: factor de crecimiento endotelial vascular

HIF-1: proteína de factor inducible de hipoxia.

TOM: translocasa de la membrana externa

SAM: maquinaria de clasificación y ensamblaje

TIM22: translocasa de la membrana interna 22

PAM: motor de importación asociado a la translocasa de presecuencia

MIA: proteína de importación y ensamblaje del espacio intermembrana mitocondrial

OXA: oxidasa de ensamblaje mitocondrial

Hsp90: proteína de choque térmico 90

IMP: peptidasa de la membrana interna

mtHsp70: proteína de choque térmico mitocondrial 70

MPP: peptidasa de procesamiento mitocondrial

IMP: peptidasa de la membrana interna

ERMES: estructura de comunicación RE-mitocondria

MICOS: sitio de contacto mitocondrial y sistema organizador de crestas.

RNasa P: ribonucleasa P

MRP: ribonucleasa de procesamiento de ARN mitocondrial

hTERC: transcriptasa inversa de la telomerasa humana

TST: tiosulfato sulfurtransferasa

## 1. INTRODUCCIÓN

### 1.1. Las mitocondrias

Las mitocondrias son organelos citoplasmáticos, presentes en prácticamente todas las células eucariotas, encargados de suministrar la energía necesaria para la actividad celular. Son las llamadas “centrales energéticas de la célula” y su principal función es la síntesis de ATP a través del proceso de fosforilación oxidativa (1).

También realizan muchas otras funciones, entre otras: participan en la regulación del metabolismo celular, en la modulación del estado oxidación-reducción (redox), en el control de los niveles de calcio citosólico, en la síntesis de esteroides, en la síntesis del grupo hemo, en la contribución a los precursores biosintéticos citosólicos como la acetil-CoA y las primidinas, en la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS), y en el inicio y la ejecución de la apoptosis a través de la activación del poro de transición de permeabilidad mitocondrial (mtPTP) (2,3). Además, también se describió que las mitocondrias son diana de muchas proteínas que se importan desde otros compartimentos como el citosol o el núcleo y regulan su permeabilidad (4).

#### 1.1.1. Estructura y composición

Al microscopio electrónico, las mitocondrias presentan una morfología ovoide o alargada con un tamaño que oscila entre 0,5 y 1  $\mu\text{m}$  de diámetro y hasta 7  $\mu$  de longitud (5). Su número depende de las necesidades energéticas de la célula. La mayoría de las células eucariotas contienen muchos de estos organelos, ocupando hasta el 25% del volumen citoplasmático.

Gracias a los estudios de Palade y Sjöstrand, se descubrió que las mitocondrias están formadas por una membrana externa (MME) y una membrana interna (MMI) que forma unas invaginaciones llamadas crestas mitocondriales. Estas membranas separan el espacio intermembrana (EIM) y la matriz mitocondrial (6, 7). Además, existen regiones puntales donde las membranas externa e interna están en contacto directo y tienen un papel importante en el transporte de proteínas a las mitocondrias (8).

Actualmente se cree que la MMI se subdivide en dos dominios: la membrana limitante interna (parte de la membrana interna que no forma crestas y que está estrechamente

relacionada con la membrana externa) y la membrana de las crestas (con amplias aperturas hacia el espacio intermembrana en un lado y sobresaliendo a través de la matriz en el otro). La membrana de las crestas está conectada a la membrana limitante interna y al EIM por estructuras tubulares estrechas de longitud variable llamadas uniones de crestas (5).

#### *1.1.1.1. Membrana externa*

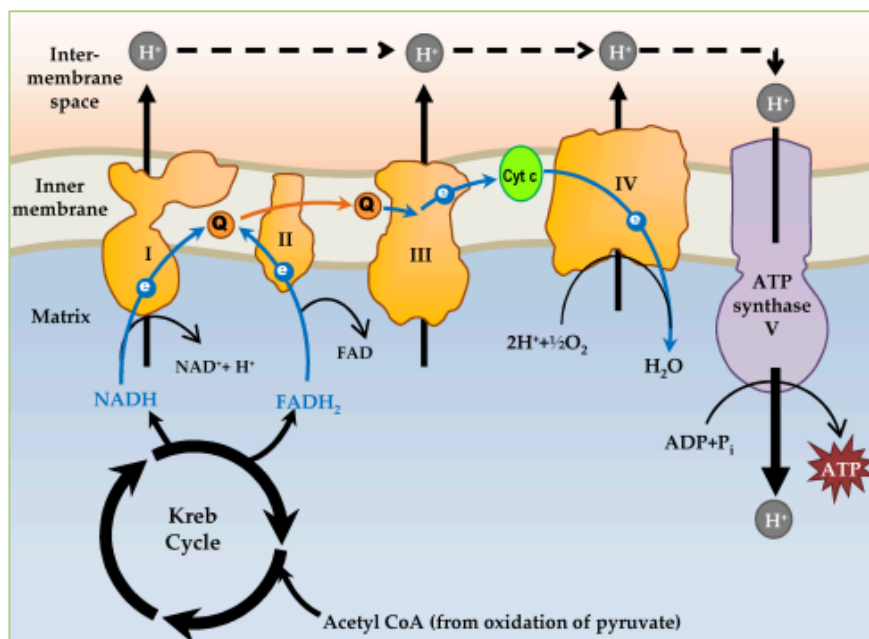
Es una bicapa lipídica permeable a iones, metabolitos y muchos polipéptidos. Esto es porque contiene proteínas que forman poros, llamadas porinas o VDAC (canal aniónico dependiente de voltaje), no selectivas y que permiten el paso de moléculas de hasta 10 kDa y un diámetro aproximado de 2 nm (9,10). La membrana externa realiza relativamente pocas funciones enzimáticas o de transporte. Se compone de aproximadamente un 50% de lípidos y un 50% de proteínas.

#### *1.1.1.2. Membrana interna*

Contiene aproximadamente un 70% de proteínas, carece de poros y es altamente selectiva. Contiene muchos complejos enzimáticos y sistemas de transporte transmembrana, que están implicados en la translocación de moléculas. Esta membrana posee numerosos pliegues hacia el interior mitocondrial, las crestas mitocondriales, que aumentan mucho la superficie para las proteínas de la cadena respiratoria y las ATPasas (11,12,13). Las regiones de la MMI que están próximas a la membrana externa permiten el intercambio de lípidos, la importación de proteínas y el ensamblaje de los complejos de la cadena respiratoria. Son proteínas exclusivas de este organelo:

- La **cadena de transporte de electrones**, compuesta por cuatro complejos enzimáticos fijos y dos transportadores de electrones móviles, que participan en la ruta de generación de energía mitocondrial (fosforilación oxidativa). En este proceso se produce la oxidación de nutrientes obtenidos de la dieta empleando oxígeno procedente de la respiración para generar calor y energía en forma de ATP. Los electrones pasan a través del complejo I o NADH deshidrogenasa, el complejo II o succinato deshidrogenasa; y ambos ceden electrones al coenzima Q o ubiquinona. El complejo III o citocromo bc<sub>1</sub> cede electrones al citocromo

- c y el complejo IV o citocromo c oxidasa los transfiere al  $O_2$  para formar dos moléculas de agua. Toda la energía liberada permite bombear protones desde la matriz mitocondrial al espacio intermembrana a través de la membrana mitocondrial interna y así generar un gradiente electroquímico. (14) (**Figura 1**).
- El **complejo enzimático ATP-sintasa**, un canal a través del cual pasan los protones del espacio intermembrana gracias a la energía del gradiente electroquímico procedente de la cadena respiratoria, dando lugar a la síntesis de ATP. Este complejo interviene en el último paso de la fosforilación oxidativa (8).
  - Proteínas transportadoras que permiten el paso de iones y moléculas al interior de las mitocondrias.



*Figura 1. Sistema de fosforilación oxidativa (15).*

### *1.1.1.3. Espacio intermembrana (EIM)*

Es el espacio que delimita ambas membranas mitocondriales. Su composición es similar a la del citosol. Contiene enzimas y proteínas que participan en los procesos celulares. Su principal función es la recepción de electrones provenientes del bombeo de los complejos enzimáticos (15).

### *1.1.1.4. Matriz mitocondrial*

La matriz mitocondrial presenta menos moléculas que el citosol, ya que solo alcanzarán la matriz aquellas que puedan ser transportadas selectivamente a través de las dos membranas. Contiene iones, metabolitos, ADN circular (localizado en los nucleoides), ribosomas 70S (similares a los de bacterias, llamados mitorribosomas) que realizan la síntesis de determinadas proteínas mitocondriales, y enzimas necesarios para llevar a cabo procesos celulares como la replicación, transcripción y traducción del ADN mitocondrial, así como diversos procesos metabólicos.

El ADN mitocondrial humano es una molécula circular cerrada de doble cadena compuesta por 16.569 pares de bases. Contiene 37 genes que codifican ARNm para 13 proteínas mitocondriales que forman parte de los complejos del sistema de fosforilación oxidativa; 22 ARNt, suficientes para la síntesis de proteínas; y 2 ARNr (1, 12, 13).

En la matriz mitocondrial tienen lugar varias rutas metabólicas de gran importancia, como la oxidación de ácidos grasos, aminoácidos y piruvato, el ciclo de Krebs o la producción de ATP (16).

### 1.1.2. Origen

La científica estadounidense Lynn Margulis, junto con otros científicos, recuperó en torno a 1981 una antigua hipótesis, reformulándola como teoría endosimbiótica (17). Según esta, las mitocondrias son descendientes de una antigua  $\alpha$ -proteobacteria con capacidades aeróbicas que fue fagocitada por una célula eucariota primitiva (anaeróbica y heterotrófica) sin ser inmediatamente digerida (18, 19). Esto dio lugar a una simbiosis entre ambas células: la procariota fagocitada proporcionaba energía en forma de ATP y la célula hospedadora ofrecía un medio estable y rico en nutrientes. Este mutuo beneficio hizo que la célula invasora llegara a formar parte del organismo mayor, acabando por convertirse en parte de ella: la mitocondria. Son fundamentos que apoyan esta teoría: la presencia de su propio ADN mitocondrial, distinto del ADN nuclear; la estructura de doble membrana lipídica, muy parecida a la de las bacterias; y la presencia de ARNr y la producción de energía, similares a los organismos unicelulares.

A lo largo de la historia, la mayor parte de los genes mitocondriales han sido transferidos al núcleo, de tal manera que la mitocondria no es viable fuera de la célula huésped y ésta no suele serlo sin mitocondrias.

### 1.1.3. Funciones

La mitocondria es la productora de la principal fuente de energía, el ATP, que se obtiene a través de la oxidación de metabolitos en un proceso denominado **respiración celular**. Estas oxidaciones respiratorias comprenden:

- Ciclo de Krebs: consiste en la oxidación del acetil-CoA resultante de la descarboxilación oxidativa del piruvato (gracias al enzima piruvato deshidrogenasa), producto obtenido de la glucólisis citosólica. Los electrones liberados en este proceso, que tiene lugar en la matriz mitocondrial, se transfieren a coenzimas para formar NADH y FADH<sub>2</sub>. Después, estas moléculas reducidas transfieren electrones a la cadena de transporte de electrones de la MMI.
- Beta-oxidación de ácidos grasos y oxidación de aminoácidos, que forman una molécula de acetil-CoA, que entrará en el ciclo de Krebs.

- Síntesis de ATP (fosforilación oxidativa): el transporte de los electrones provenientes de las moléculas de NADH y FADH<sub>2</sub> a través de la cadena respiratoria genera un gradiente de protones que dará lugar a la formación del ATP. Las enzimas necesarias para este proceso son las ATPasas, localizadas en las crestas mitocondriales (9).

El potencial negativo creado en la mitocondria no solo se utiliza para el funcionamiento de la ATPasa, sino que también permite acumular calcio citosólico a través de un canal de calcio, el uniportador Ca<sup>2+</sup>. Una vez dentro de la mitocondria puede ser amortiguado mediante su conversión en una sal insoluble o transportado de nuevo fuera de la mitocondria por el antiportador Na<sup>+</sup>/Ca<sup>2+</sup> (20). El calcio, además de estar presente en este organelo, también se localiza en el retículo endoplasmático (RE) en cantidades superiores y, se puede mover desde este hasta las mitocondrias a través de zonas de comunicación con la MME. Los niveles de calcio mitocondrial también regulan la actividad del enzima piruvato deshidrogenasa y la apoptosis (9).

Esta capacidad de **regular el balance de calcio** puede desempeñar un papel importante en muchos tipos de células ya que este ion participa en la transducción de señales, en la liberación de neurotransmisores en las neuronas, en la contracción muscular, es cofactor de muchas enzimas y su principal almacén es el hueso, permitiendo regular los niveles de calcio sanguíneo adecuados a través del equilibrio entre formación y resorción ósea (13, 21).

En determinadas situaciones se puede producir un flujo de protones hacia el interior de la matriz mitocondrial sin que la energía del gradiente se utilice para formar ATP sino para **producir calor**. En esta función interviene la termogenina, una proteína del tejido adiposo marrón, que forma un canal de protones en la MMI y favorece su paso a la matriz mitocondrial con el fin de producir calor y regular la temperatura corporal (22). En el ser humano, el tejido adiposo marrón está presente al nacer y se mantiene en cantidades relativamente altas en edades tempranas. Va disminuyendo con la edad y en los adultos hay poca cantidad.

Otras funciones de la mitocondria son la **producción de moléculas precursoras** para la biosíntesis de macromoléculas en el citosol y la **síntesis de parte de las proteínas** que componen la propia mitocondria, gracias a la presencia de su propio ADN mitocondrial (9). El daño en este ADN puede desencadenar una serie de enfermedades conocidas como patologías genéticas mitocondriales que, además, incluyen las originadas en el ADN nuclear que afectan al funcionamiento de las mitocondrias.

El resto de las proteínas mitocondriales son importadas desde el citosol y, para ello, requieren de secuencias que actúan como señales de orientación hacia los diferentes compartimentos de la mitocondria (12, 13, 23). Por tanto, las mitocondrias también desempeñan funciones en el **importe de proteínas**.

Una función importante de las mitocondrias es su participación en la **apoptosis o muerte celular programada**, a través de la vía intrínseca.

La apoptosis es un proceso programado y controlado por el propio organismo necesario para regular su desarrollo y el de sus tejidos. Permite la eliminación de células en exceso y células dañadas evitando así su propagación y sus posibles consecuencias en el organismo.

La apoptosis se puede activar a través de la vía intrínseca, mediada por el estrés celular o por lesión en el ADN; o a través de la vía extrínseca, mediada por ligandos que se unen a receptores en la superficie celular.

La vía intrínseca requiere la disrupción de la membrana mitocondrial y la liberación de proteínas mitocondriales que activarán las caspasas, las enzimas ejecutoras de la apoptosis. (24).

Por último, las mitocondrias de determinados tejidos llevan a cabo **funciones características de tejido**. Son ejemplos, el ciclo de la urea, que comienza en la mitocondria; la función característica de los hepatocitos, necesaria para la degradación de compuestos nitrogenados del metabolismo proteico y la eliminación de muchas toxinas; la síntesis de neurotransmisores en el tejido nervioso; la síntesis de estrógenos y andrógenos en los testículos, ovarios y glándulas suprarrenales; y el metabolismo del colesterol en el hígado (21).

## 1.2. La mitocondria y el cáncer

Se ha demostrado que muchas de las células cancerosas presentan alteraciones en el metabolismo de la glucosa (25). Se produce un incremento en la captación de glucosa, así como alteraciones en la glucólisis que darán lugar a un mayor número de metabolitos y a un aumento en la producción del ATP.

La mayor parte del piruvato producido durante la glucólisis en el citosol se convierte en lactato gracias al enzima lactato deshidrogenasa, manteniéndose alejado del metabolismo oxidativo mitocondrial.

En los procesos tumorales el lactato se produce en cantidades muy superiores a los tejidos normales y de forma mucho más rápida, y esta es su fuente de energía, incluso si hay oxígeno suficiente para la respiración. Esto fue descubierto por Otto Warburg, quien defendía que este cambio en el metabolismo era característico de las células cancerosas debido a defectos mitocondriales que impedían la oxidación de la glucosa a CO<sub>2</sub>. A este cambio en el funcionamiento metabólico lo denominó efecto Warburg (26). Por tanto, las poblaciones de células con una glucólisis regulada al alza y una resistencia a la acidez microambiental del lactato producido, tienen una gran ventaja en el crecimiento, promoviendo la proliferación y la invasión sin restricciones (27).

En condiciones normales, es importante destacar la presencia del antioxidante mitocondrial superóxido dismutasa. Su función es imprescindible para el correcto funcionamiento de la célula, ya que impide el daño celular oxidativo por acumulación temprana de ROS promoviendo su degeneración (28). En patologías como el cáncer, pueden existir genes mutados que hacen que la célula no entre en apoptosis. Esto, junto con la falta del antioxidante y la activación de la enzima telomerasa, que mantiene la longitud de los telómeros casi igual a la normal, hace que la célula se reproduzca y se multiplique.

Los mecanismos de reparación del ADN detectan estas alteraciones y detienen la proliferación celular. Sin embargo, si el daño es muy extenso, la célula se sigue multiplicando hasta dar lugar al cáncer u otras enfermedades (29).

Asimismo, el proceso de apoptosis detecta las células que no son necesarias para el organismo o aquellas que han sufrido cualquier daño causado por agentes estresantes y las elimina. Pero al igual que cualquier gen, los que expresan proteínas apoptóticas

también pueden sufrir mutaciones y producir proteínas antiapoptóticas. De este modo, la célula aumenta su supervivencia y prolifera descontroladamente (30).

La apoptosis se lleva a cabo mediante dos fases: la **fase inicial** y la **fase de ejecución**. En la fase inicial se produce la activación de unas enzimas denominadas caspasas iniciadoras, que, en la fase de ejecución permitirán la activación de las caspasas ejecutoras. Al final del proceso tendrá lugar la degradación de los componentes celulares esenciales (31).

La **fase inicial** de la apoptosis se puede desarrollar siguiendo dos vías diferentes: la vía intrínseca, activada por alteraciones en la integridad mitocondrial; o la vía extrínseca, iniciada por estímulos que activan un receptor de muerte en la superficie celular (32).

En la vía intrínseca destacan algunos tipos de proteínas como el citocromo c, la proteína Smac/DIABLO y los integrantes de la familia BCL o BCL2. Estos últimos, a su vez, se dividen en función de su actividad en: proteínas sensoras (BAD, BIM, BID, Puma, Noxa), que se encargan de detectar estímulos de estrés o daño celular y transmitir señales hacia los canales pro o antiapoptóticos; proteínas antiapoptóticas (BCL2, BCLX, MCL1), que se localizan en la MME y mantienen su permeabilidad impidiendo la liberación de citocromo c hacia el citosol; y proteínas proapoptóticas (BAX, BAK), que favorecen la permeabilidad de la membrana mediante la formación de canales, permitiendo la liberación de citocromo c (33).

Estas proteínas BCL también pueden clasificarse según su estructura basándose en el número de dominios que presentan. Hay que destacar que las proteínas sensoras solo presentan un dominio BH3 (34).

El citocromo c se encuentra en el espacio intermembrana y entre sus funciones destacan, el transporte de electrones desde el complejo III al IV, su gran capacidad oxidante y su acción como iniciador de la muerte celular por la vía mitocondrial o intrínseca.

En una célula normal existen continuamente señales de supervivencia, como el factor de crecimiento, que formará un complejo ligando-receptor facilitando la producción de proteínas antiapoptóticas BCL2 e impidiendo la liberación de citocromo c (35).

Por el contrario, en una célula que va a sufrir el mecanismo de apoptosis por falta de señales de supervivencia, daño en el ADN o mal plegamiento de proteínas, se produce la activación de las proteínas sensoras que se unirán a los canales antiapoptóticos con el fin de inactivarlos y dar lugar a alteraciones en la permeabilidad celular. También se

unirán a los canales proapoptóticos, activándolos y permitiendo la salida de citocromo c al citosol (36). Esto produce un gran desequilibrio entre proteínas proapoptóticas y antiapoptóticas.

El citocromo c se une a la proteína Apaf-1 (factor activador de la apoptosis 1) formando un complejo denominado apoptosoma al cual se une la procaspasa 9. Esta unión favorece una escisión proteolítica que transforma la procaspasa en su forma activa, la caspasa 9 o caspasa iniciadora de la vía intrínseca que, posteriormente actuará sobre las caspasas ejecutoras (36). Sin embargo, la célula también presenta unos factores inhibidores de la apoptosis (IAPs) que impiden esta activación de las caspasas ejecutoras. Estos factores son bloqueados por otras proteínas que también se liberan, las proteínas Smac/DIABLO (37).

