

INTRODUCCIÓ

1. BASES DEL FUNCIONALISME MITOCONDRIAL

1.1. RESSENYA HISTÒRICA DEL DESCOBRIMENT DEL MITOCONDRI

Arran dels estudis citològics i dels estudis bioquímics de finals de segle XIX i principis del XX es va forjant la idea de que estructures i compartiments subcel·lulars tenen funcions específiques. Al 1890 Altmann descriu grànuls subcel·lulars al citoplasma de cèl·lules eucariotes similars en forma i tamany als bacteris i postula que aquests grànuls que ell anomena “bioblasts” podien ser les unitats bàsiques de l’activitat cel·lular (ref.1), però el nom “mitochondrion” (grànul filiforme) és introduït uns anys més tard (ref.2). Malgrat el reconeixement del mitocondri com a una estructura cel·lular ben definida amb capacitat de reduir alguns colorants, la seva funció roman discutida fins a mitjans dels segle XX gràcies al desenvolupament de tècniques per a aïllar mitocondris (ref.3,4) i la conjunció dels estudis bioquímics, éssent a partir d’aquest moment identificat aquest orgànel com a centre del metabolisme energètic i la respiració cel·lular. De fet, les característiques tan particulars d’aquesta organel·la cel·lular ha donat peu a tota mena d’especulacions sobre el seu origen fins arribar a l’actual teoria endosimbiòtica, la qual explica que probablement el mitocondri va ser un organisme procariota que fa més de mil milions d’anys va colonitzar cèl·lules eucariotes primitives que no tenien la facultat d’utilitzar l’oxigen metabòlicament, esdevenint permanent aquesta relació simbiòtica que permetia a la cèl·lula produir energia d’una forma més eficient, ara a través d’un metabolisme aeròbic (ref.5).

En quant a la seva rellevància en patologia, no és fins al 1962 quan Luft i cols. descriuen la primera malaltia mitocondrial humana (ref.6) i des d’aleshores es succeeixen descripcions de patologies degudes a defectes mitocondrials, i darrerament de processos fisiològics o patològics no considerats com a malalties mitocondrials primàries però en els que se sospita que una disfunció mitocondrial desenvolupa un paper rellevant (ref.7).

1.2. DESCRIPCIÓ DEL MITOCONDRI

El mitocondri és un orgànul citoplasmàtic cilíndric d'un diàmetre aproximat de 0.5-1µm, depenent el seu tamany i número del tipus cel·lular i el seu estat metabòlic. El mitocondri disposa de dues membranes altament especialitzades, una membrana mitocondrial externa que el separa del citoplasma cel·lular, i una membrana mitocondrial interna que forma una sèrie d'invaginacions, anomenades crestes mitocondrials, que augmenten considerablement la seva superfície. Donat que, com veurem després, els enzims involucrats a la fosforil·lació oxidativa es troben a la membrana mitocondrial interna, el número i densitat de crestes al mitocondri dependran de l'activitat oxidativa de cada mitocondri, la qual en darrera instància vindrà donada per la demanda metabòlica de la cèl·lula. Les dues membranes delimiten dos compartiments mitocondrials separats, l'espai intermembrana, situat entre ambdues membranes, i la matriu, situat a l'interior de la membrana mitocondrial interna (ref.5). (Figura 1).

