

Departamento de Bioquímica y Biología Molecular  
Facultad de Biología  
Universidad de Barcelona

**PAPEL DE LAS CAVEOLAS/CAVEOLINA-1  
EN LA FISIOLÓGÍA DEL ADIPOCITO**

Elena González Muñoz  
Tesis Doctoral  
Barcelona, 2007

## **OBJETIVOS**



El tejido adiposo blanco tiene un papel clave en el metabolismo, ya que además de ser el principal reservorio de triacilglicéridos, actúa como órgano endocrino secretando a la circulación diferentes moléculas, las llamadas adipoquinas, implicadas en mecanismos de señalización y en la sensibilidad periférica a la insulina. En este sentido el tejido adiposo es muy importante en el mantenimiento de la homeostasis energética regulando la secreción de insulina, la acción de la insulina y el metabolismo glucídico y lipídico (Mora *et al.*, 2002)

Los adipocitos son el tipo celular con mayor concentración de caveolas en la superficie de su membrana plasmática. Observaciones realizadas por microscopía electrónica demuestran que las caveolas representan un 30% de la superficie de la membrana de los adipocitos (Fan *et al.*, 1983). Como se ha explicado en la introducción, las caveolas son dominios especializados de la membrana plasmática, son un subtipo de *raft* lipídico, enriquecidos en esfingolípidos y colesterol y caracterizados por la presencia de caveolina, que es la principal proteína de la cubierta caveolar (Rothberg *et al.*, 1992; Anderson, 1998; Kurzchalia *et al.*, 1999).

La función de las caveolas y de la caveolina *in vivo* ha sido motivo de controversia, de hecho se han implicado en procesos de endocitosis y transcitosis, transporte de colesterol y ácidos grasos, regulación de procesos de transducción de señales y tumorigénesis (Liu *et al.*, 2002). Sin embargo, la generación de los ratones KO de caveolina-1 (Drab *et al.*, 2001; Razani *et al.*, 2001a) mostraba que estos ratones eran perfectamente viables y fértiles, aunque estudios posteriores relacionaban a caveolina-1 con la homeostasis lipídica (Razani *et al.*, 2002a).

A partir de estos antecedentes, el objetivo general de esta tesis ha sido:

- Definir la función de las caveolas/ caveolina-1 en la fisiología del adipocito

En el momento de iniciar la tesis, en nuestro laboratorio se estaban usando algunos tratamientos que unen y/o extraen el colesterol de las membranas y que está descrito que alteran la estructura de los *rafts* lipídicos/caveolas (Rothberg *et al.*, 1992; Schnitzer *et al.*, 1994; Orlandi *et al.*, 1998)

Nos planteamos así, nuestro primer objetivo:

1- Comprobar que los tratamientos que unen o extraen colesterol de las membranas (nistatina, filipina,  $\beta$ -ciclodextrina y metil- $\beta$ -ciclodextrina) alteran la estructura de los *rafts* lipídicos/caveolas de adipocitos 3T3L1, y analizar el efecto que tienen estos tratamientos sobre la acción de la insulina estimulando el transporte de glucosa y sobre la activación de la vía de señalización de la insulina Cbl/TC10 asociada a caveolas. Además, estudiamos otras acciones de la insulina que pudieran depender de la vía de señalización Cbl/TC10, analizando el efecto de los tratamientos sobre la acción de la insulina activando la lipogénesis o inhibiendo la lipólisis en adipocitos 3T3L1.

Los tratamientos usados en el objetivo 1 unen o extraen el colesterol de las membranas y pueden provocar cambios severos en los *rafts* lipídicos (no específicamente en caveolas) y en la membrana plasmática en general.

Nos planteamos, por tanto, alterar específicamente las caveolas de los adipocitos 3T3L1 disminuyendo la expresión de caveolina-1 en sus membranas. Así, nuestros siguientes objetivos fueron:

2- Obtención de líneas 3T3L1 deficientes en caveolina-1 mediante silenciamiento génico posttranscripcional.

Una vez conseguidos estos adipocitos 3T3L1 deficientes en caveolina-1 nos planteamos:

3- Analizar la presencia de caveolas y la distribución de la caveolina-1 remanente en las membranas de los adipocitos y estudiar la estructura y composición de los *rafts* lipídicos/caveolas en estos adipocitos deficientes en caveolina-1.

Una vez analizado el efecto que tiene la carencia de caveolina-1 sobre los *rafts* lipídicos de adipocitos, quisimos estudiar si esta deficiencia afectaba funcionalmente a los adipocitos. Así, nos planteamos:

4- Analizar la diferenciación adipocitaria de los preadipocitos 3T3L1 deficientes en caveolina-1. Estudiando tanto sus características morfológicas y contenido lipídico, como la expresión de marcadores proteicos característicos de adipocitos maduros.

Está descrita la importancia de las caveolas/*rafts* lipídicos en la señalización de insulina estimulando el transporte de glucosa en adipocitos (Baumann *et al.*, 2000; Pessin and Saltiel, 2000; Omata *et al.*, 2000; Chiang *et al.*, 2001; Kanzaki and Pessin, 2001a). Por un lado, se ha descrito que para esta acción de la insulina es indispensable la activación de dos vías de señalización: una dependiente de la quinasa PI3K, y otra independiente, asociada a caveolas que se denomina Cbl/TC10. Por otro lado, se había descrito la localización del receptor de insulina (IR) en caveolas/*rafts* lipídicos (Gustavsson *et al.*, 1999; Vainio *et al.*, 2002) y la interacción de IR con caveolina-1 (Couet *et al.* 1997a; Yamamoto *et al.* 1998; Nystrom *et al.*, 1999). Así como sexto objetivo quisimos

5- Analizar la acción de la insulina en los adipocitos deficientes en caveolina-1, estudiando, por un lado, tanto la activación de las rutas de señalización de la insulina como la estimulación que provoca en la translocación del transportador de glucosa GLUT4 a la membrana plasmática y en el transporte de glucosa. Por otro lado también estudiamos la implicación de la caveolina-1 en otras acciones metabólicas de la insulina en los adipocitos como son la inhibición de la lipólisis y la estimulación de la lipogénesis.

Existen diversas evidencias descritas en la bibliografía que relacionan caveolas y caveolina-1 con la homeostasis lipídica y obesidad a partir del fenotipo de los ratones KO de caveolina-1 (Razani *et al.*, 2002a; Brasaemle *et al.*, 2004; Cohen *et al.*, 2004a). Así, se ha relacionado a caveolina-1 en la formación de los LDs (Cohen *et al.*, 2004b), también modulando la lipólisis activada por efectores  $\beta$ -adrenérgicos (Brasaemle *et al.*, 2004; Razani *et al.*, 1999; Cohen *et al.*, 2004b), en el balance y tráfico de colesterol y lípidos neutros en los adipocitos (Pol *et al.*, 2004; Pol *et al.*, 2005; Martin *et al.*, 2005) y en el transporte de ácidos grasos a través de la membrana plasmática (Pohl *et al.*, 2002; Pohl *et al.*, 2004b; Pohl *et al.*, 2005; Ring *et al.*, 2006). Teniendo en cuenta estos antecedentes, nuestro último objetivo fue:

6- Estudiar el papel de caveolina-1 en el metabolismo lipídico del adipocito, analizando tanto el transporte de ácidos grasos de cadena larga a través de la membrana plasmática, como la movilización de los triglicéridos almacenados ante estímulos lipolíticos.