La vía extrínseca, por su parte, comprende un mecanismo diferente. Existen receptores de muerte situados en la membrana plasmática celular que se unirán con algún ligando de muerte. Se habla de la familia de receptores TNF (factor de necrosis tumoral), concretamente del receptor TNF1 y del receptor Fas (APO-1), los únicos que presentan dominios citoplasmáticos de muerte.

El complejo ligando-receptor de Fas se une a la proteína adaptadora FADD formando el complejo de señalización inductor de muerte (DISC). La proteína FADD se une a la procaspasa 8, que activará a la caspasa 8 iniciadora de la vía extrínseca (38).

Igual que ocurre en la vía intrínseca, la vía extrínseca también presenta moléculas que bloquean el funcionamiento de la vía como es el caso de la proteína FLIP, al unirse a la procaspasa 8 (33).

Por último, en la **fase de ejecución**, estas dos cascadas convergen para activar a las caspasas ejecutoras 3, 6, 7 que se unirán a los diferentes sustratos de los componentes celulares para llevar a cabo la degradación del citoesqueleto y del núcleo (35).

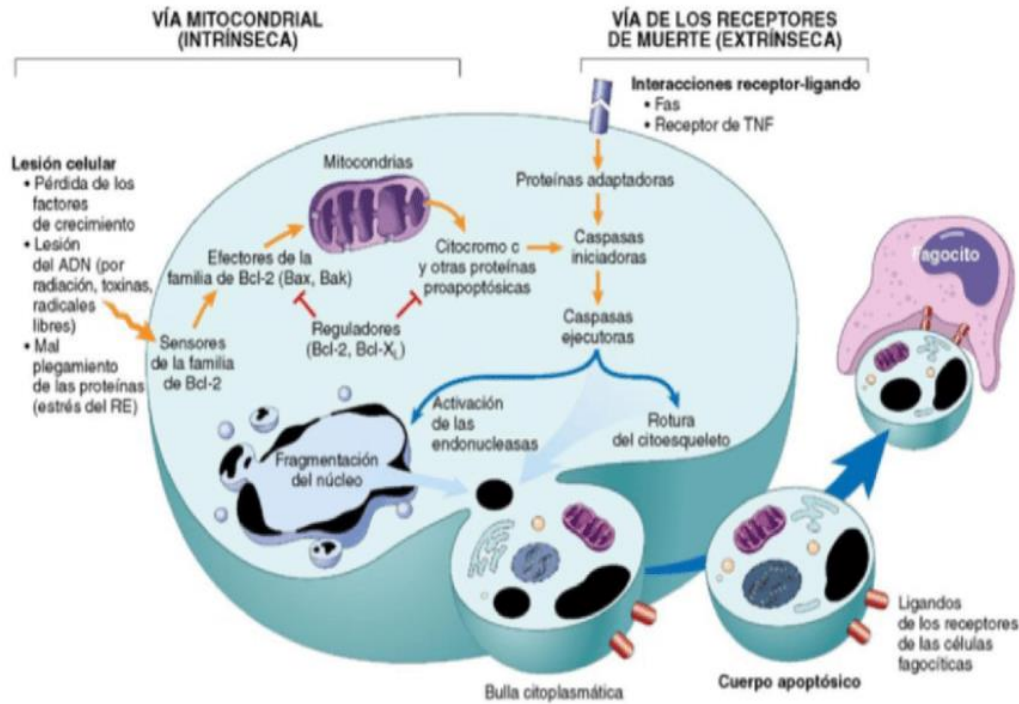


Figura 2. Mecanismo de apoptosis (31).

La mayoría de las veces este proceso es eficaz, sin embargo, pueden producirse errores genéticos severos que den lugar a alteraciones en las proteínas codificadas (39).

Los **protooncogenes** (Ras, Myc, AKT) y los **genes supresores de tumores** (p53, APC) también tienen un papel importante en la regulación del crecimiento y la proliferación celular (40).

La mayoría de los cánceres presentan mutaciones inactivadoras en los genes que codifican proteínas encargadas de controlar el correcto funcionamiento del ciclo celular en diferentes puntos de este, como el gen supresor de tumores p53. Esta proteína nuclear se ha encontrado suprimida en más del 50% de los cánceres (41). Su función se relaciona, por un lado, con la estimulación de efectores apoptóticos y, por otro lado, con el bloqueo de la transcripción de genes antiapoptóticos. Todo ello, gracias a su translocación a la mitocondria (42).

También las mutaciones en protooncogenes inducen al cáncer. Un protooncogén es una proteína que codifica moléculas encargadas del crecimiento celular. Mutaciones en el protooncogén producen su activación a oncogén dando una señal de crecimiento excesivo y descontrolado (43).

A medida que las células premalignas evolucionan a malignidad, el ambiente del tumor también se desarrolla con el fin de nutrir y dar soporte. El lactato que se obtenía a partir de la glucólisis concede características invasivas a las células cancerígenas. Además, se produce el reclutamiento de vasos sanguíneos para conseguir un aporte continuo de nutrientes. Esto es posible gracias a la expresión del factor de crecimiento endotelial vascular y de su receptor (VEGF, VEGFR) (3, 44).

Al mismo tiempo, tienen lugar cambios metabólicos que permiten evitar el estrés y potenciar el crecimiento en ausencia de oxígeno, gracias a la proteína HIF-1 o proteína de factor inducible de hipoxia. Las células tumorales están sometidas a hipoxia ya que, aunque pueden formar nuevos vasos, estos son más débiles (45). A su vez, se produce la activación de metaloproteasas que degradan la matriz y potencian la capacidad del tumor de metastatizar.

### 1.3. Transporte de macromoléculas a la mitocondria

Gracias a la relación existente entre la mitocondria y la célula hospedadora descrita en la teoría endosimbiótica, es de esperar que se formen mecanismos comunicantes entre ellas.

#### 1.3.1. Transporte de proteínas

La mayoría de las proteínas mitocondriales están codificadas por ADN nuclear, se sintetizan en los ribosomas citosólicos y se importan a la mitocondria como proteínas precursoras a través de diferentes vías de transporte. Para ello, necesitan señales dirigidas hacia el compartimento mitocondrial adecuado que consisten en secuencias cortas de aminoácidos reconocidas por receptores de la mitocondria.

Se pueden distinguir dos tipos de secuencias de orientación: las secuencias N-terminal, presecuencias que posteriormente serán escindidas; y las señales de importación internas, que mantendrán la misma estructura y que presentan un carácter hidrofóbico (46).

Una vez interaccionan con la membrana mitocondrial, las presecuencias forman una  $\alpha$ -hélice anfipática (con una cara hidrófila y otra hidrofóbica), necesaria para el reconocimiento de la proteína por los receptores mitocondriales (47).

Existen algunas excepciones en las que la secuencia señal se detecta en el extremo C-terminal (46).

Los receptores de las presecuencias y las secuencias señal internas son complejos proteicos que se encuentran tanto en la MME como en la MMI. Son translocasas constituidas por subunidades proteicas que forman un canal acuoso a través de la bicapa lipídica de las membranas mitocondriales.

En la MME destacan el complejo TOM (translocasa de la membrana externa), por el que pasan las proteínas dirigidas a cualquiera de los compartimentos; y el complejo SAM (maquinaria de clasificación y ensamblaje), para las proteínas  $\beta$ -barril.

En la MMI se encuentra la translocasa de la membrana interna TIM22, que reconoce las secuencias señal internas y ancla las proteínas con estructura  $\beta$ -barril a la MMI; y TIM23 (translocasa de la membrana interna 23), que transporta proteínas con presecuencias, tanto a la MMI como a la matriz mitocondrial. Para que esto último se lleve a cabo, es necesario un motor de importación asociado, el complejo PAM (motor

de importación asociado a la translocasa de presecuencia), que funciona gracias a la hidrólisis del ATP.

Hay proteínas cuyo destino final es el EIM y que necesitan de la proteína MIA para su adecuado transporte.

Por último, las proteínas mitocondriales sintetizadas en la matriz por los ribosomas mitocondriales se transportan a través de MMI gracias al complejo OXA (48).

Se han identificado cinco principales vías de importación de proteínas mitocondriales.

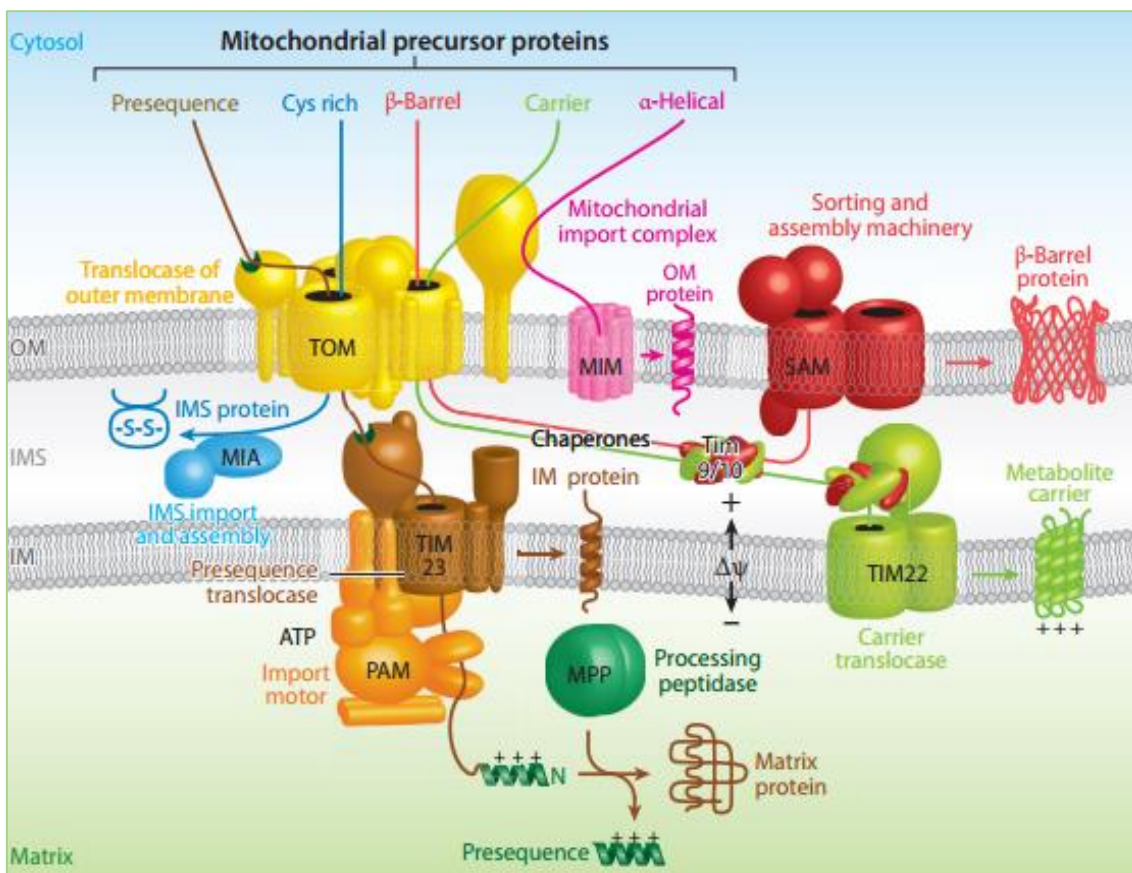


Figura 3. Principales vías de importación de proteínas a la mitocondria (49).

### *1.3.1.1.Importación de proteínas con presecuencia*

Es la vía de importación clásica.

Muchas proteínas se sintetizan con una presecuencia en el extremo N-terminal que es reconocida por los receptores de la superficie mitocondrial y por los diferentes complejos de importación: TOM en la MME y TIM23 en la MMI (50).

Antes de entrar en contacto con los receptores mitocondriales, el precursor proteico, que ha sido sintetizado en el citoplasma, se une a Hsp90, miembro de la familia de las chaperonas, evitando la agregación y el plegamiento espontáneo de la preproteína y facilitando su reconocimiento por los receptores (51).

El complejo TOM se encuentra anclado a la MME en una conformación  $\beta$ -barril. Lo constituyen tres proteínas receptoras (Tom20, Tom70, y Tom22); una proteína formadora de canal (Tom40, perteneciente a VDAC, de la superfamilia de las porinas, que son proteínas  $\beta$ -barril); y otras tres proteínas más pequeñas (Tom5, Tom6, Tom7) (52).

La presecuencia es reconocida por el receptor Tom20, mientras que las proteínas con señales de importación internas se unen a Tom70 (53).

Tom22 es el receptor central, se une a ambos tipos de proteínas y junto con Tom5 se produce la transferencia de los precursores desde Tom22 al canal Tom40. Las presecuencias interaccionan con Tom40 gracias a regiones hidrofílicas e hidrofóbicas presentes en el interior del canal y se translocan a través de la MME (52).

Por su parte, Tom6 y Tom7 regulan antagonicamente el ensamblaje del complejo. Tom6 promueve su biogénesis y Tom7 lo desestabiliza.

Una vez producida la translocación a través de TOM, las preproteínas pasan a TIM23, que se localiza en la MMI. Este complejo está formado por múltiples subunidades: Tim50, Tim23, Tim17, Tim21 y Mgr2 (54).

Tim50 es el receptor de la presecuencia que, al estar tan cercano al complejo TOM, puede interactuar con la preproteína a medida que va apareciendo por el EIM, y la transfiere a la proteína canal Tim 23. En ausencia de proteínas, Tim50 se encarga de mantener el canal Tim23 cerrado (55).

Tim17 está estrechamente relacionado con Tim23 y ambos están formados por cuatro segmentos transmembrana  $\alpha$ -helicoidales. Además, parece que la función de Tim17 está involucrada en la clasificación de preproteínas en la MMI, al igual que la proteína Mgr2 (56, 57). Estas proteínas que se anclan a la MMI, a parte de la presecuencia cargada positivamente, tienen una señal de parada de transferencia que permite su desplazamiento lateral.

Este proceso está impulsado por el potencial de membrana, pero también requiere la cooperación de los complejos III y IV de la cadena respiratoria. De esta interacción se encarga Tim21 (58).

También, la peptidasa de la membrana interna, IMP, juega un papel importante en algunas de las proteínas insertadas en la MMI, eliminando la señal hidrofóbica y permitiendo su liberación al EIM.

Por el contrario, las proteínas dirigidas por presecuencia, una vez transportadas a través de Tim23 gracias al potencial de membrana, necesitan de la ayuda de PAM para su translocación a la matriz. El centro del motor está formado por la proteína de choque térmico mitocondrial 70 (mtHsp70), impulsada por ATP y cuya hidrólisis es regulada por dos cochaperonas (Pam16 y Pam18) (59).

A su vez, Mge1, una proteína que también forma parte del complejo PAM, permite la liberación del ADP consecuente de la hidrólisis, permitiendo a mtHsp70 volver a su estado inicial y realizar de nuevo su función.

Tim44 se encarga de acoplar mtHsp70 al complejo TIM23.

Además de la asociación de Pam16 y 18 con el motor de importación, también estas cochaperonas interaccionan con los complejos III-IV de la cadena respiratoria para el ensamblaje de PAM (60).

Otra función de mtHsp70 es actuar como chaperona y evitar el mal plegamiento y la agregación de las proteínas translocadas (61).

Por último, hay que mencionar a la proteína Pam17, que también forma parte del complejo PAM, pero cuya función no es del todo conocida.

Las presecuencias dirigidas tanto a la MMI como a la matriz, una vez han cumplido su función, son eliminadas por la peptidasa de la matriz, MPP y degradadas.

Si la MPP escinde la presecuencia del extremo N-terminal y queda un residuo desestabilizador, actúan la peptidasa Icp55 u Oct1 generando extremos estabilizadores.

Por último, la chaperonina de la matriz, que está formada por Hsp60 y Hsp10 facilita el plegamiento de las proteínas de la matriz (62).

Algunas preproteínas dirigidas a la MMI, tras ser escindidas por MPP, vuelven a separarse por la proteína IMP, que elimina la secuencia de clasificación hidrofóbica. De este modo, la proteína queda libre en el EIM o permanece en la MMI gracias a la presencia de otro segmento hidrofóbico (63).

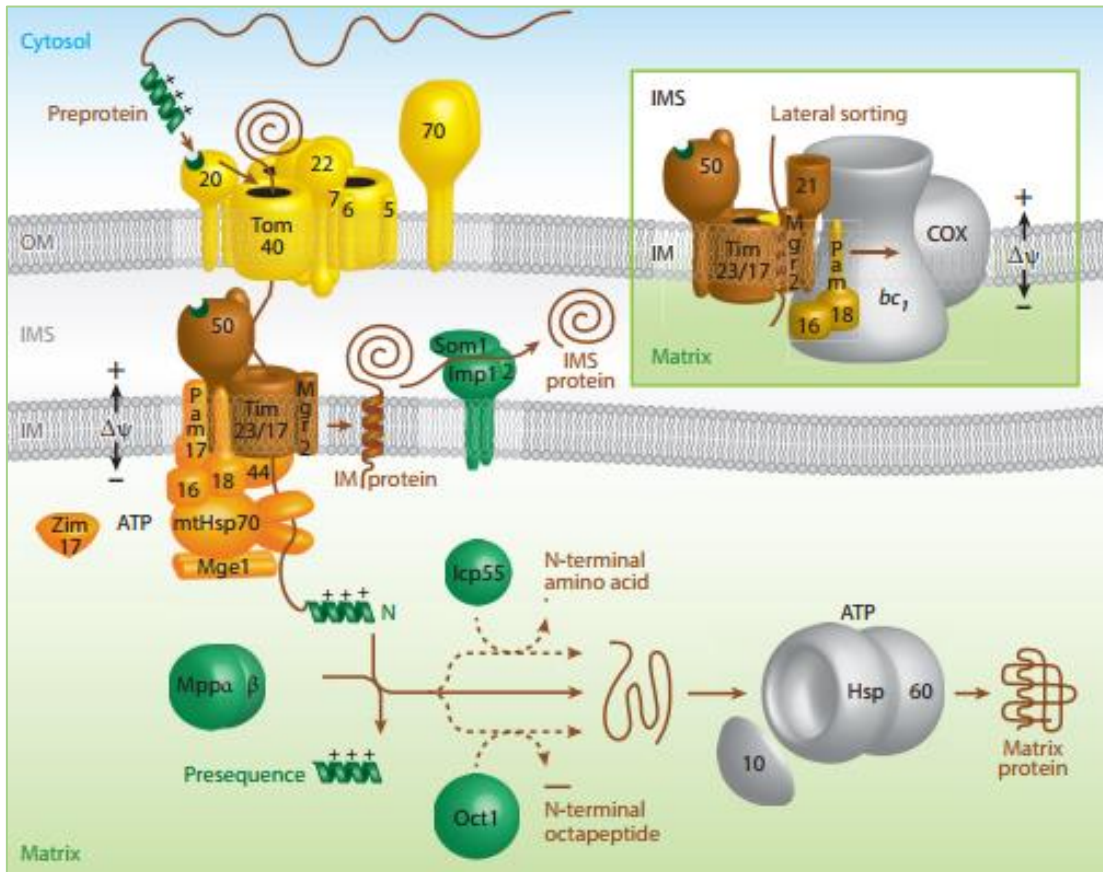


Figura 4. Vía de importación mitocondrial de proteínas con presecuencia (49).

### 1.3.1.2. Importación de proteínas mediada por OXA

Las proteínas dirigidas por presecuencia cuyo destino final es la MMI pueden bien anclarse a esta mediante la señal de parada de transferencia en el complejo TIM23 y la posterior clasificación lateral (propio de las proteínas con un solo segmento transmembrana), o bien importarse a la matriz mitocondrial a través de la vía conservadora, es decir, a través de TOM, TIM23 y PAM, y posteriormente ser integradas en la MMI por la translocasa OXA (propio de las proteínas con varios

segmentos transmembrana, que utilizan la combinación de ambas rutas para anclar sus diferentes segmentos (64).

También las proteínas que se sintetizan en los ribosomas mitocondriales se transportan a la MMI a través de la translocasa OXA. El componente principal de esta translocasa, Oxa1, y la proteína Mba1 se unen a los ribosomas permitiendo la exportación proteica. Además, Oxa1 también participa en el ensamblaje de TIM22, ya que dos de sus componentes (Tim18 y Sdh3) son proteínas escindibles que se incorporan a la membrana utilizando los dos mecanismos de clasificación (65).