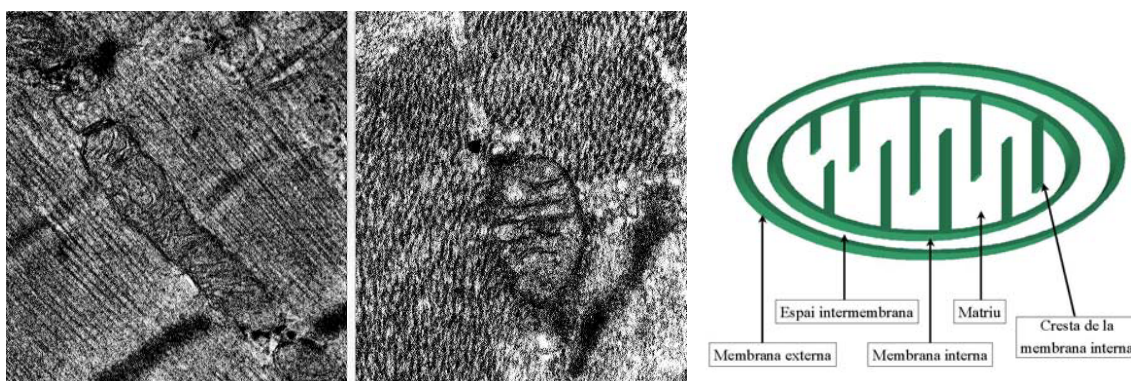


Figura 1. A l'esquerra, microfotografia d'un mitocondri muscular humà vist al microscopi electrònic, augment original 20000X. (cortesia del Dr. F. Masanés, Hospital Clínic). A la dreta, esquema de la seva morfologia.

La membrana mitocondrial externa és una bicapa lipídica que conté grans proteïnes formadores de canals (porines) que permeten la difusió lliure de molècules de menys de 10kDalton, incloent-hi petites proteïnes. Aquesta alta permeabilitat fa que l'espai intermembrana sigui químicament equivalent al citosol respecte les petites molècules que conté. A l'espai intermembrana es troba l'adenilat-cinasa, enzim encarregat de mantenir un balanç adequat de nucleòtids d'adenina al mitocondri (ref.5).

La matriu conté una barreja altament concentrada de múltiples enzims diferents, incloent els necessaris per al metabolisme oxidatiu (enzims per a l'oxidació del piruvat, per a l'oxidació dels àcids grassos, i els del cicle de Krebs), substrats, cofactors, ions inorgànics i una maquinària genètica pròpia (diverses còpies idèntiques del genoma de mtDNA, mitorribosomes, tRNA i diversos enzims necessaris per a l'expressió genètica). En aquest espai doncs, el piruvat provinent del citosol per la glucòlisi, i els àcids grassos són transformats fins els dos carbonis del grup acetil de l'acetil-CoA, que es combina amb oxalacetat per a produir àcid cítric, el qual és introduït al cicle de Krebs. Aquest cicle està constituït per set reaccions seqüencials mediades enzimàticament en les que es regenera l'oxalacetat, s'eliminen dos àtoms de carboni en forma de CO_2 i s'alliberen electrons d'alta energia en forma de NADH i FADH_2^+ els quals passaran a la cadena respiratòria mitocondrial (ref.5,8). (Figura 2)

La membrana mitocondrial interna és una bicapa lipídica amb un alt contingut en cardiolipina que li proporciona una molt baixa permeabilitat. Així l'influx de substrats és acuradament controlat, efectuant-se a través de proteïnes de transport específiques (translocases). A més, la membrana mitocondrial interna conté els quatre complexos enzimàtics que constitueixen la cadena respiratòria mitocondrial (CRM), així com un altre

complex enzimàtic denominat ATP-sintetasa que catalitza la producció d'ATP impulsat pel gradient electroquímic generat per la CRM i mantingut per la impermeabilitat de la membrana mitocondrial interna (ref.5,8) (Figura 2).

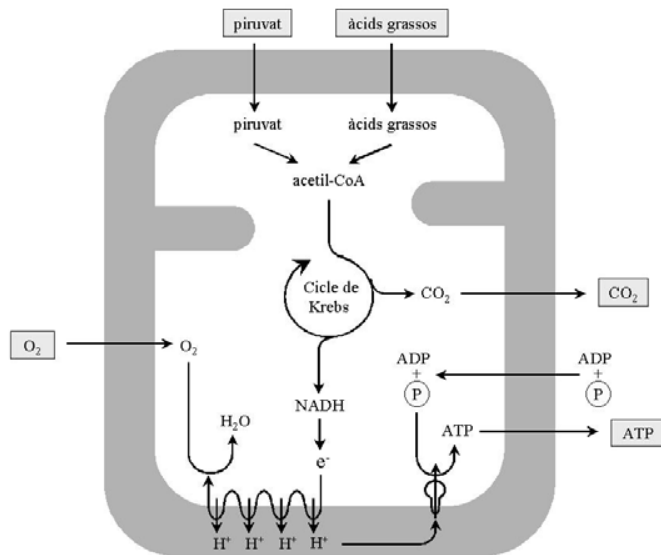


Figura 2. Esquema dels processos metabòlics més rellevants del mitocondri i la seva localització.

1.3. DESCRIPCIÓ DE LA CADENA RESPIRATÒRIA MITOCONDRIAL

Els mitocondris desenvolupen nombroses tasques, com ara l'oxidació del piruvat, el cicle de Krebs i el metabolisme d'aminoàcids, àcids grassos i esteroides, però probablement la funció més important del mitocondri és l'obtenció d'energia en forma d'ATP, mitjançant el metabolisme oxidatiu de la glucosa i dels àcids grassos principalment, i també a partir de certs aminoàcids. Des dels diferents substrats i a través d'una complexa sèrie de reaccions químiques (β -oxidació dels àcids grassos, conversió de piruvat provinent de la glucòlisi citosòlica en acetil-CoA i finalment el cicle de Krebs) s'obtenen electrons d'alta energia en forma de NADH i $FADH_2$, alliberant-se CO_2 . El destí final dels electrons del NADH i el $FADH_2$ és a la membrana interna del mitocondri, on es succeeixen una sèrie de reaccions

d'oxidació-reducció a través de l'acció catalitzadora de diferents enzims que en conjunt es coneixen amb el nom de cadena respiratòria mitocondrial (CRM) (ref.5,8,9,10).

Aquesta CRM està integrada per quatre complexos enzimàtics formats cadascun d'ells per diferents subunitats. A més a més també hi formen part dos transportadors mòbils d'electrons: la ubiquinona (o Coenzim Q) i el citocrom *c*. El sistema actua transportant els electrons des del NADH i el FADH₂ fins a l'O₂, que és l'acceptor final d'aquests electrons i que es redueix a H₂O (ref.8,10,12) (Figura 3).