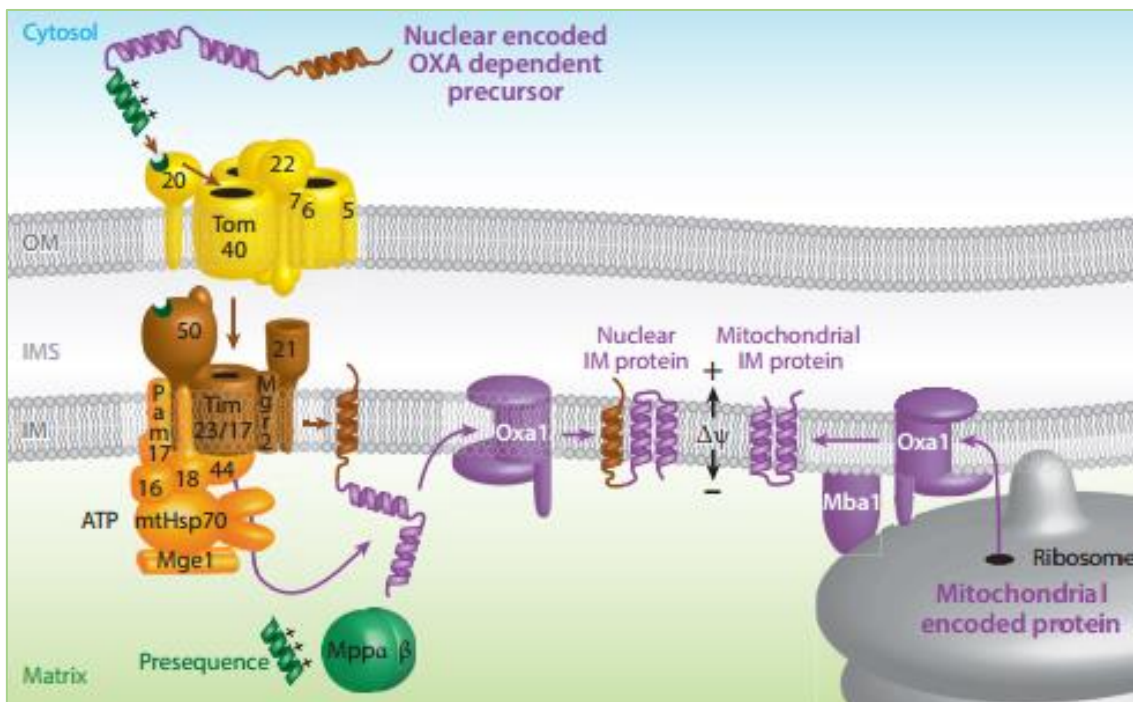


Figura 5. Vía de importación mitocondrial de proteínas mediada por OXA (49).

### 1.3.1.3. Importación de proteínas transportadoras

Los transportadores de metabolitos mitocondriales son proteínas hidrofóbicas, sin secuencia escindible, formadas por seis segmentos transmembrana  $\alpha$ -helicoidales.

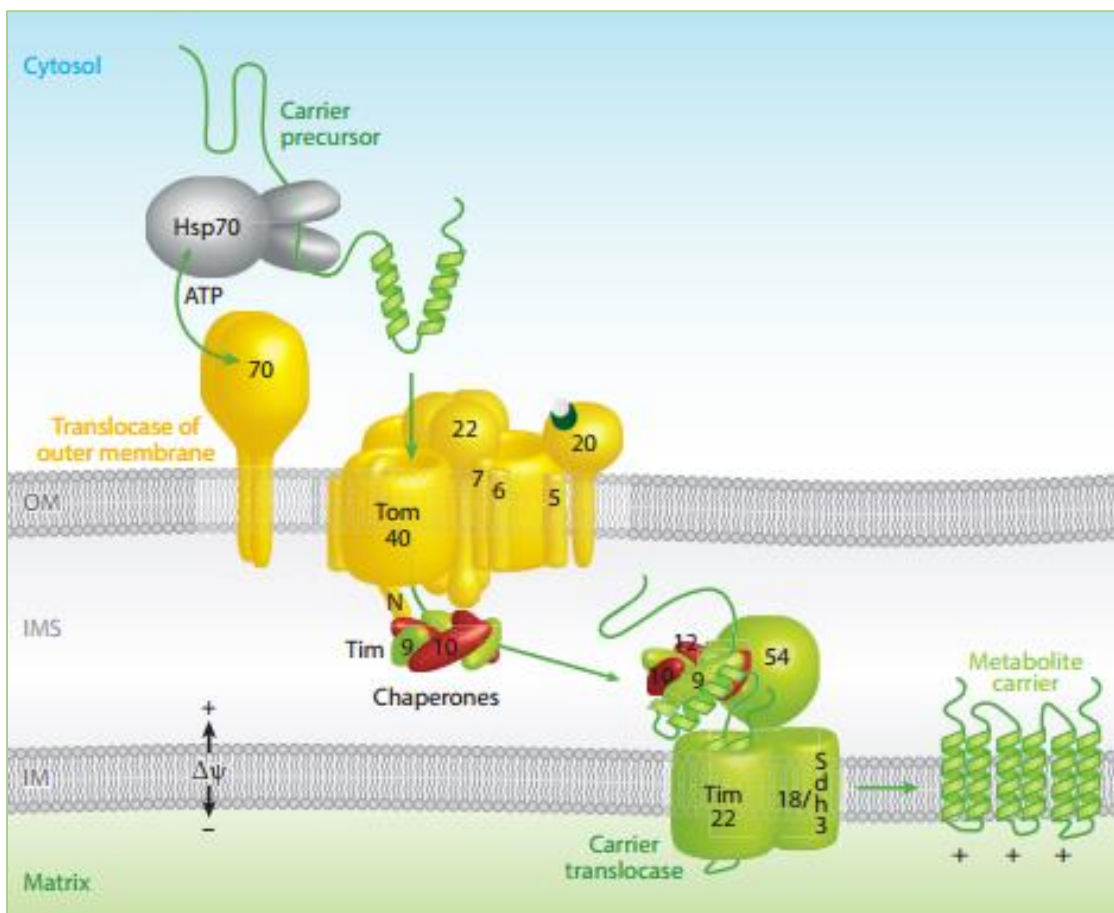
Estos se unen a la chaperona citosólica Hsp70 y son reconocidos por Tom70 y después por Tom 22.

Antes de poder atravesar el canal Tom40, es importante que adquieran una conformación en bucle, quedando los extremos en el citosol (66).

Las chaperonas TIM del EIM (Tim9-Tim10) son atraídas a la MME por el segmento N-terminal de Tom40 y transfieren los precursores transportadores al complejo TIM22 de la MMI, formando el complejo Tim9-Tim10-Tim12, que interacciona con el receptor Tim54. Finalmente, el potencial de membrana se encargará de activar el canal Tim22 y las proteínas se clasificarán lateralmente en la MMI (67). Algunos precursores emplean el complejo de chaperonas Tim8-Tim13.

También Tim18-Sdh3 son constituyentes del complejo TIM22.

Sdh3, además, forma el complejo respiratorio II. Por ello se dice que el complejo respiratorio sirvió de molde para la formación de TIM22.



**Figura 6. Vía de importación mitocondrial de proteínas transportadoras (49).**

#### 1.3.1.4. Importación de proteínas al espacio intermembrana

Existen proteínas en el EIM que contienen motivos de cisteína. Sus precursores se encuentran en estado reducido y desplegado en el citosol y se translocan al EIM a través de Tom40. Estas proteínas no necesitan ser reconocidas por ningún receptor del

complejo TOM, sino que directamente pasan a través del canal y llegan al EIM. Una vez allí, se unen por interacción de los residuos hidrofóbicos y de cisteína que contienen, a una zona de unión hidrofóbica de Mia40, que funciona como receptor, y son oxidadas mediante la formación de enlaces disulfuro.

Posteriormente, Mia40 es reoxidada por la oxidasa Erv1 con la ayuda de la proteína Hot13 (68).

Los electrones derivados de la oxidación se transfieren de las proteínas oxidadas por Mia40 hasta Erv1 y de aquí al oxígeno molecular o al citocromo c de la cadena respiratoria.

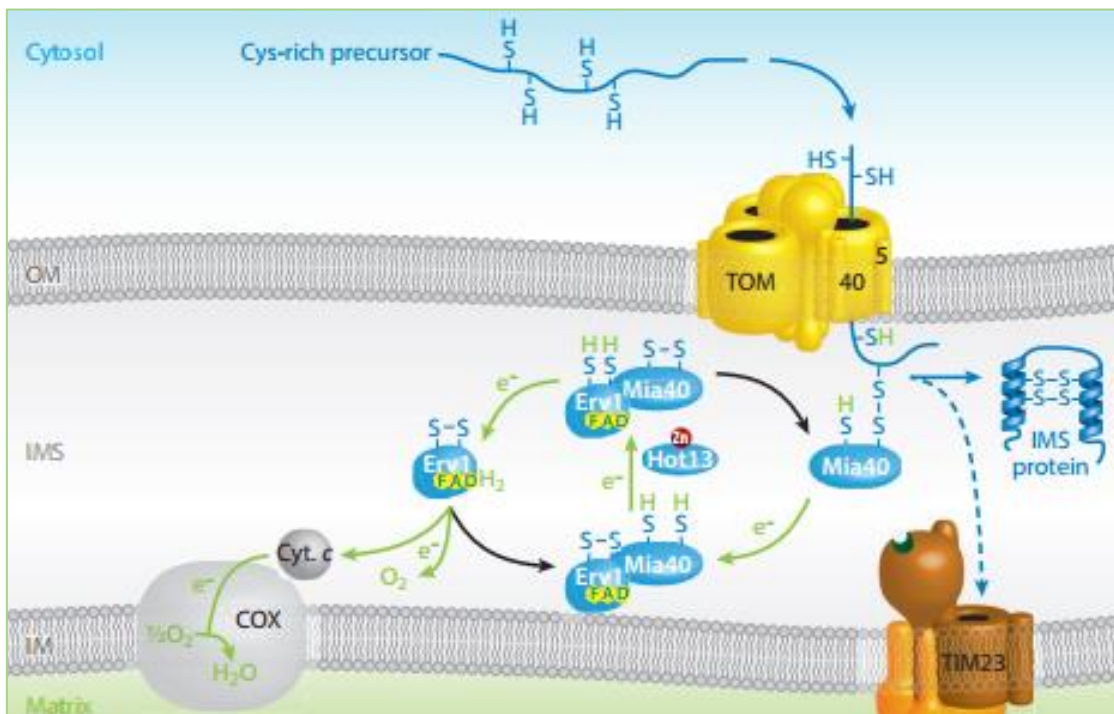


Figura 7. Vía de importación mitocondrial de proteínas al espacio intermembrana (49).

### 1.3.1.5. Importación de proteínas de membrana externa

Hay dos tipos de proteínas en la MME: las  $\beta$ -barril y las  $\alpha$ -helicoidales.

Dentro de las proteínas formadas por hebras  $\beta$  transmembrana destacan el canal VDAC, Tom40 y Sam50. Sus precursores se importan a través del complejo TOM por medio de una señal que forma una  $\beta$ -horquilla, y se unen a las chaperonas TIM del EIM. Gracias a la comunicación entre los receptores citosólicos de Tom22 y Sam37, se forma

un supercomplejo entre los complejos TOM y SAM, de forma que no es difícil el paso de los precursores desde un complejo a otro.

Las proteínas  $\beta$ -barril se pliegan en las subunidades Sam50 y Sam35 y posteriormente se insertan en la MME (69).

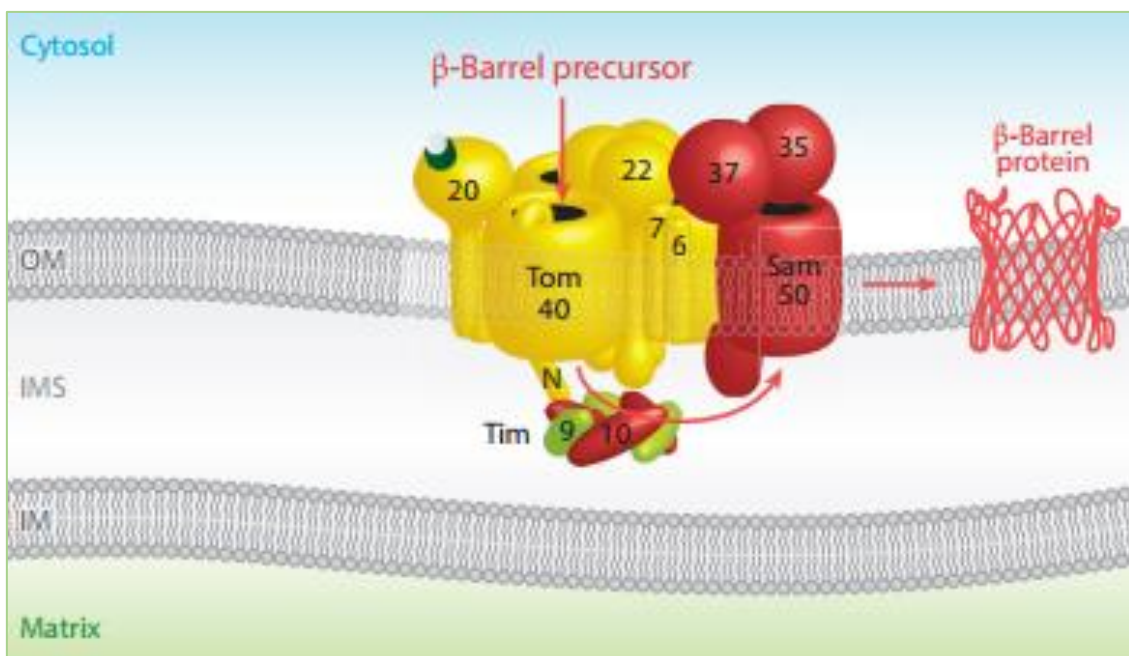
El complejo SAM se compone de una cuarta subunidad. Se trata de una proteína  $\beta$ -barril perteneciente a la superfamilia de las porinas, la proteína Mdm10.

SAM-Mdm10 forma el molde para el ensamblaje del complejo TOM ya que esta asociación promueve la biogénesis del receptor Tom22, al tratarse de una proteína  $\alpha$ -helicoidal, que más adelante se explicará. También, el precursor del canal Tom40 necesita de SAM para su plegamiento.

Además, Mdm10 forma parte de ERMES (estructura de comunicación RE-mitocondria). Esta proteína se une a la membrana del RE a través de Mdm34, Mdm12 y Mmm1, con la ayuda de la GTPasa reguladora, Gem1 (70, 71).

Para la asociación de Mdm10 a una u otra estructura es importante la participación de una pequeña parte de las moléculas de Tom7.

Tom7 solo se une a la Mdm10 separada de SAM, permitiendo la comunicación de Mdm10 con ERMES e inhibiendo al mismo tiempo el ensamblaje de TOM.



*Figura 8. Vía de importación mitocondrial de proteínas  $\beta$ -barril (49).*

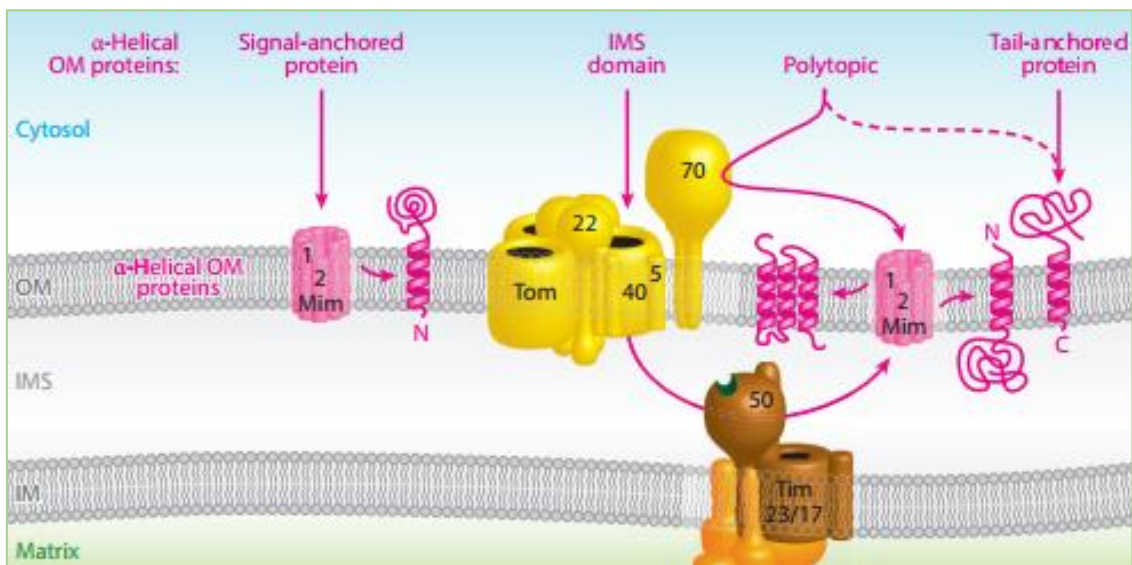
En cuanto a las proteínas  $\alpha$ -helicoidales, se pueden diferenciar varios tipos.

Las proteínas ancladas a la señal y las proteínas ancladas a la cola contienen un segmento transmembrana en el extremo N-terminal y C-terminal respectivamente, que funciona como señal de orientación.

Las proteínas politópicas, formadas por múltiples segmentos transmembrana, también contienen señales de orientación. Estas últimas pueden insertarse en la MME, bien uniéndose a chaperonas como Hsp40 en el citosol que las conducen al receptor Tom70 y de ahí al complejo MIM, o bien, y al igual que las proteínas ancladas a la cola, utilizar los lípidos de membrana para introducirse en ella.

Los precursores de las proteínas ancladas a la señal suelen hacerlo directamente a través del complejo MIM.

Por último, se ha observado otra ruta en las proteínas que tienen un gran dominio de EIM. Estas atraviesan el complejo TOM, TIM23 y se insertan en la MME gracias a MIM (72).



**Figura 9. Vía de importación mitocondrial de proteínas  $\alpha$ -helicoidales (49).**

Una vez explicadas las 5 rutas de importación de proteínas, es importante destacar cómo los componentes de la estructura de las crestas mitocondriales también participan en los mecanismos de importación de las proteínas mitocondriales.

MICOS (sitio de contacto mitocondrial y sistema organizador de crestas) es un gran complejo con múltiples subunidades localizado en la MMI que participa en el mantenimiento de las uniones de las crestas mitocondriales. Mic60 (mitofilina) y Mic10 son dos de sus subunidades. Mic10 interacciona con Mic12, Mic26 y Mic27 para formar un supercomplejo que es la base de las uniones de las crestas de la MMI.

Mic60, a su vez, se asocia a la subunidad Mic19 y forma sitios de contacto con la MME, permitiendo la importación de proteínas precursoras gracias a su interacción con TOM, SAM y MIA (73).

De este modo, participa en la transferencia de precursores  $\beta$ -barril de TOM a SAM, estimula la importación de precursores a través de Mia40, ya que se une a esta y la lleva hacia el complejo TOM, e interactúa con SAM a través del dominio POTRA de Sam50.

### 1.3.2. Transporte de ARN

Todas estas interacciones entre la mitocondria y la célula hospedadora van más allá, ya que no solo permiten el intercambio de proteínas, sino también el de pequeñas moléculas como iones y metabolitos intermediarios y moléculas no tan pequeñas como ARN.

En muchos grupos de eucariotas se ha demostrado que el transporte de determinados ARN a la mitocondria, todos ellos ARN no codificantes (como el ARNt), es importante para la función de la mitocondria, incluso en aquellas especies en las que todos los ARNt necesarios están codificados por el genoma mitocondrial (74).

Estas son las diferentes especies de ARN nuclear que se han encontrado en las mitocondrias humanas: ARNt, ARNr 5S, ARN H1, RMRP, SAMMSON, hTERC, microARN.

### *1.3.2.1.ARNt*

El genoma mitocondrial humano codifica para 22 ARNt, suficientes para la traducción de todos los ARNm mitocondriales. Sin embargo, se han detectado en las mitocondrias algunos ARNt codificados por el núcleo.

Se habla de una hipótesis que defiende que el transporte de ARNt citosólico podría servir para corregir algún fallo en el ARNt mitocondrial (75).

### *1.3.2.2.ARNr 5S*

Este ARNr forma parte de la subunidad grande de los ribosomas y aunque ningún ARNr 5S está codificado en el genoma mitocondrial de los mamíferos, se han identificado en el interior de sus mitocondrias (76).

Durante mucho tiempo se pensaba que los ribosomas mitocondriales también estaban constituidos por ARNr 5S, sin embargo, varios estudios demostraron que este tipo de ARNr no se encuentra en los ribosomas mitocondriales.