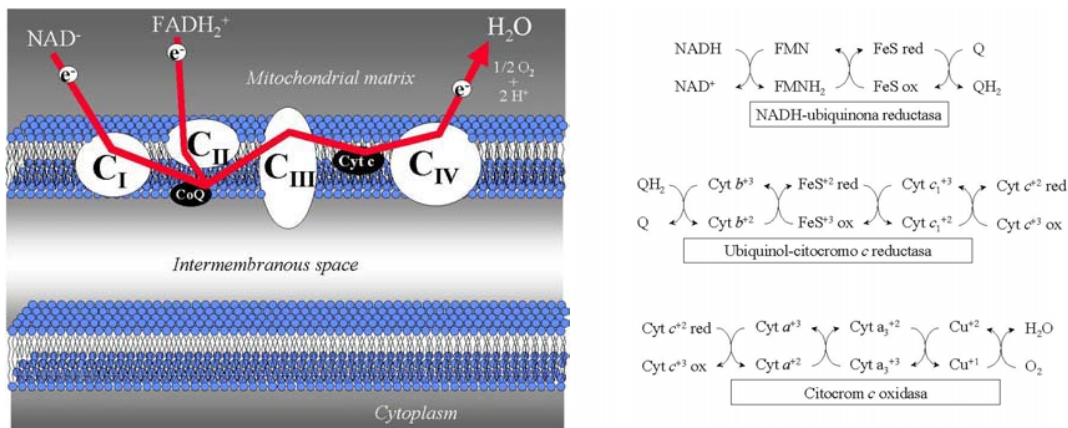


Figura 3. Esquema de la cadena respiratòria mitocondrial. A l'esquerra (A) esquema general de la transferència d'electrons pels diferents complexos enzimàtics de la membrana interna mitocondrial. A la dreta reaccions d'oxidació-reducció des del NADH fins a l'oxigen. Complex I és la NADH-ubiquinona reductasa, complex III és la Ubiquinol-citocrom c reductasa, Complex IV és la citocrom c oxidasa. CoQ és el coenzim Q o ubiquinona i QH₂ és la forma reduïda o ubiquinol. S'ha afegit en alguns casos "red" i "ox" per a millor enteniment que son les formes reduïda i oxidada del compost. Resta d'explicacions en el text.

La primera reacció és l'oxidació del NADH per la NADH-ubiquinona reductasa (complex I de la CRM), transferint 2 electrons del NADH fins al coenzim Q a través dels grups prostètics d'aquest enzim, el flavin mononucleòtid (FMN) i els complexos ferro-sofre (proteïnes FeS). El coenzim Q, altrament dit ubiquinona per la seva distribució universal en els sistemes biològics, es un compost quinònic amb una llarga cua isoprenoide la qual el capacita per a difondre lliurement per la membrana interna. D'altra banda, la succinat-

ubiquinona reductasa (complex II de la CRM), transfereix electrons del FADH₂ obtinguts per la succinat deshidrogenasa (enzim que forma part del cicle de Krebs i és part d'aquest complex enzimàtic) al coenzim Q a través d'una proteïna FeS. De forma similar, la glicerol fosfat deshidrogenasa i la acil-CoA deshidrogenasa transfereixen els seus electrons de potencial elevat al coenzim Q o ubiquinona (forma oxidada) per a donar lloc a ubiquinol (forma reduïda del coenzim Q). Els transportadors d'electrons entre l'ubiquinol i l'oxigen són *citocroms*, proteïnes transportadores d'electrons que contenen un grup prostètic *heme*, i una proteïna FeS. El grup *heme* a l'igual que els centres FeS transporta un electró, mentre que NADH, flavines i coenzim Q transporten dos electrons. La ubiquinol-citocrom *c* reductasa (complex III de la CRM) transfereix electrons des de l'ubiquinol fins al citocrom *c* (cyt *c*) a través dels components citocrom *b*, proteïna FeS i citocrom *c*₁ de l'enzim. El citocrom *c* és una proteïna hidrosoluble que difon per la membrana, actuant com a transportador d'electrons mòbil. El citocrom *c* reduït transfereix el seu electró al complex citocrom *c* oxidasa (COX, complex IV de la CRM), qui a través dels citocroms i un àtom de coure acaba reduint l'oxigen en aigua. La formació d'aigua a partir d'una molècula d'oxigen és un procés que requereix quatre electrons (ref.10).

Tota aquesta sèrie de reaccions redox són termodinàmicament avantatjoses (exergòniques), utilitzant l'energia per a crear un gradient quimiosmòtic, bombejant protons (H⁺) a l'espai intermembrana del mitocondri on s'acumulen (ref.11). Aquest gradient és aprofitat principalment per a generar ATP, tot i que alguns mecanismes de transport a través de la membrana interna mitocondrial també el poden aprofitar, i que evidentment una part de l'energia s'allibera en forma de calor. L'ATP sintetasa és un complex proteic de la membrana interna mitocondrial a través del qual flueixen els protons novament cap a la matriu a favor del gradient electroquímic i converteix l'energia protomotriu deguda a la