Y aunque esto todavía no se ha resuelto definitivamente, se sabe que ejercen una función en la mitocondria, pues diversos estudios comprobaron que la no importación de ARNr 5S disminuye la traducción mitocondrial (77).

### *1.3.2.3.ARN H1*

Corresponde al componente ARN catalítico de algunas ribonucleasas P (RNasa P). La RNasa P es la encargada de eliminar la secuencia precursora situada en el extremo 5' de las moléculas de ARNt para su procesamiento.

Hay dos tipos de RNasa P: la RNasa P ribonucleoproteína, formada por un componente ARN catalítico (ARN H1) asociado a una o varias proteínas, típico de la RNasa P nuclear; y la RNasa P solo proteica (PRORP), estructura característica de la RNasa P mitocondrial, aunque en algunas especies se ha identificado la RNasa P mitocondrial con componente ARN (78).

Se pensaba que las mitocondrias humanas cumplían esta teoría hasta que se descubrió la presencia de ARN H1 nuclear en su interior y se planteó la posibilidad de su participación en el procesamiento de los ARNt mitocondriales (79).

#### *1.3.2.4.RMRP*

Corresponde al componente ARN catalítico de la ribonucleasa de procesamiento de ARN mitocondrial (MRP), que interviene en la maduración del extremo 5' del ARNr 5,8S.

Este se localiza principalmente en el núcleo y una pequeña parte se ha encontrado en las mitocondrias. Sin embargo, se demostró que solo la mitad 3' de RMRP se encontraba en las mitocondrias, por tanto, se procesaba tras o durante la importación. Esto producía una reducción de su actividad (79).

#### *1.3.2.5.SAMMSON*

Es un ARN no codificante de cadena larga expresado en melanomas agresivos para estimular la función mitocondrial de las células tumorales.

Se localiza en el citoplasma y parece que interactúa con la proteína p32 y la dirige hacia las mitocondrias, favoreciendo la rápida división de las células cancerosas. Se sugiere que la participación en la dirección mitocondrial de p32 puede producir la propia importación del ARN (80).

#### *1.3.2.6.hTERC*

Es el componente de ARN de la telomerasa humana (hTERC), que codifica la secuencia de repeticiones añadidas a los extremos del ADN (telómeros).

De manera similar a RMRP se vio que hTERC también se procesaba tras la importación mitocondrial en un ARN más corto, pero esta vez, predominaba en el citosol. Por lo que se postuló un mecanismo de reexportación desde las mitocondrias al citosol.

Además, se sospechó la posibilidad de que la importación fuera gracias a la presencia de una región en tallo-bucle del ARN, también localizada en el ARN H1 y RMRP (81).

#### *1.3.2.7.MicroARN*

Los microARN son moléculas de ARN no codificante de aproximadamente 22 nucleótidos que degradan o silencian los ARNm. Se han localizado microARN en las mitocondrias y, aunque la mayoría están codificados en el núcleo y se importan a la mitocondria, también se ha sugerido la posibilidad de ser producidos por el ADNmt.

Sin embargo, el modo de acción de los microARN en la mitocondria no está claro porque parece que algunos microARN mejoran la síntesis de proteínas mitocondriales en lugar de inhibirlas (82).

#### *1.3.2.8. Mecanismos de importación de ARN*

Para una correcta importación del ARN a la mitocondria se necesitan varios factores: señales de importación en el ARN, un mecanismo que permita el transporte desde el citosol a la mitocondria y una vía que facilite la translocación a través de la mitocondria.

Se vio que en las levaduras existen ARNt heterólogos en la mitocondria, como en el caso de los ARNt de la lisina (tRK1). Las mitocondrias ya expresan uno de ellos (tRK3), sin embargo, este ARNt no es eficiente a 37°C, por lo que en estas condiciones se necesita de la importación del ARNt codificado en el núcleo (tRK1).

Además, al expresarse artificialmente tRK1 en células humanas, también se encontró en las mitocondrias (83).

Parece ser que la enolasa glicolítica Eno2p y otros factores, interactúan con tRK1 y lo transportan hasta la superficie mitocondrial. Esta interacción produce un cambio conformacional en el ARNt que da lugar al tallo-bucle-F, mejorando la afinidad por el precursor de la lisil-ARNt sintetasa mitocondrial (preMSK), que conduce el ARNt a la matriz mitocondrial (84).

Como la enolasa y la lisil-ARNt sintetasa mitocondrial también se encuentran en las células humanas, podría producirse el transporte de tRK1 exógeno a las mitocondrias de las células humanas.

El ARNr 5S una vez ha sido sintetizado en el núcleo celular, también experimenta un cambio conformacional en el citosol al unirse al precursor de la proteína L18 (MRP-L18) a través de su dominio  $\gamma$ . Esta unión impide que el ARN vuelva al núcleo y facilita su conducción a la superficie mitocondrial.

Gracias al cambio en su estructura, se produce la interacción con la enzima rodanasa a través del dominio  $\alpha$  del ARNr 5S y la posterior importación a la mitocondria (77, 85). También el enzima TST junto con MRPL18, actúa como un factor de importación mitocondrial para el ARNr 5S citosólico.

Los mecanismos de transporte del ARN a través de las membranas mitocondriales no son del todo conocidos. Se sabe que dependen de ATP y del potencial de membrana e incluso podrían estar implicados los procesos de transporte de los precursores de proteínas como las proteínas TOM y el canal VDAC.

En el transporte a través del EIM interviene el enzima PNPasa, una exorribonucleasa codificada por el gen PNPT1 localizada tanto en el EIM como en la matriz. Pero parece que sólo su localización en el EIM tiene participación en el transporte de ARN a través del reconocimiento de las estructuras tallo-bucle de las moléculas de ARN no codificante.

Además, controla la salida de ARN al citosol en condiciones fisiológicas y de enfermedad, y como este enzima se puede liberar al citosol, se plantea su relación con la apoptosis.

Las alteraciones en esta enzima se asocian a patologías mitocondriales con deficiencias en la cadena respiratoria y en el procesamiento y la importación del ARN mitocondrial (86).

## 2. HIPÓTESIS

Este trabajo podría ayudar a explicar la importancia de las proteínas implicadas en los procesos de transporte de proteínas y ARN al interior de la mitocondria en el pronóstico favorable o desfavorable de determinados cánceres dependiendo de los niveles de expresión de estas proteínas.

### 3. JUSTIFICACIÓN

En la actualidad se han llevado a cabo gran cantidad de trabajos de investigación que estudian la relación existente entre la mitocondria y su implicación en el desarrollo del cáncer, sin embargo, son pocos los estudios que se centran en recoger información sobre las proteínas implicadas en los diferentes mecanismos de transporte de ácidos nucleicos y proteínas a la mitocondria y su posible participación en el pronóstico de determinados tumores.

Esta implicación pronóstica se debe a que las proteínas analizadas pueden presentar cambios en sus niveles de expresión en distintos tipos de tumores, y esto se ha visto relacionado con el pronóstico favorable o desfavorable del cáncer.

Por todo ello, este estudio se centra en analizar de forma sistemática las proteínas implicadas en el transporte de ARN y proteínas a la mitocondria y su comportamiento en los diferentes tejidos tumorales.

#### **4. OBJETIVOS**

Los objetivos de este trabajo de final de grado son:

1. Identificar aquellas proteínas humanas implicadas en el proceso de transporte de proteínas y ARN a las mitocondrias que puedan estar relacionadas con el pronóstico de diferentes tumores.
2. Tratar de establecer hipótesis sobre los posibles mecanismos por los cuales la variación en la expresión de determinados genes de proteínas de la maquinaria de transporte mitocondrial se relaciona con un mejor o peor pronóstico del cáncer.

## 5. MATERIAL Y MÉTODOS

Para dar respuesta a los objetivos planteados en este trabajo, se realizó, en primer lugar, una búsqueda de información para obtener una visión general de la mitocondria como organelo celular y su relación con el cáncer. También se investigó sobre los diferentes mecanismos de importación de proteínas y ácidos nucleicos a la mitocondria.

Para ello, se buscaron los artículos y páginas webs que interesaban en el buscador de Google, así como también se recurrió a referencias bibliográficas de artículos relacionados para obtener más información. También se utilizó la base de datos Pubmed para la búsqueda de artículos.

En segundo lugar, se identificaron las proteínas implicadas en estos mecanismos de importación de ARN y proteínas a la mitocondria y se realizó una tabla Excel con todas ellas.

A continuación, con la ayuda de la base de datos MitoCarta3.0. se recogieron los datos necesarios de cada una de las proteínas. Ante la carencia de una herramienta propia de la web para la búsqueda, se recurrió al uso de la opción Control F del teclado del ordenador.

Con los datos obtenidos se completó la tabla Excel que incluía: el nombre completo en inglés de cada proteína, su símbolo, el compartimento mitocondrial en el que está localizada y su presencia o ausencia en los diferentes tejidos analizados en MitoCart3.0. En un primer momento se adjuntó además la función según esta web.

Con toda esta información se accedió a la base de datos The Human Protein Atlas, para investigar la presencia de dichas proteínas en células humanas y su posible participación en el pronóstico del cáncer según sus niveles de expresión.

Durante la búsqueda y el análisis de las proteínas, se detectó que algunas de ellas no están incluidas en The Human Protein Atlas, y gracias a la base de datos Uniprot, se confirmó que estas proteínas aún no se han encontrado en células humanas, sino que únicamente se han visto presentes en células de otras especies, por lo que fueron retiradas del estudio y, por tanto, de la tabla Excel: Timm12, Timm54, Timm18, Pam17, Hot13, Samm35, Samm37, Mdm10, Mdm34, Mdm12, Mmm1, Gem1, Mim1, Mim2, Mgr2.

Hay que destacar que la proteína Mba1 de la MMI sí aparece en The Human Protein Atlas, pero la función es diferente a la estudiada y citada en la introducción. Además, su localización según The Human Protein Atlas parece ser nuclear. Por tanto, también fue retirada del estudio.

De la base de datos The Human Protein Atlas se extrajo la función de cada proteína, que sustituyó a la función recogida en MitoCarta3.0., así como la implicación pronóstica en los diferentes tipos de cáncer. Esta información se añadió a la tabla Excel.

Para una mejor visualización de los resultados, se dividió la tabla en cuatro subtablas, atendiendo a la localización de las proteínas en los distintos compartimentos mitocondriales.

Por último, se diseñaron varias tablas para informar exclusivamente de aquellas proteínas implicadas en el pronóstico de los distintos tipos de cáncer y de si esta aportación pronóstica es favorable o desfavorable.

Además, se utilizaron las figuras de la introducción para señalar en las distintas rutas de importación aquellas proteínas presentes en células humanas e implicadas en el pronóstico.

## **5.1.Bases de datos**

### **5.1.1. MitoCarta3.0.**

Es un inventario de acceso gratuito que contiene 1136 genes humanos y 1140 de ratón que codifican proteínas que participan en la localización mitocondrial. Además, en esta última versión de la base de datos, se han incorporado vías mitocondriales relevantes y localizaciones específicas de las proteínas en los diferentes compartimentos mitocondriales.

Para poder acceder a la base de datos, buscar en Google, MitoCarta3.0.: an inventory of mammalian mitochondrial proteins and pathways.

### 5.1.2. Human Protein Atlas

Es un programa de acceso libre basado en el mapeo de todas las proteínas humanas en células, tejidos y órganos normales y en cáncer.

De cada proteína se estudian diez aspectos diferentes: la distribución en los tejidos y órganos principales del cuerpo humano, la localización en regiones del cerebro de los mamíferos, la expresión de genes que codifican proteínas en distintos tipos de células humanas gracias a la secuenciación del ARN, los niveles de proteína en los pacientes con cáncer, la expresión de genes que codifican proteínas en tipos de células inmunitarias, las proteínas en sangre y las secretadas por los tejidos humanos, la localización subcelular de proteínas en células individuales, la expresión de genes que codifican proteínas en líneas celulares humanas y la expresión de genes que codifican proteínas que participan en la red metabólica humana.

Para poder acceder a la base de datos, buscar en Google, [proteinatlas.org](http://proteinatlas.org).

### 5.1.3. Pubmed

Es una base de datos de acceso libre que recoge millones de referencias bibliográficas,

la mayoría posteriores a 1950 y con un aumento de 800 mil referencias al año.

Recoge trabajos publicados en un gran número de revistas científicas del ámbito de la biomedicina y la salud.

Pueden realizarse desde consultas sencillas a otras más complejas, además de guardar estrategias de búsqueda, crear alertas y archivar los resultados de cada búsqueda bibliográfica.

Para poder acceder a la base de datos, buscar en Google, [pubmed.ncbi.nlm.nih.gov](http://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov).

Esta fue la búsqueda que se realizó:

Search	Actions	Details	Query	Results	Time
#5	...	>	Search: (((protein transport) AND (RNA transport)) AND (mitochondria)) AND (cancer)) AND (prognostic)	8	04:18:13
#4	...	>	Search: (((protein transport) AND (RNA transport)) AND (mitochondria)) AND (cancer)	486	04:18:02
#3	...	>	Search: ((protein transport) AND (RNA transport)) AND (mitochondria)	3,106	04:17:21
#2	...	>	Search: (protein transport) AND (RNA transport)	42,224	04:16:47
#1	...	>	Search: protein transport	278,840	04:16:18

#### 5.1.4. Uniprot

Es un repositorio de datos gratuito que permite recopilar información sobre proteínas

de todos los organismos y virus.

Cada proteína tiene datos básicos como su secuencia de aminoácidos, su nombre y descripción, los datos taxonómicos y las referencias. Pero, también incluye gran cantidad de información adicional.

Para poder acceder a la base de datos, buscar en Google, [uniprot.org/blast/](http://uniprot.org/blast/).

## 6. RESULTADOS

Tras la búsqueda y el análisis de las proteínas implicadas en los procesos de importación de ARN y proteínas a la mitocondria, estos fueron los resultados obtenidos:

### **6.1. Proteínas implicadas en el proceso de transporte según el subcompartimento mitocondrial.**

En las siguientes tablas se clasifican las proteínas analizadas según el compartimento mitocondrial correspondiente y se resumen los resultados obtenidos para cada una de ellas indicando el símbolo, el nombre completo en inglés, los tejidos en los que está presente según la base de datos MitoCarta3.0. y la función específica indicada en The Human Protein Atlas.

Nº	SÍMBOLO	NOMBRE	TEJIDOS	FUNCIÓN (The Human Protein Atlas)
1	<b>Tom40</b>	Translocase of outer mitochondrial membrane 40	cerebro, médula espinal, riñón, músculo esquelético, tejido adiposo, intestino delgado, intestino grueso, estómago, placenta, testículos	Proteína formadora de canales esencial para la importación de precursores de proteínas a las mitocondrias. Participa en el ensamblaje de la NADH deshidrogenasa de la cadena respiratoria (complejo I).
2	<b>Tom20</b>	Translocase of outer mitochondrial membrane 20	cerebro, cerebelo, tronco encefálico, médula espinal, riñón, hígado, corazón, músculo esquelético, tejido adiposo, intestino grueso, estómago, placenta, testículos	Componente del complejo TOM responsable del reconocimiento y translocación de preproteínas mitocondriales sintetizadas en el citosol. Junto con Tom22, funciona como receptor del péptido de tránsito en la MME y facilita el transporte hacia Tom40.
3	<b>Tom22</b>	Translocase of outer mitochondrial membrane 22	cerebro, cerebelo, tronco encefálico, médula espinal, riñón, hígado, corazón, músculo esquelético, tejido adiposo, intestino delgado, intestino grueso, estómago, placenta, testículos	Componente del complejo TOM responsable del reconocimiento y translocación de preproteínas mitocondriales sintetizadas en el citosol. Junto con Tom20, funciona como receptor del péptido de tránsito en la MME y facilita el transporte hacia Tom40.
4	<b>Tom70</b>	Translocase of outer mitochondrial membrane 70	cerebro, cerebelo, tronco encefálico, médula espinal, riñón, hígado, músculo esquelético, tejido adiposo, intestino grueso, estómago, placenta, testículos	Componente del complejo TOM responsable del reconocimiento y translocación de preproteínas mitocondriales sintetizadas en el citosol de manera dependiente de chaperonas.
5	<b>Tom5</b>	Translocase of outer mitochondrial membrane 5	cerebro, cerebelo, tronco encefálico, médula espinal, riñón, hígado, músculo esquelético, tejido adiposo, intestino delgado, intestino grueso, estómago, placenta, testículos	Transporte de proteínas.
6	<b>Tom6</b>	Translocase of outer mitochondrial membrane 6	cerebro, cerebelo, tronco encefálico, médula espinal, hígado, corazón, tejido adiposo, intestino delgado, intestino grueso, estómago, placenta, testículos	Transporte de proteínas.
7	<b>Tom7</b>	Translocase of outer mitochondrial membrane 70	cerebro, cerebelo, médula espinal, riñón, hígado, músculo esquelético, tejido adiposo, intestino delgado, estómago, placenta, testículo	Necesario para el montaje y la estabilidad del complejo TOM. Regulador positivo de la translocación de PRKN a las mitocondrias dañadas.
8	<b>Tom34</b>	Translocase of outer mitochondrial membrane 34	testículo	Participa en la importación de preproteínas a las mitocondrias sintetizadas en el citosol. Interactúa con los componentes celulares y posee actividad ATPasa débil. Puede ser una proteína similar a una chaperona que ayuda a mantener los precursores en un estado desplegado compatible con la importación.
9	<b>Hsp40</b>	Heat shock protein 40 (DNAJC11)	cerebro, cerebelo, tronco encefálico, médula espinal, riñón, hígado, corazón, músculo esquelético, tejido adiposo, intestino delgado, intestino grueso, estómago, placenta, testículos	Proteína necesaria para la organización de la MMI. Se asocia con el complejo MICOS y el complejo de maquinaria de ensamblaje de clasificación de la membrana externa mitocondrial (SAM).
10	<b>VDAC1</b>	Voltage dependent anion channel 1	cerebro, cerebelo, tronco encefálico, médula espinal, riñón, hígado, corazón, músculo esquelético, tejido adiposo, intestino delgado, intestino grueso, estómago, placenta, testículos	Forma un canal en la MME y en la membrana plasmática. En la MME permite el paso de moléculas hidrofílicas mientras que en la membrana plasmática regula el volumen celular y la apoptosis. Adopta una conformación abierta o cerrada dependiente del potencial de membrana. Se une a varias moléculas, incluida la ceramida esfingolípida, el fosfolípido fosfatidilcolina y el colesterol esterol. Promueve la mitofagia o previene la apoptosis según actúe tras PRKN o PINK1, respectivamente. Puede participar en la liberación de productos mitocondriales que desencadenan la apoptosis a través de PTPC, así como en la exportación de ATP desde las células.
11	<b>VDAC2</b>	Voltage dependent anion channel 2	cerebro, cerebelo, tronco encefálico, médula espinal, riñón, hígado, corazón, músculo esquelético, tejido adiposo, intestino delgado, intestino grueso, estómago, placenta, testículos	Forma un canal en la MME que permite la difusión de moléculas hidrofílicas. Adopta una conformación abierta o cerrada dependiente del potencial de membrana. Se une a varios lípidos, incluidos el esfingolípido ceramida, el fosfolípido fosfatidilcolina y el esterol colesterol. La unión a ceramida promueve la vía apoptótica de permeabilización de la MME (MOMP)
12	<b>VDAC3</b>	Voltage dependent anion channel 3	cerebro, cerebelo, tronco encefálico, médula espinal, riñón, hígado, corazón, músculo esquelético, tejido adiposo, intestino delgado, intestino grueso, estómago, placenta, testículos	Forma un canal a través de la MME que permite la difusión de pequeñas moléculas hidrofílicas.
13	<b>Samm50</b>	Samm 50 sorting and assembly machinery component	cerebro, cerebelo, tronco encefálico, médula espinal, riñón, hígado, corazón, músculo esquelético, tejido adiposo, intestino delgado, intestino grueso, estómago, placenta, testículos	Desempeña un papel crucial en el mantenimiento de la estructura de las crestas mitocondriales y el correcto ensamblaje de los complejos de la cadena respiratoria mitocondrial. Necesario para el montaje de Tom40 del complejo TOM.

**Tabla 1. Proteínas localizadas en la MME implicadas en el transporte de proteínas y ARN a la mitocondria. Símbolo, nombre, presencia en los tejidos analizados y función.**

Nº	SÍMBOLO	NOMBRE	TEJIDOS	FUNCIÓN (The Human Protein Atlas)
14	<b>Timm50</b>	Translocase of inner mitochondrial membrane 50	cerebro, cerebelo, tronco encefálico, médula espinal, riñón, hígado, corazón, músculo esquelético, tejido adiposo, intestino delgado, intestino grueso, estómago, placenta, testículos	Componente esencial del complejo TIM23, que media la translocación de proteínas que contienen péptidos de tránsito a través de la MMI.
15	<b>Timm23</b>	Translocase of inner mitochondrial membrane 23	cerebro, cerebelo, tronco encefálico, médula espinal, riñón, hígado, corazón, músculo esquelético, tejido adiposo, intestino delgado, intestino grueso, estómago, placenta, testículos	Componente esencial del complejo TIM23, que media la translocación de proteínas que contienen péptidos de tránsito a través de la MMI.
16	<b>Timm21</b>	Translocase of inner mitochondrial membrane 21	cerebro, cerebelo, tronco encefálico, médula espinal, hígado, corazón, músculo esquelético, tejido adiposo, intestino grueso, estómago, placenta, testículos	Participa en la translocación de proteínas que contienen péptidos de tránsito a través de la MMI. También se requiere para el ensamblaje del complejo I y el complejo IV de la cadena respiratoria mitocondrial como componente del complejo MITRAC (complejo intermedio del ensamblaje de la regulación de la traducción mitocondrial del complejo citocromo c oxidasa).
17	<b>Timm17A</b>	Translocase of inner mitochondrial membrane 17A	cerebro, cerebelo, tronco encefálico, médula espinal, riñón, hígado, corazón, músculo esquelético, tejido adiposo, intestino delgado, intestino grueso, estómago, placenta, testículos	Componente esencial del complejo TIM23, que media la translocación de proteínas que contienen péptidos de tránsito a través de la MMI.
18	<b>Timm17B</b>	Translocase of inner mitochondrial membrane 17B	cerebro, cerebelo, tronco encefálico, médula espinal, riñón, hígado, corazón, músculo esquelético, tejido adiposo, intestino delgado, intestino grueso, estómago, placenta, testículos	Componente esencial del complejo TIM23, que media la translocación de proteínas que contienen péptidos de tránsito a través de la MMI.
19	<b>Timm44</b>	Translocase of inner mitochondrial membrane 44	cerebro, cerebelo, tronco encefálico, médula espinal, riñón, hígado, corazón, músculo esquelético, tejido adiposo, intestino delgado, intestino grueso, estómago, placenta, testículos	Componente esencial del complejo PAM, necesario para la translocación de proteínas que contienen péptidos de tránsito desde la MMI a la matriz de manera dependiente de ATP. Recluta a la HSP70 mitocondrial.
20	<b>Timm9</b>	Translocase of inner mitochondrial membrane 9	cerebro, cerebelo, tronco encefálico, médula espinal, riñón, hígado, corazón, músculo esquelético, tejido adiposo, intestino delgado, intestino grueso, estómago, placenta, testículos	Chaperona intermembrana mitocondrial que participa en la importación e inserción de proteínas en la MMI. También interviene en la transferencia de precursores barriles beta del complejo TOM al complejo SAM de la MME. Protege a los precursores hidrofóbicos de la agregación y los guía a través del espacio intermembrana mitocondrial.
21	<b>Timm10</b>	Translocase of inner mitochondrial membrane 10	cerebro, cerebelo, tronco encefálico, médula espinal, hígado, músculo esquelético, tejido adiposo, intestino delgado, intestino grueso, estómago, placenta, testículos	Chaperona intermembrana mitocondrial que participa en la importación e inserción de proteínas en la MMI. También interviene en la transferencia de precursores barriles beta del complejo TOM al complejo SAM de la MME. Protege a los precursores hidrofóbicos de la agregación y los guía a través del espacio intermembrana mitocondrial.
22	<b>Timm8</b>	Translocase of inner mitochondrial membrane 8 (TIMM8A)	cerebro, cerebelo, tronco encefálico, médula espinal, riñón, hígado, corazón, músculo esquelético, tejido adiposo, intestino delgado, intestino grueso, estómago, placenta, testículos	Chaperona intermembrana mitocondrial que participa en la importación e inserción de proteínas en la MMI. También interviene en la transferencia de precursores barriles beta del complejo TOM al complejo SAM de la MME. Protege a los precursores hidrofóbicos de la agregación y los guía a través del espacio intermembrana mitocondrial.
23	<b>Timm13</b>	Translocase of inner mitochondrial membrane 13	cerebro, cerebelo, tronco encefálico, médula espinal, riñón, hígado, corazón, músculo esquelético, tejido adiposo, intestino delgado, intestino grueso, estómago, placenta, testículos	Chaperona intermembrana mitocondrial que participa en la importación e inserción de proteínas en la MMI. También interviene en la transferencia de precursores barriles beta del complejo TOM al complejo SAM de la MME. Protege a los precursores hidrofóbicos de la agregación y los guía a través del espacio intermembrana mitocondrial.
24	<b>Timm22</b>	Translocase of inner mitochondrial membrane 22	cerebro, cerebelo, tronco encefálico, médula espinal, riñón, hígado, corazón, músculo esquelético, tejido adiposo, intestino delgado, intestino grueso, estómago, placenta, testículos	Componente central esencial del complejo TIM22, que media la importación e inserción de proteínas transmembrana en la MMI. Constituye el canal activado por voltaje y controlado por señal.
25	<b>Sdh3</b>	Succinate dehydrogenase subunit 3 (SDHC)	cerebro, cerebelo, tronco encefálico, médula espinal, riñón, hígado, corazón, músculo esquelético, tejido adiposo, intestino delgado, intestino grueso, estómago, placenta, testículos	Subunidad de anclaje a la membrana de la succinato deshidrogenasa (SDH) que participa en el complejo II de la cadena de transporte de electrones encargado de transferir electrones de la succinato a la ubiquinona (coenzima Q).
26	<b>Pam16</b>	Presequence translocase associated motor 16	cerebro, cerebelo, tronco encefálico, médula espinal, riñón, hígado, corazón, músculo esquelético, tejido adiposo, intestino delgado, intestino grueso, estómago, placenta, testículos	Regula la translocación de proteínas dependientes de ATP a la matriz mitocondrial. Inhibe la estimulación de Pam18 (DNAJC19) de la actividad de HSPA9/Mortalin ATPasa (mtHsp70).
27	<b>Pam18</b>	Presequence translocase associated motor 18 (DNAJC19)	cerebro, cerebelo, tronco encefálico, médula espinal, riñón, hígado, corazón, músculo esquelético, tejido adiposo, intestino delgado, intestino grueso, estómago, placenta, testículos	Cochaperona mitocondrial que forma un complejo con prohibitinas para regular la remodelación de cardiolipina. Componente del complejo PAM, requerido para la translocación de proteínas que contienen péptidos de tránsito desde la MMI hacia la matriz dependiente de ATP.
28	<b>Oxa1</b>	Mitochondrial oxidase assembly protein 1 (OXAL1)	cerebro, tronco encefálico, médula espinal, riñón, corazón, tejido adiposo, intestino delgado, intestino grueso, placenta, testículo	Proteína requerida para la inserción de proteínas integrales de membrana en la MMI. Esencial para la actividad y el ensamblaje de la citocromo oxidasa. Necesaria para la correcta biogénesis de la ATP sintasa y del complejo I en las mitocondrias.
29	<b>Imp1</b>	Inner mitochondrial membrane peptidase subunit 1 (IMMP1L)	testículo	Cataliza la eliminación de los péptidos de tránsito necesarios para la orientación de las proteínas desde la matriz mitocondrial hacia el espacio intermembrana. Conocido por procesar la proteína nuclear DIABLO.
30	<b>Imp2</b>	Inner mitochondrial membrane peptidase subunit 2 (IMMP2L)	cerebelo, tronco encefálico, hígado, músculo esquelético, tejido adiposo, intestino grueso, testículo	Cataliza la eliminación de los péptidos de tránsito necesarios para la orientación de las proteínas desde la matriz mitocondrial hacia el espacio intermembrana. Conocido por procesar la proteína nuclear DIABLO.
31	<b>Mic60</b>	MICOS complex subunit Mic60 (IMMT)	cerebro, cerebelo, tronco encefálico, médula espinal, riñón, hígado, corazón, músculo esquelético, tejido adiposo, intestino delgado, intestino grueso, estómago, placenta, testículos	Componente del complejo MICOS de la MMI que juega un papel crucial en el mantenimiento de las uniones de las crestas, la arquitectura de la MMI y la formación de sitios de contacto con la MME.
32	<b>Mic19</b>	MICOS complex subunit Mic19 (CCHHD3)	cerebro, cerebelo, tronco encefálico, médula espinal, riñón, hígado, corazón, músculo esquelético, tejido adiposo, intestino delgado, intestino grueso, estómago, placenta, testículos	Componente del complejo MICOS de la MMI que juega un papel crucial en el mantenimiento de las uniones de las crestas, la arquitectura de la MMI y la formación de sitios de contacto con la MME. También se ha demostrado que funciona como un factor de transcripción que se une al promotor de BAG1 y reprime la transcripción de BAG1.

**Tabla 2. Proteínas localizadas en la MMI implicadas en el transporte de proteínas y ARN a la mitocondria. Símbolo, nombre, presencia en los tejidos analizados y función.**

Nº	SÍMBOLO	NOMBRE	TEJIDOS	FUNCIÓN (The Human Protein Atlas)
33	MT-CYB	Cytochrome b	cerebro, cerebelo, tronco encefálico, médula espinal, riñón, hígado, corazón, músculo esquelético, tejido adiposo, intestino delgado, intestino grueso, estómago, placenta, testículos	Componente del complejo III de la cadena de transporte de electrones de la mitocondria que interviene en la síntesis de ATP. Cataliza la transferencia de electrones desde el ubiquinol al citocromo c.
34	CYC1	Cytochrome c	cerebro, cerebelo, tronco encefálico, médula espinal, riñón, hígado, corazón, músculo esquelético, tejido adiposo, intestino delgado, intestino grueso, estómago, placenta, testículos	Componente del complejo III de la cadena de transporte de electrones de la mitocondria que interviene en la síntesis de ATP. Cataliza la transferencia de electrones desde el ubiquinol al citocromo c.
35	UQCRCF1	Ubiquinol-cytochrome c reductase, Rieske iron-sulfur polypeptide 1	cerebro, cerebelo, tronco encefálico, médula espinal, riñón, hígado, corazón, músculo esquelético, tejido adiposo, intestino delgado, intestino grueso, estómago, placenta, testículos	Componente del complejo III de la cadena de transporte de electrones de la mitocondria que interviene en la síntesis de ATP. Cataliza la transferencia de electrones desde el ubiquinol al citocromo c.
36	MT-CO1	Cytochrome oxidase subunit 1	cerebro, cerebelo, tronco encefálico, médula espinal, riñón, hígado, corazón, músculo esquelético, tejido adiposo, intestino delgado, intestino grueso, estómago, placenta, testículos	Componente del complejo IV de la cadena de transporte de electrones de la mitocondria que interviene en la síntesis de ATP. Este complejo cataliza la reducción de oxígeno a agua.
37	MT-CO2	Beta-carotene oxygenase 2	cerebro, cerebelo, tronco encefálico, médula espinal, riñón, hígado, corazón, músculo esquelético, tejido adiposo, intestino delgado, intestino grueso, estómago, placenta, testículos	Componente del complejo IV de la cadena de transporte de electrones de la mitocondria que interviene en la síntesis de ATP. Este complejo cataliza la reducción de oxígeno a agua.
38	MT-CO3	Cytochrome c oxidase III	cerebro, cerebelo, tronco encefálico, médula espinal, riñón, hígado, corazón, músculo esquelético, tejido adiposo, intestino delgado, intestino grueso, estómago, placenta, testículos	Componente del complejo IV de la cadena de transporte de electrones de la mitocondria que interviene en la síntesis de ATP. Este complejo cataliza la reducción de oxígeno a agua.

**Tabla 3. Subunidades proteicas de los complejos III y IV de la cadena de transporte de electrones de la MMI implicadas en el transporte de proteínas y ARN a la mitocondria. Símbolo, nombre, presencia en los tejidos analizados y función.**

Nº	SÍMBOLO	NOMBRE	TEJIDOS	FUNCIÓN (The Human Protein Atlas)
38	Mia40	Mitochondrial intermembrane space import and assembly protein 40 (CHCHD4)	cerebro, cerebelo, tronco encefálico, médula espinal, músculo esquelético, tejido adiposo, intestino delgado, intestino grueso, estómago, placenta, testículos	Componente de la maquinaria de importación del EIM sensible a redox necesaria para la biogénesis de los complejos de la cadena respiratoria. Funciona como chaperona y cataliza la formación de enlaces disulfuro en proteínas sustrato. Media la importación y plegamiento de pequeñas proteínas que contienen cisteína en el EIM. Las proteínas precursoras que se importan en su forma reducida.
39	Erv1 o ARL	Sulfhydryl oxidase Erv1 (essential for respiration and vegetative growth) o ARL (augmenter of liver regeneration) (GFER)	cerebro, cerebelo, tronco encefálico, médula espinal, riñón, hígado, tejido adiposo, intestino delgado, intestino grueso, estómago, placenta, testículos	Sulfhidroxi oxidasa dependiente de FAD que regenera los enlaces disulfuro redox activos en Mia40. La forma reducida de Mia40 forma un puente disulfuro intermolecular transitorio con Erv1, lo que da como resultado la regeneración de los enlaces disulfuro esenciales en Mia40, mientras que Erv1 se vuelve a oxidar al donar electrones al citocromo c u oxígeno molecular.
40	PNPT1	Polirribonucleótido nucleotidiltransferasa 1	cerebro, cerebelo, tronco encefálico, médula espinal, riñón, hígado, corazón, músculo esquelético, tejido adiposo, intestino delgado, intestino grueso, estómago, placenta, testículos	Proteína de unión al ARN implicada en procesos metabólicos. Participa en la degradación de transcritos mitocondriales no codificantes. Factor de importación de pequeños componentes de ARN, como el ARN 5S, la subunidad de ARN de la ribonucleasa P y el ARN de procesamiento de ARN mitocondrial (MRP). Interviene en la morfogénesis y respiración mitocondrial; regula la expresión de los componentes de la cadena de transporte de electrones. En el citoplasma, muestra una exonucleasa de 3' a 5' que media la actividad de degradación del ARNm; degrada el ARNm de c-myc tras el tratamiento con IFN-beta, deteniendo el crecimiento de las células de melanoma. Regula la estabilidad de miARN maduros específicos en células de melanoma; degrada específica y selectivamente miR-221, preferentemente.

**Tabla 4. Proteínas localizadas en el EIM implicadas en el transporte de proteínas y ARN a la mitocondria. Símbolo, nombre, presencia en los tejidos analizados y función.**

Nº	SÍMBOLO	NOMBRE	TEJIDOS	FUNCIÓN (The Human Protein Atlas)
41	Mpp	Mitochondrial processing peptidase (PMPCB)	cerebro, cerebelo, tronco encefálico, médula espinal, riñón, hígado, corazón, músculo esquelético, tejido adiposo, intestino delgado, intestino grueso, estómago, placenta, testículos	Subunidad catalítica de la proteasa de procesamiento mitocondrial esencial (MPP), que escinde la secuencia mitocondrial de las proteínas precursoras recién importadas.
42	mtHsp70	Mitochondrial heat shock protein 70 (HSPA9)	cerebro, cerebelo, tronco encefálico, médula espinal, riñón, hígado, corazón, músculo esquelético, tejido adiposo, intestino delgado, intestino grueso, estómago, placenta, testículos	Chaperona que juega un papel importante en la biogénesis del grupo hierro-azufre mitocondrial.
43	Mge1	GrpE protein homolog, mitochondrial (GRPEL1)	cerebro, cerebelo, tronco encefálico, médula espinal, riñón, hígado, corazón, músculo esquelético, tejido adiposo, intestino delgado, intestino grueso, estómago, placenta, testículos	Componente del complejo PAM, necesario para la translocación de proteínas que contienen péptidos de tránsito desde la MMI a la matriz dependiente de ATP. Parece controlar la unión dependiente de nucleótidos de HSP70 mitocondrial a proteínas sustrato.
44	Zmf17	DNL-type zinc finger (DNLZ)	cerebro, cerebelo, tronco encefálico, corazón, tejido adiposo, intestino delgado, intestino grueso, estómago, placenta	Puede funcionar como acompañante de HSPA9/Mortalin que, por sí mismo, es propenso a la autoagregación.
45	Oct1 (MIP)	Mitochondrial intermediate peptidase (MIPEP)	cerebro, médula espinal, riñón, hígado, corazón, músculo esquelético, tejido adiposo, intestino delgado, intestino grueso, estómago, placenta, testículos	Escinde las proteínas, importadas a la mitocondria, hasta su tamaño maduro.
46	Icp55	Intermediate cleaving peptidase 55 (XPNPEP3)	cerebro, hígado, tejido adiposo, intestino delgado, intestino grueso, estómago, placenta, testículos	Cataliza la eliminación de un penúltimo residuo de prolo de los extremos N de péptidos, como Leu-Pro-Ala.
47	Hsp60	Heat shock protein Hsp60 (HSPD1)	cerebro, cerebelo, tronco encefálico, médula espinal, riñón, hígado, corazón, músculo esquelético, tejido adiposo, intestino delgado, intestino grueso, estómago, placenta, testículos	Chaperonita implicada en la importación de proteínas mitocondriales y el ensamblaje macromolecular. Junto con Hsp10, facilita el correcto plegamiento de las proteínas importadas. También puede prevenir el mal plegamiento y promover el replegamiento de polipéptidos desplegados bajo condiciones de estrés en la matriz mitocondrial.
48	Hsp10	Heat shock protein Hsp10 (HSPE1)	cerebro, cerebelo, tronco encefálico, médula espinal, riñón, hígado, corazón, músculo esquelético, tejido adiposo, intestino delgado, intestino grueso, estómago, placenta, testículos	Chaperonita implicada en la importación de proteínas mitocondriales y el ensamblaje macromolecular. Junto con Hsp60, facilita el correcto plegamiento de las proteínas importadas. También puede prevenir el mal plegamiento y promover el replegamiento de polipéptidos desplegados bajo condiciones de estrés en la matriz mitocondrial.
49	Hsp90	Heat shock protein 90 (TRAP1)	cerebro, cerebelo, tronco encefálico, médula espinal, riñón, hígado, corazón, músculo esquelético, tejido adiposo, intestino delgado, intestino grueso, estómago, placenta, testículos	Chaperona que expresa una actividad ATPasa. Participa en el mantenimiento de la polarización y función mitocondrial de PINK1 y del complejo mitocondrial I. Es un regulador negativo de la respiración mitocondrial capaz de ajustar el equilibrio entre la fosforilación oxidativa y la glucólisis aeróbica.
50	MRPL18	Mitochondrial ribosomal protein L18	cerebro, cerebelo, tronco encefálico, médula espinal, riñón, hígado, corazón, músculo esquelético, tejido adiposo, intestino delgado, intestino grueso, estómago, placenta, testículos	Junto con la tiosulfato sulfatransferasa (TST), actúa como un factor de importación mitocondrial para el ARNr 5S citosólico. La forma precursora actúa de chaperona del ARN y es capaz de plegarlo en una conformación que es reconocida por la rodanasa (TST) para su correcta importación.
51	TST	Tiosulfato sulfatransferasa	cerebro, cerebelo, tronco encefálico, médula espinal, riñón, hígado, corazón, músculo esquelético, tejido adiposo, intestino delgado, intestino grueso, estómago, placenta, testículos	Junto con MRPL18, actúa como un factor de importación mitocondrial para el ARNr 5S citosólico. Solo la forma citoplasmática desplegada naciente es capaz de unirse al ARNr 5S. Participa en la formación de complejos de hierro-azufre, desintoxicación de cianuro o modificación de enzimas que contienen azufre.
52	PNPT1	Polirribonucleótido nucleotidiltransferasa 1	cerebro, cerebelo, tronco encefálico, médula espinal, riñón, hígado, corazón, músculo esquelético, tejido adiposo, intestino delgado, intestino grueso, estómago, placenta, testículos	Proteína de unión al ARN implicada en procesos metabólicos. Participa en la degradación de transcritos mitocondriales no codificantes. Factor de importación de pequeños componentes de ARN, como el ARNr 5S. La subunidad de ARN de la ribonucleasa P y el ARN de procesamiento de ARN mitocondrial (MRP). Interviene en la morfogénesis y respiración mitocondrial; regula la expresión de los componentes de la cadena de transporte de electrones. En el citoplasma, muestra una exorribonucleasa de 3' a 5' que media la actividad de degradación del ARNr; degrada el ARNm de c-myc tras el tratamiento con IFN-beta, deteniendo el crecimiento de las células de melanoma. Regula la estabilidad de miARN maduros específicos en células de melanoma; degrada específica y selectivamente miR-221, preferentemente.

**Tabla 5. Proteínas localizadas en la matriz mitocondrial implicadas en el transporte de proteínas y ARN a la mitocondria. Símbolo, nombre, presencia en los tejidos analizados y función.**

## 6.2. Relación entre el aumento de la expresión de las proteínas mitocondriales y el pronóstico del cáncer.

Las tablas que se muestran a continuación mantienen la clasificación proteica según el compartimento mitocondrial, pero analizando mediante la base de datos The Human Protein Atlas los tejidos tumorales en los que los niveles elevados de las proteínas influyen en el pronóstico favorable o desfavorable.

En color amarillo se resaltan aquellas proteínas que tienen participación pronóstica en un mayor número de tejidos.

Nº	SÍMBOLO	TEJIDO (PRONÓSTICO)
3	Tomm22	Cáncer de hígado: LIHC (desf.)
5	Tomm5	Cáncer de hígado: LIHC (desf.); cáncer de piel: SKCM (desf.); cáncer de ovario: OV (fav.)
7	Tomm7	Cáncer de cabeza y cuello: HNSC (desf.)
8	Tomm34	Cáncer de hígado: LIHC (desf.); cáncer de cabeza y cuello: HNSC (desf.); cáncer de tiroides: THCA (fav.)
9	Hsp40	Cáncer de riñón: KICH, KIRC, KIRP (fav.)
10	VDAC1	Cáncer de pulmón: LUAD, LUSC (desf.); cáncer de cabeza y cuello: HNSC (desf.); cáncer de mama: BCRA (desf.); cáncer de hígado: LIHC (desf.)
11	VDAC2	Cáncer de cabeza y cuello: HNSC (desf.); cáncer de hígado: LIHC (desf.)
13	Samm50	Cáncer de riñón: KICH, KIRC, KIRP (fav.); cáncer de endometrio: UCEC (fav.)

**Tabla 6. Proteínas de la MME reflejadas en la tabla 1 que tienen implicación pronóstica favorable o desfavorable en determinados tejidos tumorales cuando aumentan sus niveles de expresión.**

Abreviaturas: LIHC, liver hepatocellular carcinoma; SKCM, human skin cutaneous melanoma; OV, ovarian cancer; HNSC, head and neck squamous cell carcinoma; THCA, thyroid cancer; KICH, kidney renal clear cell carcinoma; KIRC, kidney chromophobe; KIRP, kidney renal papillary cell carcinoma; BCRA, breast cancer; CESC, cervical squamous cell carcinoma; BCLA, bladder cancer; UCEC, uterine corpus endometrial carcinoma; PAAD, pancreatic adenocarcinoma; COAD, colon adenocarcinoma; READ, rectum adenocarcinoma; LUAD, lung adenocarcinoma; LUSC, lung squamous cell carcinoma; desf, desfavorable; fav, favorable.

Nº	SÍMBOLO	TEJIDO (PRONÓSTICO)
15	Timm23	Cáncer de hígado (desf.); cáncer de ovario (fav.)
16	Timm21	cáncer de hígado (desf.); cáncer de riñón: KICH, KIRC, KIRP (fav.)
17	Timm17A	Cáncer de mama: BRCA (desf.)
18	Timm17B	Cáncer de cérvix: CESC (desf.); cáncer de urotelio: BLCA (fav.)
20	Timm9	Cáncer de hígado: LIHC (desf.); cáncer de mama: BRCA (fav.); cáncer de ovario: OV (fav.)
22	Timm8	Cáncer de mama: BRCA (desf.); cáncer de endometrio: UCEC (desf.); cáncer de riñón: KICH, KIRC, KIRP (fav.)
23	Timm13	Cáncer de riñón: KICH, KIRC, KIRP (fav.); cáncer de endometrio: UCEC (fav.); cáncer de páncreas: PAAD (fav.)
24	Timm22	Cáncer de riñón: KICH, KIRC, KIRP (fav.); cáncer de páncreas: PAAD (fav.)
25	Sdh3	Cáncer de riñón: KICH, KIRC, KIRP (fav.)
26	Pam16	Cáncer de riñón: KICH, KIRC, KIRP (desf.); cáncer de urotelio: BLCA (fav.)
27	Pam18	Cáncer de ovario: OV (fav.)
28	Oxa1	Cáncer de riñón: KICH, KIRC, KIRP (fav.)
29	Imp1	Cáncer de páncreas: PAAD (fav.); cáncer de hígado: LIHC (desf.)
30	Imp2	Cáncer de cabeza y cuello: HNSC (desf.)
31	Mic60	Cáncer de riñón: KICH, KIRC, KIRP (fav.); cáncer de endometrio: UCEC (desf.); cáncer de hígado: LIHC (desf.)
32	Mic19	Cáncer de hígado: LIHC (desf.); cáncer de riñón: KICH, KIRC, KIRP (fav.)

**Tabla 7. Proteínas de la MMI reflejadas en la tabla 2 que tienen implicación pronóstica favorable o desfavorable en determinados tejidos tumorales cuando aumentan sus niveles de expresión.**

Abreviaturas: LIHC, liver hepatocellular carcinoma; SKCM, human skin cutaneous melanoma; OV, ovarian cancer; HNSC, head and neck squamous cell carcinoma; THCA, thyroid cancer; KICH, kidney renal clear cell carcinoma; KIRC, kidney chromophobe; KIRP, kidney renal papillary cell carcinoma; BCRA, breast cancer; CESC, cervical squamous cell carcinoma; BCLA, bladder cancer; UCEC, uterine corpus endometrial carcinoma; PAAD, pancreatic adenocarcinoma; COAD, colon adenocarcinoma; READ, rectum adenocarcinoma; LUAD, lung adenocarcinoma; LUSC, lung squamous cell carcinoma; desf., desfavorable; fav., favorable.

Nº	SÍMBOLO	TEJIDO (PRONÓSTICO)
33	MT-CYB	Cáncer de hígado: LIHC (fav)
34	CYC1	Cáncer de riñón: KICH, KIRC, KIRP (fav)
35	UQCRFS1	Cáncer de ovario: OV (desf); cáncer de riñón: KICH, KIRC, KIRP (fav); cáncer de colon y recto: COAD, READ (fav)
36	MT-CO1	Cáncer de hígado: LIHC (fav)
37	MT-CO2	Cáncer de hígado: LIHC (fav); cáncer de páncreas: PAAD (fav)
38	MT-CO3	Cáncer de páncreas: PAAD (fav); cáncer de hígado: LIHC (fav)

**Tabla 8. Subunidades proteicas de los complejos III y IV de la cadena de transporte de electrones de la MMI reflejadas en la tabla 3 que tienen implicación pronóstica favorable o desfavorable en determinados tejidos tumorales cuando aumentan sus niveles de expresión.**

Abreviaturas: LIHC, liver hepatocellular carcinoma; SKCM, human skin cutaneous melanoma; OV, ovarian cancer; HNSC, head and neck squamous cell carcinoma; THCA, thyroid cancer; KICH, kidney renal clear cell carcinoma; KIRC, kidney chromophobe; KIRP, kidney renal papillary cell carcinoma; BCRA, breast cancer; CESC, cervical squamous cell carcinoma; BCLA, bladder cancer; UCEC, uterine corpus endometrial carcinoma; PAAD, pancreatic adenocarcinoma; COAD, colon adenocarcinoma; READ, rectum adenocarcinoma; LUAD, lung adenocarcinoma; LUSC, lung squamous cell carcinoma; desf., desfavorable; fav., favorable.

Nº	SÍMBOLO	TEJIDO (PRONÓSTICO)
38	Mia40	Cáncer de riñón: KICH, KIRC, KIRP (fav.)
39	Erv1 o ARL	Cáncer de riñón: KICH, KIRC, KIRP (fav.)
40	PNPT1	Cáncer de hígado: LIHC (desf.); cáncer de páncreas: PAAD (desf.); cáncer de endometrio: UCEC (desf.)

**Tabla 9. Proteínas del EIM reflejadas en la tabla 4 que tienen implicación pronóstica favorable o desfavorable en determinados tejidos tumorales cuando aumentan sus niveles de expresión.**

Abreviaturas: LIHC, liver hepatocellular carcinoma; SKCM, human skin cutaneous melanoma; OV, ovarian cancer; HNSC, head and neck squamous cell carcinoma; THCA, thyroid cancer; KICH, kidney renal clear cell carcinoma; KIRC, kidney chromophobe; KIRP, kidney renal papillary cell carcinoma; BCRA, breast cancer; CESC, cervical squamous cell carcinoma; BCLA, bladder cancer; UCEC, uterine corpus endometrial carcinoma; PAAD, pancreatic adenocarcinoma; COAD, colon adenocarcinoma; READ, rectum adenocarcinoma; LUAD, lung adenocarcinoma; LUSC, lung squamous cell carcinoma; desf., desfavorable; fav., favorable.

Nº	SÍMBOLO	TEJIDO (PRONÓSTICO)
41	Mpp	Cáncer de riñón: KICH, KIRC, KIRP (fav.); cáncer de mama: BRCA (fav.)
42	mtHsp70	Cáncer de mama: BRCA (desf.); cáncer de colon y recto: COAD, READ (fav.)
43	Mge1	Cáncer de riñón : KICH, KIRC, KIRP (fav.)
45	Oct1 (MIP)	Cáncer de riñón: KICH, KIRC, KIRP (fav.)
46	Icp55	Cáncer de tiroides: THCA (desf.); cáncer de mama: BRCA (desf.)
47	Hsp60	Cáncer de endometrio: UCEC (desf.); cáncer de hígado: LIHC (desf.)
49	Hsp90	Cáncer de colon y recto: COAD, READ (fav.)
50	MRPL18	Cáncer de riñón: KICH, KIRC, KIRP (desf.); cáncer de hígado: LIHC (desf.)
51	TST	Cáncer de riñón: KICH, KIRC, KIRP (fav.); cáncer de urotelio: BLCA (fav.)
52	PNPT1	Cáncer de hígado: LIHC (desf.); cáncer de páncreas: PAAD (desf.); cáncer de endometrio: UCEC (desf.)

**Tabla 10. Proteínas de la matriz mitocondrial reflejadas en la tabla 5 que tienen implicación pronóstica favorable o desfavorable en determinados tejidos tumorales cuando aumentan sus niveles de expresión.**

Abreviaturas: LIHC, liver hepatocellular carcinoma; SKCM, human skin cutaneous melanoma; OV, ovarian cancer; HNSC, head and neck squamous cell carcinoma; THCA, thyroid cancer; KICH, kidney renal clear cell carcinoma; KIRC, kidney chromophobe; KIRP, kidney renal papillary cell carcinoma; BCRA, breast cancer; CESC, cervical squamous cell carcinoma; BCLA, bladder cancer; UCEC, uterine corpus endometrial carcinoma; PAAD, pancreatic adenocarcinoma; COAD, colon adenocarcinoma; READ, rectum adenocarcinoma; LUAD, lung adenocarcinoma; LUSC, lung squamous cell carcinoma; desf., desfavorable; fav., favorable.

La siguiente tabla muestra la clasificación de las proteínas en función de los tejidos tumorales en los que sus niveles de expresión están elevados y determina si el pronóstico es favorable o desfavorable.

TEJIDOS	FAVORABLE	DESFAVORABLE
LIHC	MT-CYB, MT-CO1, MT-CO2, MT-CO3	Tomm22, Tomm5, Tomm34, Timm23, Timm21, Timm9, Hsp60, VDAC1, VDAC2, Imp1, Mic60, Mic19, MRPL18, PNPT1
SKCM		Tomm5
OV	Tomm5, Timm23, Timm9, Pam18	UQCRFS1
HNSC		Tomm7, Tomm34, VDAC1, VDAC2, Imp2
THCA	Tomm34	Icp55
KICH, KIRC, KIRP	Timm21, Timm8, Timm13, Timm22, Sdh3, Mpp, Mge1, Oct1, Hsp40, Oxa1, Mia40, Erv1, Samm50, Mic60, Mic19, TST, CYC1, UQCRFS1	Pam16, MRPL18
BRCA	Timm9, Mpp	Timm17A, Timm8, mtHsp70, Icp55, VDAC1
CESC		Timm17B
BLCA	Timm17B, Pam16, TST	
UCEC	Timm13, Hsp60, Samm50	Timm8, Mic60, PNPT1
PAAD	Timm13, Timm22, Imp1, MT-CO2, MT-CO3	PNPT1
COAD, READ	mtHsp70, Hsp90, UQCRFS1	
LUAD, LUSC		VDAC1

**Tabla 11. Clasificación de las diferentes proteínas de MME, MMI, EIM y matriz mitocondrial implicadas en el transporte de proteínas y ARN a la mitocondria según su implicación pronóstica favorable o desfavorable en los diferentes tejidos analizados en *The Human Protein Atlas*.**

Abreviaturas: LIHC, liver hepatocellular carcinoma; SKCM, human skin cutaneous melanoma; OV, ovarian cancer; HNSC, head and neck squamous cell carcinoma; THCA, thyroid cancer; KICH, kidney renal clear cell carcinoma; KIRC, kidney chromophobe; KIRP, kidney renal papillary cell carcinoma; BCRA, breast cancer; CESC, cervical squamous cell carcinoma; BCLA, bladder cancer; UCEC, uterine corpus endometrial carcinoma; PAAD, pancreatic adenocarcinoma; COAD, colon adenocarcinoma; READ, rectum adenocarcinoma; LUAD, lung adenocarcinoma; LUSC, lung squamous cell carcinoma.

A continuación, se resaltaron los aspectos más llamativos de la tabla anterior (Tabla 11). El color rosa destaca las proteínas que intervienen en el pronóstico de unos de los tejidos tumorales, ya que todas ellas están relacionadas con la misma función.

El amarillo distingue aquellos tejidos que presentan un mayor número de proteínas implicadas en su pronóstico, mientras que el naranja se centra en los que tienen menor participación proteica.

Finalmente, el azul muestra aquellos tejidos tumorales que solo presentan o proteínas pronósticas favorables o desfavorables.

TEJIDOS	FAVORABLE	DESFAVORABLE	Nº TOTAL
LIHC	MT-CYB, MT-CO1, MT-CO2, MT-CO3	Tomm22, Tomm5, Tomm34, Timm23, Timm21, Timm9, Hsp60, VDAC1, VDAC2, Imp1, Mic60, Mic19, MRPL18, PNPT1	18
SKCM		Tomm5	1
OV	Tomm5, Timm23, Timm9, Pam18	UQCRFS1	5
HNSC		Tomm7, Tomm34, VDAC1, VDAC2, Imp2	5
THCA	Tomm34	Icp55	2
KIRC, KIRC, KIRP	Timm21, Timm8, Timm13, Timm22, Sdh3, Mpp, Mge1, Oct1, Hsp40, Oxa1, Mia40, Erv1, Samm50, Mic60, Mic19, TST, CYC1, UQCRFS1	Pam16, MRPL18	20
BRCA	Timm9, Mpp	Timm17A, Timm8, mtHsp70, Icp55, VDAC1	7
CEC		Timm17B	1
BLCA	Timm17B, Pam16, TST		3
UCEC	Timm13, Hsp60, Samm50	Timm8, Mic60, PNPT1	6
PAAD	Timm13, Timm22, Imp1, MT-CO2, MT-CO3	PNPT1	6
COAD, READ	mtHsp70, Hsp90, UQCRFS1		3
LUAD, LUSC		VDAC1	1

**Tabla 12. Clasificación de las diferentes proteínas de MME, MMI, EIM y matriz mitocondrial implicadas en el transporte de proteínas y ARN a la mitocondria según su implicación pronóstica favorable o desfavorable en los diferentes tejidos analizados en The Human Protein Atlas.**

Abreviaturas: LIHC, liver hepatocellular carcinoma; SKCM, human skin cutaneous melanoma; OV, ovarian cancer; HNSC, head and neck squamous cell carcinoma; THCA, thyroid cancer; KIRC, kidney renal clear cell carcinoma; KIRP, kidney renal papillary cell carcinoma; BRCA, breast cancer; CESC, cervical squamous cell carcinoma; BLCA, bladder cancer; UCEC, uterine corpus endometrial carcinoma; PAAD, pancreatic adenocarcinoma; COAD, colon adenocarcinoma; READ, rectum adenocarcinoma; LUAD, lung adenocarcinoma; LUSC, lung squamous cell carcinoma.

### 6.3. Proteínas con implicación pronóstica que participan en las diferentes vías de importación de proteínas a la mitocondria.

Con las figuras expuestas en la introducción se resaltaron de cada una de las rutas de importación a la mitocondria de los diferentes tipos de proteínas, aquellas proteínas presentes en células humanas que participan en el proceso y tienen implicación pronóstica en cáncer.

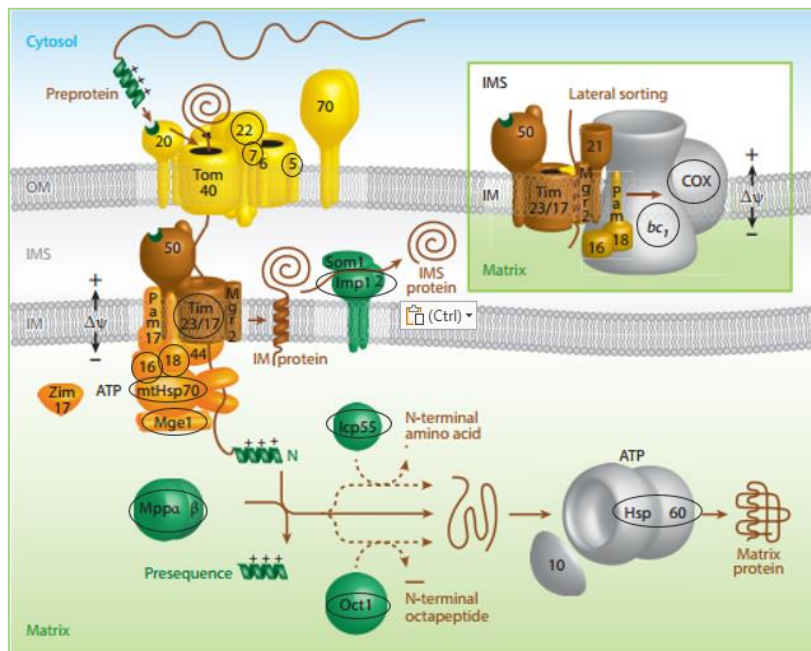


Figura 10. Proteínas que participan en la vía de importación mitocondrial de proteínas con presecuencia y con implicación pronóstica en cáncer.

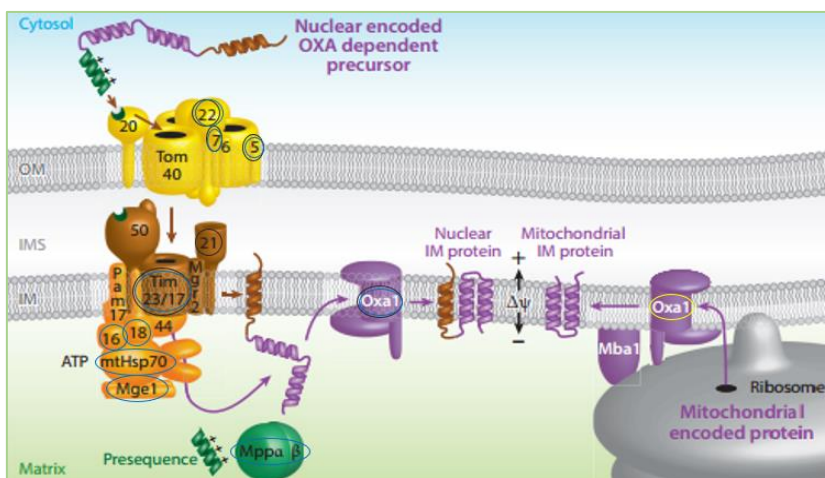
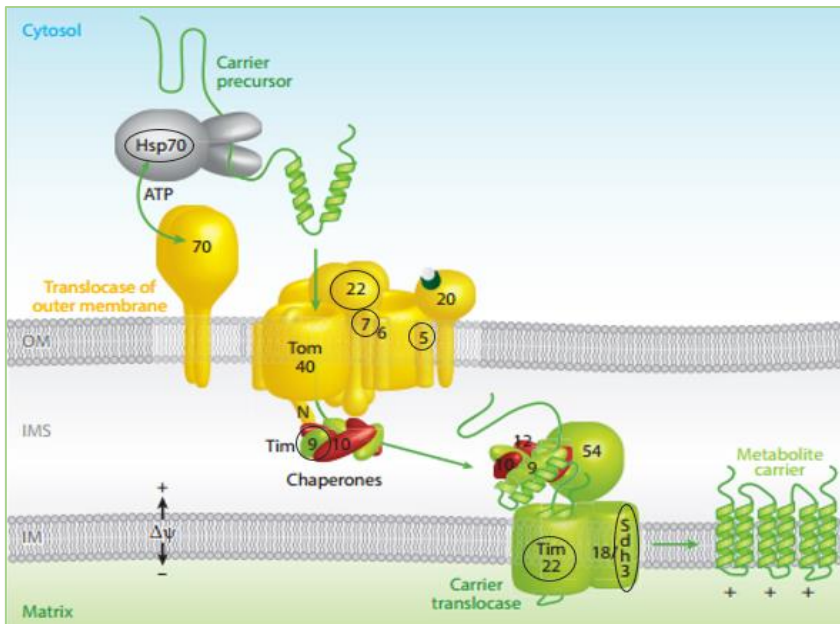
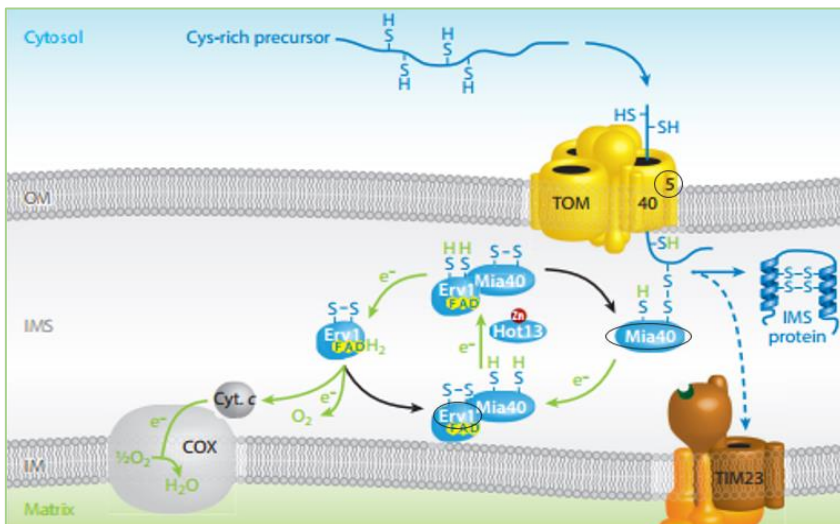


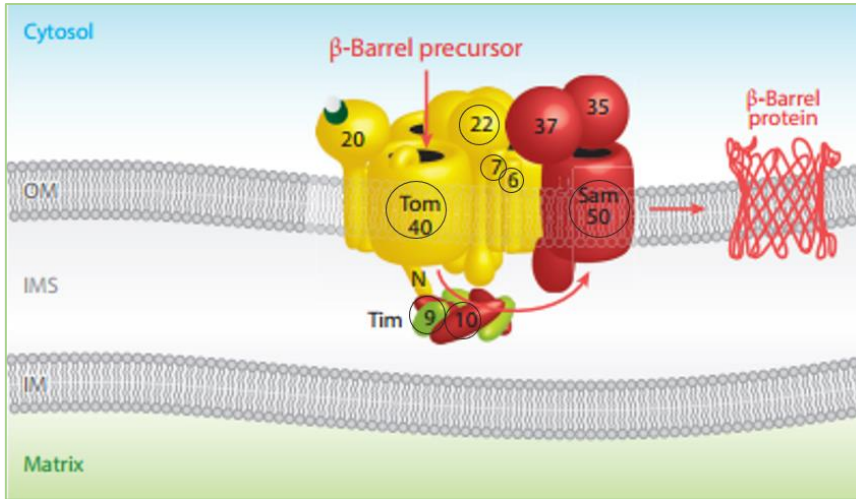
Figura 11. Proteínas que participan en la vía de importación mitocondrial de proteínas mediada por OXA y con implicación pronóstica en cáncer.



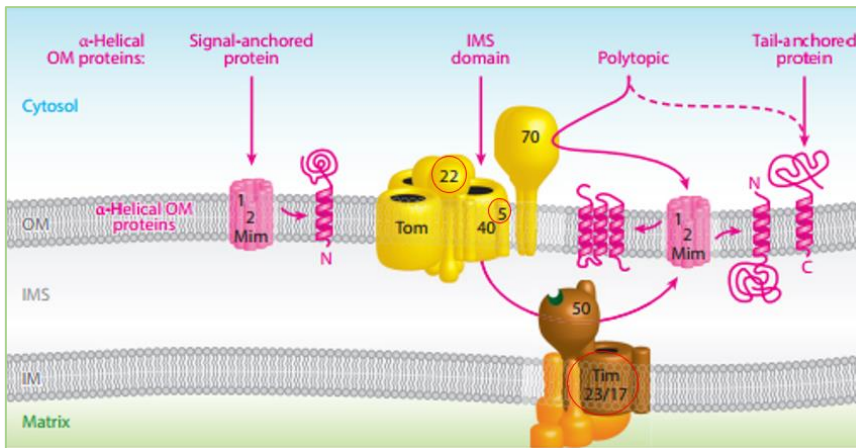
**Figura 12.** Proteínas presentes en células humanas que participan en la vía de importación mitocondrial de proteínas transportadoras y con implicación pronóstica en cáncer.



**Figura 13.** Proteínas que participan en la vía de importación mitocondrial de proteínas al EIM y con implicación pronóstica en cáncer.



**Figura 14.** Proteínas presentes en células humanas que participan en la vía de importación mitocondrial de proteínas  $\beta$ -barril y con implicación pronóstica en cáncer.



**Figura 15.** Proteínas presentes en células humanas que participan en la vía de importación mitocondrial de proteínas  $\alpha$ -helicoidales y con implicación pronóstica en cáncer.

## 7. DISCUSIÓN

Este trabajo trata de identificar y relacionar la posible implicación pronóstica, en determinados tipos de cáncer, de las proteínas que participan en los mecanismos de importación del ARN y de las proteínas al interior de la mitocondria, ya que hoy por hoy los estudios centrados en la investigación sobre este tema son escasos.

Parece ser que el aumento en la expresión de algunas proteínas que participan en estas vías de transporte mejora o empeora el pronóstico de diversos tumores, por lo que una mayor dedicación a tratar esta cuestión podría ser de utilidad en un futuro para comprender el desarrollo de determinados cánceres y así conseguir un diagnóstico y un abordaje precoz del mayor número posible.

Es por esto por lo que nuestro trabajo se ha centrado en investigar la relación entre estas proteínas y su posible implicación pronóstica en cáncer.

Para llevar a cabo el estudio, se recogieron las proteínas implicadas en los mecanismos de transporte mitocondrial del ARN y de las proteínas y, utilizando la base de datos MitoCarta3.0., se obtuvieron las características necesarias de cada una de las proteínas a analizar. A continuación, y mediante el empleo de las otras bases de datos, The Human Protein Atlas y Uniprot, se seleccionaron aquellas proteínas presentes en las células humanas y se anotó su implicación pronóstica en los tejidos tumorales examinados.

Nuestros resultados muestran en primer lugar y de forma muy llamativa que hay muchas proteínas que participan en el desarrollo tumoral, ya sea, de forma favorable o desfavorable. Esto confirma que, efectivamente, la maquinaria proteica encargada del transporte de proteínas y ácidos nucleicos a la mitocondria podría estar implicada en el proceso que lleva a un desarrollo más o menos rápido y agresivo del cáncer, atendiendo a los niveles de expresión de estas.

Nos centramos en la tabla 11 que reúne las proteínas que participan en la importación mitocondrial con actividad pronóstica en los tejidos tumorales.

Se puede observar que, dependiendo del tipo de cáncer, existe un mayor o menor número de proteínas implicadas en el pronóstico.

Por un lado, en el caso del cáncer de hígado (LIHC) destaca la gran cantidad de proteínas involucradas. De las 52 proteínas analizadas, 18 de ellas intervienen en el

pronóstico de este tipo de tumor. Lo mismo ocurre con el cáncer de riñón (KICH, KIRC, KIRP), hasta 20 proteínas del total tienen participación pronóstica.

Asimismo, también hay que resaltar que concretamente en el cáncer de hígado gran parte de las proteínas están implicadas en el pronóstico desfavorable, a diferencia del cáncer de riñón, en el que el aumento de la expresión de la mayor parte de sus proteínas se relaciona con un mejor pronóstico.

Otro dato que resulta relevante del cáncer hepatocelular es que las 4 proteínas que al aumentar sus niveles favorecen el pronóstico se corresponden con las subunidades que conforman los complejos III y IV de la cadena de transporte de electrones.

Por otro lado, del mismo modo que hemos hablado de los cánceres más distinguidos por relacionarse con gran cantidad de proteínas, no podemos olvidar aquellos tumores que destacan por contar con la presencia de un número reducido de estas, como son el cáncer de piel, el cáncer de tiroides, el cáncer de cérvix y el cáncer de pulmón.

Por último, hay que mencionar que, aunque predominan los tumores que poseen tanto proteínas con pronóstico favorable como desfavorable, existen tumores en los que únicamente participan proteínas que o mejoran el pronóstico del cáncer o lo empeoran, estos son: el cáncer de piel, el cáncer de cérvix, el cáncer de pulmón, el cáncer de cabeza y cuello y el cáncer de colon y recto.

También se clasificó a todas las proteínas en los diversos compartimentos mitocondriales según su localización.

Se observó, sin tener en cuenta los tipos de tejidos tumorales, pero sí el número de tejidos en los que participa cada proteína, que, de las 13 proteínas de la MME, 5 de ellas no tienen valor pronóstico. Este dato parece relevante en comparación con la MMI, en la que, incluyendo las subunidades proteicas de los complejos III y IV de la cadena de transporte electrónico, tan solo 3 de las 22 proteínas carecen de repercusión pronóstica. Además, el valor pronóstico que predomina en las proteínas de la MME es desfavorable, mientras que en la MMI es favorable.

En el resto de los compartimentos, hay aproximadamente la misma distribución de proteínas que mejoran y empeoran el desarrollo del cáncer.

Conviene resaltar las proteínas Timm13 y PNPT1, ya que participan en 3 tipos diferentes de tumores, y la proteína VDAC1, que está presente en hasta 4 tejidos distintos.

Asimismo, se analizaron las proteínas implicadas en cada una de las rutas de importación de las proteínas a la mitocondria y su implicación pronóstica, sin encontrar apreciaciones relevantes.

En este estudio se demuestra la fuerte relación existente entre las proteínas del transporte de ARN y proteínas al interior de la mitocondria y el desarrollo del cáncer.

Por su parte, parece que hay diferentes tipos de cáncer que presentan un mayor número de proteínas implicadas en el pronóstico, como es el caso del cáncer de hígado y el cáncer de riñón, en los que, aumentos en los niveles de expresión de estas proteínas producen cambios en el desarrollo del cáncer.

La maquinaria mitocondrial del cáncer de hígado (LIHC) tiene un papel importante en el desarrollo del cáncer ya que hasta un 36% de las proteínas implicadas en los mecanismos de transporte están relacionados con el pronóstico favorable o desfavorable, al igual que sucede en el cáncer de riñón, con casi un 40% de las proteínas.

Además, el aumento de la expresión de estas proteínas en el LIHC está más relacionada con el pronóstico desfavorable, a diferencia del incremento de los niveles en KIRCH, KIRC y KIRP, que mejora el pronóstico.

Resaltar también la implicación de los cambios en los niveles de expresión de las subunidades de los complejos III y IV de la cadena de transporte de electrones en el pronóstico favorable del cáncer de hígado.

Es importante recordar que el metabolismo de las células cancerosas es principalmente anaerobio y tiene lugar en el citosol, por lo que la actividad mitocondrial baja considerablemente (26). La expresión aumentada de las proteínas de los complejos de la cadena de transporte de electrones hace que la respiración celular esté más activada y por lo tanto la respiración aeróbica predomine más, produciendo un enlentecimiento del desarrollo del cáncer. Esto podría explicar porqué el pronóstico en este caso es favorable.

También, la comparación pronóstica entre compartimentos pone de manifiesto que la elevación de los niveles de expresión de la mayoría de las proteínas de la MME se asocia con un peor pronóstico, mientras que, la mayoría de las de la MMI implican un mejor pronóstico.

Con esto, se puede deducir que además de relacionar las proteínas implicadas en los mecanismos de importación con el pronóstico del cáncer, también se pueden relacionar los distintos compartimentos mitocondriales con el pronóstico.

Para finalizar, mencionar aquellas proteínas que participan en el pronóstico en un mayor número de tejidos: VDAC1, Timm23 y PNPT1.

Aunque todas las proteínas tienen implicación pronóstica, podría ser una buena opción que estudios futuros se centraran, en primer lugar, en analizar estas tres proteínas más relevantes.

En cuanto a las limitaciones del enfoque cabe destacar que nuestro trabajo de investigación se ha centrado en la parte de la información científica proporcionada por la base de datos The Human Protein Atlas, por ser la que nos facilita de forma más directa la relación de los niveles de expresión de las proteínas y el pronóstico. No se ha tenido en cuenta la información que se podría haber recopilado empleando todas las bases de datos existentes, por lo que nuestro trabajo no es del todo exhaustivo.

Otra limitación de nuestro estudio ha sido que no todas las proteínas encontradas implicadas en el transporte mitocondrial se han podido incluir en el análisis pronóstico ya que algunas de ellas no se han visto presentes en células humanas, sino que han sido caracterizadas únicamente en células de otras especies.

Por último, hay que mencionar que, en la investigación de cada una de las proteínas seleccionadas por su implicación pronóstica en el cáncer, no se tienen en cuenta las posibles interacciones de cada proteína con determinados factores que puedan en algún momento condicionar esa capacidad pronóstica.

Este estudio podría ser de utilidad en un futuro como base para la elección de posibles biomarcadores pronósticos en el desarrollo del proceso tumoral.

Es por ello, que aparece la necesidad de nuevos experimentos en los que se pueda manipular la expresión de los genes in vivo o in vitro y así, tratar de caracterizar cómo se comporta el tumor.

## 8. CONCLUSIONES

1. La maquinaria proteica encargada del transporte de proteínas y ácidos nucleicos a la mitocondria parece estar implicada en el desarrollo del cáncer, condicionando un pronóstico favorable o desfavorable.
2. La localización proteica subcompartimental podría tener importancia en la relación entre proteínas y cáncer.
3. Las proteínas Timm13, PNPT1 y VDAC1 destacan por participar en el pronóstico de un mayor número de tejidos tumorales. Estudios futuros podrían profundizar en el estudio de estas proteínas como posibles biomarcadores pronósticos en el desarrollo del proceso tumoral.
4. El cáncer de hígado y de riñón destacan por ser los tejidos tumorales con mayor número de proteínas implicadas en su pronóstico. El aumento de la expresión de las proteínas del cáncer de hígado está más relacionado con el pronóstico desfavorable, mientras que, en el cáncer de riñón, mejora el pronóstico.
5. Las proteínas que, al aumentar sus niveles, intervienen en el pronóstico favorable del cáncer de hígado, forman parte de los complejos III y IV de la cadena respiratoria, permitiendo un aumento de la respiración celular y un enlentecimiento del proceso canceroso.

## 9. BIBLIOGRAFÍA

- (1) Attardi G, Schatz G. Biogenesis of mitochondria. *Annu Rev Cell Biol.* 1988;4:289-333.
- (2) Galluzzi L, Kepp O, Kroemer G. Mitochondria: master regulators of danger signalling. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2012;13:780-8.
- (3) Wallace DC. Mitochondria and cancer. *Nat Rev Cancer.* 2012;12:685-98.
- (4) Tornero D, Ceña V, Jordán J. La mitocondria como diana farmacológica en los procesos neurodegenerativos. *Offfarm.* 2002; 21:98–102.
- (5) Frey TG, Mannella CA. The internal structure of mitochondria. *Trends in Biochemical Sci.* 2000;25:319-24.
- (6) Palade G. The fine structure of mitochondria. *Anat Rec.* 1952;114:427-51.
- (7) Sjöstrand FS. The ultrastructure of cells as revealed by the electron microscope. *International Review of Cytology* 1956;5:455-533.
- (8) Jiménez N, Director Solà Vilarrubia M, Coll Barcelona M. Estructura tridimensional del factor de terminación mitocondrial humano, mTERF en complejo con DNA. *Universitat Autònoma de Barcelona.* 2011.
- (9) D'Ortencio A, Navigante A. Disfunción mitocondrial y enfermedades cardiovasculares. *Insuficiencia Cardíaca.* 2016;11:201-214.
- (10) Biología-geología.com, 2 Bachillerato. Libro digital. Zaragoza.
- (11) Donald Voet, Judith G. Voet. *Bioquímica.* 3ª ed. Panamericana, 2006.
- (12) Kiefel BR, Gilson PR, Beech PL. Cell biology of mitochondrial dynamics. *Int Rev Cytol.* 2006;254:151-213.
- (13) MacAskill AF, Kittler JT. Control of mitochondrial transport and localization in neurons. *Trends Cell Biology.* 2010;20:102-12.
- (14) Martínez B, Director Ruiz E, Montoya J, Llobet L. Generación de modelos celulares para el estudio del efecto fenotípico de la variación genética en el mtDNA. *Universidad de Zaragoza.* 2015.
- (15) Yusoff A. A. M, Ahmad F, Idris Z, Jaafar H, Abdullah J. M. *Understanding Mitochondrial DNA in Brain Tumorigenesis.* IntechOpen. 2015.
- (16) Méndez O, Muhlia A. Mitocondrias, el ying-yang de la vida. *Recursos Naturales y Sociedad.* 2018;4:12-21.
- (17) Margulis, L. *Symbiosis in cell evolution.* W.H.Freeman. 1981 (1993).

- (18) Wiedemann N, Pfanner N. Mitochondrial Machineries for Protein Import and Assembly. *Annu Rev Biochem.* 2017;86:685-714
- (19) Verechshagina NA, Konstantinov YM, Kamenski PA, Mazunin IO. Import of Proteins and Nucleic Acids into Mitochondria. *Biochemistry.* 2018;86:643-661.
- (20) Szabadkai, G. and Duchen, M.R. Mitochondria: the hub of cellular Ca<sup>2+</sup> signaling. *Physiology.* 2008;23,84-94.
- (21) Megías M, Molist P, Pombal MA. Atlas de histología vegetal y animal. La célula. 2019.
- (22) Cascales Angosto M, Doadrio Villarejo A. L, Lipogénesis y termogénesis: participación de la mitocondria en la obesidad. Monografías de la Real Academia Nacional de Farmacia. 2014.
- (23) Friedman JR, Nunnari J. Mitochondrial form and fuctions. *Nature.* 2014;505:335-343.
- (24) Cascales Angosto M. Bases moleculares de la apoptosis. Real Academia Nacional de Farmacia. 2003.
- (25) Galluzzi L, Kepp O, Heiden MG, Kromer G. Metabolic targets for cancer therapy. *Nat Rev Drug Discov.* 2013;12:829-46.
- (26) Koppenol WH, Bounds PL, Dang CV. Otto Warburg's contributions to current concepts of cancer metabolism. *Nat Rev Cancer.* 2011;11:325-37.
- (27) Gatenby RA, Gillies RJ. Why do cancers have high aerobic glycolysis? *Nat Rev Cancer.* 2004;4:891-9.
- (28) Wallace DC. Mitochondrial diseases in man and mouse. *Science.* 1999;283:1482-93.
- (29) Sánchez V. Mecanismos reguladores de la muerte celular no necrótica. *Rev Cubana Invest Bioméd.* 2001;20:266-74.
- (30) Desagher S, Martinou JC. Mitochondria as the central control point of apoptosis. *Trends Cell Biol.* 2000;10:369-77.
- (31) Kumar V, Abbas A, Fausto N, Robbins S, Cotran R. Patología estructural y funcional. Elsevier. 2015.
- (32) Fisher D. Pathways of apoptosis and the modulation of cell death in cancer. *Hematol Oncol Clin North.* 2001;15:931-956.
- (33) Ramírez-García MA, Márquez-González H, Barranco-Lampón G, López-Aguilar JE. Bcl-2: su papel en el ciclo celular, apoptosis y cáncer. *El Residente.* 2014;9:84-94.

- (34) Shamas-Din A, Brahmabhatt H, Leber B, Andrews DW. BH3-only proteins: Orchestrators of apoptosis. *Biochim Biophys Acta*. 2011;1813:508-20.
- (35) Allan LA, Clarke PR. Apoptosis and autophagy: regulation of caspase-9 by phosphorylation. *FEBS J*. 2009;276:6063-6073.
- (36) Chipuk JE, Moldoveneau T, Llambi F, Parsons M, Green D. The Bcl-2 family reunion. *Molecular Cell*. 2010;37:229-310.
- (37) Kelly PN, Strasser A. The role of Bcl-2 and its pro-survival relatives in tumorigenesis and cancer therapy. *Cell Death and Differentiation*. 2011;18: 1414-1424.
- (38) Tait SW, Green DR. Mitochondria and cell death: outer membrane permeabilization and beyond. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2010;11:621-632.
- (39) Cheng EH, Wei MC, Weiler S, Flavell RA, Mak TW, Lindsten T et al. Bcl-2, Bcl-X(L) sequester BH3 domain-only molecules preventing Bax-and Bak-mediated mitochondrial apoptosis. *Mol Cell*. 2001;8:705-711.
- (40) Thompson CB. Metabolic enzymes as oncogenes or tumor suppressors. *N Engl J Med*. 2009;360:813-5.
- (41) Matheu A, Maraver A, Klatt P, Flores I, Garcia-Cao I, Borrás C, Flores JM, Viña J, Blasco MA, Serrano M. Delayed ageing through damage protection by the Arf/p53 pathway. *Nature*. 2007;448:375-9.
- (42) Leu JI, Dumont P, Hafey M, Murphy ME, George DL. Mitochondrial p53 activates Bak and causes disruption of a Bak-Mcl1 complex. *Nat Cell Biol*. 2004;6: 443-450.
- (43) Lodish H, Berk A, Matsudaira P, Kaiser CA, Krieger M, Matthew P. et al. *Biología Celular y Molecular*. 5° ed. Buenos Aires. Panamericana; 2006.
- (44) Martínez JD, Herrera LA. Angiogénesis: VEGF/VEGFRs como blancos terapéuticos en el tratamiento contra el cáncer. *Cancerología*. 2006; 83- 96.
- (45) Zeng W, Liu P, Pan W, Ram Singh S, Wei Y. Hypoxia and hypoxia inducible factors in tumor metabolism. *Cancer Lett*. 2014;356:263- 7.
- (46) Lee CM, Sedman J, Neupert W, Stuart RA. The DNA helicase, Hmi1p, is transported into mitochondria by a C-terminal cleavable targeting signal. *J Biol Chem*. 1999;274:20937-42.

- (47) Roise D, Horvath SJ, Tomich JM, Richards JH, Schatz G. A chemically synthesized pre-sequence of an imported mitochondrial protein can form an amphiphilic helix and perturb natural and artificial phospholipid bilayers. *EMBO J.* 1986;5:1327-34.
- (48) Schmidt, O., Pfanner, N. & Meisinger, C. Mitochondrial protein import: from proteomics to functional mechanisms. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2010;11:655-667.
- (49) Wiedemann N, Pfanner N. Mitochondrial Machineries for Protein Import and Assembly. *Annu Rev Biochem.* 2017;86:685-714.
- (50) Kiebler M, Pfaller R, Söllner T, Griffiths G, Horstmann H, Pfanner N, Neupert W. Identification of a mitochondrial receptor complex required for recognition and membrane insertion of precursor proteins. *Nature.* 1990;348:610-6.
- (51) Young JC, Hoogenraad NJ, Hartl FU. Molecular chaperones Hsp90 and Hsp70 deliver preproteins to the mitochondrial import receptor Tom70. *Cell.* 2003;112:41-50.
- (52) Melin J, Schulz C, Wrobel L, Bernhard O, Chacinska A, Jahn O, Schmidt B, Rehling P. Presequence recognition by the tom40 channel contributes to precursor translocation into the mitochondrial matrix. *Mol Cell Biol.* 2014;34:3473-85.
- (53) Abe Y, Shodai T, Muto T, Mihara K, Torii H, Nishikawa S, Endo T, Kohda D. Structural basis of presequence recognition by the mitochondrial protein import receptor Tom20. *Cell.* 2000;100:551-60.
- (54) Schulz C, Schendzielorz A, Rehling P. Unlocking the presequence import pathway. *Trends Cell Biol.* 2015;25:265-75.
- (55) Meinecke M, Wagner R, Kovermann P, Guiard B, Mick DU, Hutu DP, Voos W, Truscott KN, Chacinska A, Pfanner N, Rehling P. Tim50 maintains the permeability barrier of the mitochondrial inner membrane. *Science.* 2006;312:1523-6.
- (56) Martinez-Caballero S, Grigoriev SM, Herrmann JM, Campo ML, Kinnally KW. Tim17p regulates the twin pore structure and voltage gating of the mitochondrial protein import complex TIM23. *J Biol Chem.* 2007;282:3584-93.
- (57) Ieva R, Schrempp SG, Opaliński L, Wollweber F, Höß P, Heißwolf AK, Gebert M, Zhang Y, Guiard B, Rospert S, Becker T, Chacinska A, Pfanner N, van der Laan M. Mgr2 functions as lateral gatekeeper for preprotein sorting in the mitochondrial inner membrane. *Mol Cell.* 2014;56:641-52.

- (58) Botelho SC, Osterberg M, Reichert AS, Yamano K, Björkholm P, Endo T, von Heijne G, Kim H. TIM23-mediated insertion of transmembrane  $\alpha$ -helices into the mitochondrial inner membrane. *EMBO J.* 2011;30:1003-11.
- (59) Ting SY, Schilke BA, Hayashi M, Craig EA. Architecture of the TIM23 inner mitochondrial translocon and interactions with the matrix import motor. *J Biol Chem.* 2014;289:28689-96.
- (60) Wiedemann N, van der Laan M, Hutu DP, Rehling P, Pfanner N. Sorting switch of mitochondrial presequence translocase involves coupling of motor module to respiratory chain. *J Cell Biol.* 2007;179:1115-22.
- (61) De Los Rios P, Ben-Zvi A, Slutsky O, Azem A, Goloubinoff P. Hsp70 chaperones accelerate protein translocation and the unfolding of stable protein aggregates by entropic pulling. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2006;103:6166-71.
- (62) Hawlitschek G, Schneider H, Schmidt B, Tropschug M, Hartl FU, Neupert W. Mitochondrial protein import: identification of processing peptidase and of PEP, a processing enhancing protein. *Cell.* 1988;53:795-806.
- (63) Mossmann D, Meisinger C, Vögtle FN. Processing of mitochondrial presequences. *Biochim Biophys Acta.* 2012 Sep-Oct;1819(9-10):1098-106.
- (64) Stiller SB, Höpker J, Oeljeklaus S, Schütze C, Schrempp SG, Vent-Schmidt J, Horvath SE, Frazier AE, Gebert N, van der Laan M, Bohnert M, Warscheid B, Pfanner N, Wiedemann N. Mitochondrial OXA Translocase Plays a Major Role in Biogenesis of Inner-Membrane Proteins. *Cell Metab.* 2016;23:901-8.
- (65) Hildenbeutel M, Theis M, Geier M, Haferkamp I, Neuhaus HE, Herrmann JM, Ott M. The membrane insertase Oxa1 is required for efficient import of carrier proteins into mitochondria. *J Mol Biol.* 2012;423:590-9.
- (66) Bhangoo MK, Tzankov S, Fan AC, Dejgaard K, Thomas DY, Young JC. Multiple 40-kDa heat-shock protein chaperones function in Tom70-dependent mitochondrial import. *Mol Biol Cell.* 2007;18:3414-28.
- (67) Gebert N, Chacinska A, Wagner K, Guiard B, Koehler CM, Rehling P, Pfanner N, Wiedemann N. Assembly of the three small Tim proteins precedes docking to the mitochondrial carrier translocase. *EMBO Rep.* 2008;9:548-54.
- (68) Gornicka A, Bragoszewski P, Chroscicki P, Wenz LS, Schulz C, Rehling P, Chacinska A. A discrete pathway for the transfer of intermembrane space proteins across the outer membrane of mitochondria. *Mol Biol Cell.* 2014;25:3999-4009.

- (69) Klein A, Israel L, Lackey SW, Nargang FE, Imhof A, Baumeister W, Neupert W, Thomas DR. Characterization of the insertase for  $\beta$ -barrel proteins of the outer mitochondrial membrane. *J Cell Biol.* 2012;199:599-611.
- (70) Meisinger C, Rissler M, Chacinska A, Szklarz LK, Milenkovic D, Kozjak V, Schönfisch B, Lohaus C, Meyer HE, Yaffe MP, Guiard B, Wiedemann N, Pfanner N. The mitochondrial morphology protein Mdm10 functions in assembly of the preprotein translocase of the outer membrane. *Dev Cell.* 2004;7:61-71.
- (71) Flinner N, Ellenrieder L, Stiller SB, Becker T, Schleiff E, Mirus O. Mdm10 is an ancient eukaryotic porin co-occurring with the ERMES complex. *Biochim Biophys Acta.* 2013;1833:3314-3325.
- (72) Dukanovic J, Rapaport D. Multiple pathways in the integration of proteins into the mitochondrial outer membrane. *Biochim Biophys Acta.* 2011;1808:971-80.
- (73) Von der Malsburg K, Müller JM, Bohnert M, Oeljeklaus S, Kwiatkowska P, Becker T, Loniewska-Lwowska A, Wiese S, Rao S, Milenkovic D, Hutu DP, Zerbes RM, Schulze-Specking A, Meyer HE, Martinou JC, Rospert S, Rehling P, Meisinger C, Veenhuis M, Warscheid B, van der Klei IJ, Pfanner N, Chacinska A, van der Laan M. Dual role of mitofilin in mitochondrial membrane organization and protein biogenesis. *Dev Cell.* 2011;21:694-707.
- (74) Kim KM, Noh JH, Abdelmohsen K, Gorospe M. Mitochondrial noncoding RNA transport. *BMB Rep.* 2017 Apr;50(4):164-174.
- (75) Kamenski P, Kolesnikova O, Jubenot V, Entelis N, Krasheninnikov IA, Martin RP, Tarassov I. Evidence for an adaptation mechanism of mitochondrial translation via tRNA import from the cytosol. *Mol Cell.* 2007;26:625-37.
- (76) Entelis NS, Kolesnikova OA, Dogan S, Martin RP, Tarassov IA. 5 S rRNA and tRNA import into human mitochondria. Comparison of in vitro requirements. *J Biol Chem.* 2001;276:45642-53.
- (77) Smirnov A, Entelis N, Martin RP, Tarassov I. Biological significance of 5S rRNA import into human mitochondria: role of ribosomal protein MRP-L18. *Genes Dev.* 2011;25:1289-305.
- (78) Lechner M, Rossmannith W, Hartmann RK, Thölken C, Gutmann B, Giegé P, Gobert A. Distribution of Ribonucleoprotein and Protein-Only RNase P in Eukarya. *Mol Biol Evol.* 2015;32:3186-93.

- (79) Puranam RS, Attardi G. The RNase P associated with HeLa cell mitochondria contains an essential RNA component identical in sequence to that of the nuclear RNase P. *Mol Cell Biol.* 2001;21:548-61.
- (80) Leucci E, Vendramin R, Spinazzi M, Laurette P, Fiers M, Wouters J, Radaelli E, Eyckerman S, Leonelli C, Vanderheyden K, Rogiers A, Hermans E, Baatsen P, Aerts S, Amant F, Van Aelst S, van den Oord J, de Strooper B, Davidson I, Lafontaine DL, Gevaert K, Vandesompele J, Mestdagh P, Marine JC. Melanoma addiction to the long non-coding RNA SAMMSON. *Nature.* 2016;531:518-22.
- (81) Cheng Y, Liu P, Zheng Q, Gao G, Yuan J, Wang P, Huang J, Xie L, Lu X, Tong T, Chen J, Lu Z, Guan J, Wang G. Mitochondrial Trafficking and Processing of Telomerase RNA TERC. *Cell Rep.* 2018;24:2589-2595.
- (82) Barrey E, Saint-Auret G, Bonnamy B, Damas D, Boyer O, Gidrol X. Pre-microRNA and mature microRNA in human mitochondria. *PLoS One.* 2011;6:e20220.
- (83) Kolesnikova OA, Entelis NS, Mireau H, Fox TD, Martin RP, Tarassov IA. Suppression of mutations in mitochondrial DNA by tRNAs imported from the cytoplasm. *Science.* 2000;289:1931-3.
- (84) Kolesnikova O, Kazakova H, Comte C, Steinberg S, Kamenski P, Martin RP, Tarassov I, Entelis N. Selection of RNA aptamers imported into yeast and human mitochondria. *RNA.* 2010;16:926-41.
- (85) Smirnov A, Comte C, Mager-Heckel AM, Addis V, Krasheninnikov IA, Martin RP, Entelis N, Tarassov I. Mitochondrial enzyme rhodanese is essential for 5 S ribosomal RNA import into human mitochondria. *J Biol Chem.* 2010;285:30792-803.
- (86) Wang G, Chen HW, Oktay Y, Zhang J, Allen EL, Smith GM, Fan KC, Hong JS, French SW, McCaffery JM, Lightowlers RN, Morse HC 3rd, Koehler CM, Teitell MA. PNPASE regulates RNA import into mitochondria. *Cell.* 2010;142:456-67.

# Estudio de la maquinaria de transporte de proteínas y ARN a las mitocondrias y su posible relación con el pronóstico del cáncer

Autor: Carmen María Ros Orts

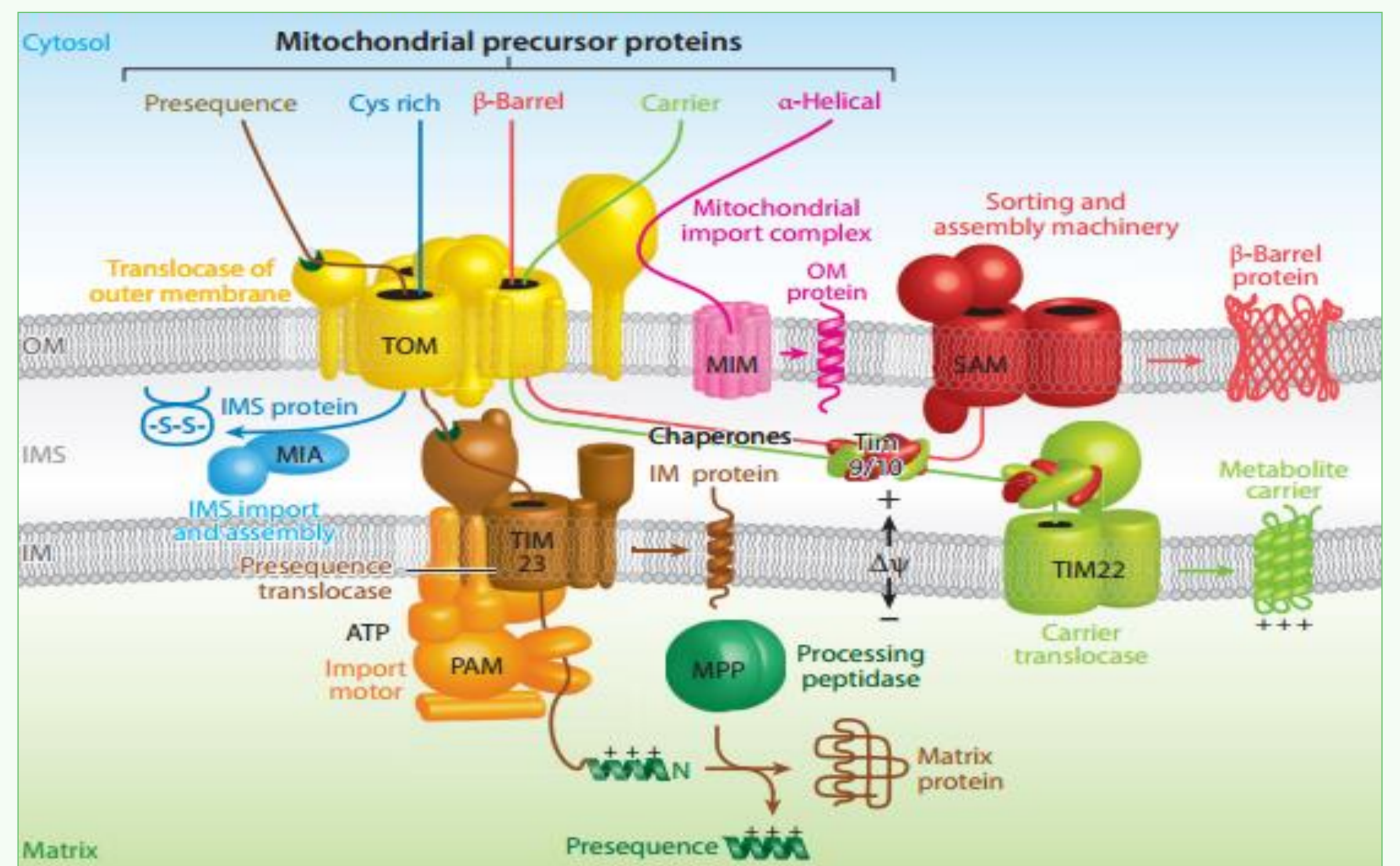
Tutor: Dr. José Miguel Hernández Andreu

1. Facultad de Medicina y Ciencias de la Salud. Universidad Católica de Valencia.
2. Grupo de Medicina Molecular y Mitocondrial-Iviña. Universidad Católica de Valencia.

## INTRODUCCIÓN E HIPÓTESIS

La maquinaria proteica del transporte de ácidos nucleicos y proteínas a la mitocondria podría estar implicada en el pronóstico del cáncer.

Los cambios en los niveles de expresión de estas proteínas parecen estar relacionados con el desarrollo del proceso tumoral. Este trabajo podría ayudar a profundizar en la importancia de la asociación entre estas proteínas y el cáncer.



## OBJETIVOS

1. Identificar aquellas proteínas humanas implicadas en el proceso de transporte de proteínas y ARN a las mitocondrias que puedan estar relacionadas con el pronóstico de diferentes tumores.
2. Tratar de establecer hipótesis sobre los posibles mecanismos por los cuales la variación en la expresión de determinados genes de proteínas de la maquinaria de transporte mitocondrial se relaciona con un mejor o peor pronóstico del cáncer.

## RESULTADOS

TEJIDOS	FAVORABLE	DE SFAVORABLE	Nº TOTAL
LIHC	MT-CYB, MT-CO1, MT-CO2, MT-CO3	Tomm22, Tomm5, Tomm34, Timm23, Timm21, Timm9, Hsp60, VDAC1, VDAC2, Imp1, Mic60, Mic19, MRPL18, PNPT1	18
SKCM		Tomm5	1
OV	Tomm5, Timm23, Timm9, Pam18	UQCFS1	5
HNSC		Tomm7, Tomm34, VDAC1, VDAC2, Imp2	5
THCA	Tomm34	Icp55	2
KIRC, KIRC, KIRP	Timm21, Timm8, Timm13, Timm22, Sdh3, Mpp, Mge1, Oct1, Hsp40, Oxa1, Mia40, Erv1, Samm50, Mic60, Mic19, TST, CYC1, UQCFS1	Pam16, MRPL18	20
BRCA	Timm9, Mpp	Timm17A, Timm8, mtHsp70, Icp55, VDAC1	7
CEC		Timm17B	1
BLCA	Timm17B, Pam16, TST		3
UCEC	Timm13, Hsp60, Samm50	Timm8, Mic60, PNPT1	6
PAAD	Timm13, Timm22, Imp1, MT-CO2, MT-CO3	PNPT1	6
COAD, READ	mtHsp70, Hsp90, UQCFS1		3
LUAD, LUSC		VDAC1	1

## CONCLUSIONES

1. La localización subcompartimental de la maquinaria de importación de proteínas y ARN a las mitocondrias podría tener importancia en la relación entre las proteínas y cáncer.
2. Las proteínas que, al aumentar sus niveles, intervienen en el pronóstico favorable del cáncer de hígado, forman parte de los complejos III y IV de la cadena respiratoria, permitiendo un aumento de la respiración celular y un enlentecimiento del proceso canceroso.
3. Las proteínas Timm13, PNPT1 y VDAC1 destacan por participar en el pronóstico de un mayor número de tejidos tumorales.

## BIBLIOGRAFÍA

Wiedemann N, Pfanner N. Mitochondrial Machineries for Protein Import and Assembly. Annu Rev Biochem. 2017 Jun 20;86:685-714.