concentració de protons generada per la CRM, en biosíntesi d'ATP a partir d'ADP i fosfat. Aquest acoblament entre la síntesi d'ATP amb el transport d'electrons des del NADH fins a l'oxigen és el que dóna el nom de *fosforil·lació oxidativa* a aquest procés d'obtenció d'energia. D'igual manera, l'ATP-sintetasa, encara que pròpiament no forma part de la successió de reaccions redox i per tant no seria part del procés respiratori mitocondrial, és anomenat complex V de la CRM, doncs l'acoblament requereix la transferència d'electrons i la creació del gradient de protons per a sintetitzar l'ATP (ref.5,8,9,10). No obstant, en algunes cèl·lules adiposes especialitzades (teixit adipós marró), la respiració mitocondrial es troba desacoblada del mecanisme de síntesi d'ATP de forma natural, gràcies a unes proteïnes de transport ionòfors que permeten als protons que es moguin lliurement a favor del gradient, oxidant a gran velocitat les reserves de greix i produint més calor que ATP a diferència dels altres teixits i cèl·lules. Això permet reanimar als animals hivernants o protegir del fred àrees sensibles (ref.5), encara que també és la base de la malaltia de Luft com veurem més endavant (ref.7). Aquest desacoblament també es pot produir amb certes substàncies com el DNP o el CCCP, aconseguint que es produeixi el consum màxim d'oxigen, és a dir la màxima velocitat en el transport electrònic que permeti l'aportació de substrats. Veiem doncs, que existeix un *control respiratori* de la fosforil·lació oxidativa, inhibint-se el flux d'electrons a través de la cadena respiratòria mitocondrial a mesura que augmenta el gradient electroquímic (ref.5,8,9,10).

A més del desacoblament, la síntesi d'ATP pot inhibir-se mitjançant diverses substàncies. En primer lloc, l'ATP-sintetasa s'inhibeix amb *oligomicina* impedit directament la síntesi d'ATP, però l'ATP-sintetasa també es pot bloquejar inhibint la transferència d'electrons a través de la CRM. La *rotenona* i l'*amital* inhibeixen específicament la transferència d'electrons a nivell del complex I, evitant la generació del

gradient de protons en aquest lloc, permetent no obstant l'oxidació del succinat, doncs els electrons resultants entren a la CRM mitjançant el complex II, procés inhibit pel *malonat*. L'*antimicina A* inhibeix el flux d'electrons entre els citocroms *b* i *c*₁ del complex III, bloqueig que es pot curtcircuitar amb *ascorbat* qui pot reduir directament el citocrom *c*. Finalment, el *cianur* (CN⁻), l'*azida* (N₃⁻) i el *monòxid de carboni* (CO) bloquegen la transferència d'electrons a nivell del complex IV, inhibint la forma fèrrica pel cas del cianur i l'azida o la forma ferrosa pel monòxid de carboni, però en definitiva impeding la seva contribució a la formació del gradient electroquímic (ref.10).

1.4. FONAMENTS DE GENÈTICA MITOCONDRIAL

El mitocondri és l'única organel·la cel·lular que disposa d'un material genètic propi, així com d'una maquinària pròpia per a la síntesi de RNA i proteïnes. Cada mitocondri pot contenir diverses còpies del seu genoma. El mtDNA és una doble cadena de DNA circular de 16569 parells de bases i que conté 37 gens, dels quals uns són necessaris per a la traducció del mtDNA i altres codifiquen algunes subunitats dels complexos I, III, IV i V de la CRM (ref.9,13). Durant l'evolució, es va produir una extensa transferència de DNA del mitocondri primitiu cap al nucli cel·lular perdent la seva independència, cosa que explica que el nDNA contingui la majoria de gens que codifiquen per productes necessaris pel funcionament, integritat i replicació del mitocondri, les quals han d'ésser necessàriament importats des del citoplasma cel·lular (ref.5).

Així doncs, el control genètic de la cadena respiratòria mitocondrial és doble i per tant la transmissió de malalties mitocondrials pot seguir lleis de genètica mendeliana o lleis de genètica mitocondrial. La genètica mitocondrial es diferencia de la mendeliana en:

- Herència materna: Els mitocondris del zigot provenen de l'òvul matern. Tota la progènie pot patir una malaltia mitocondrial però només les femelles la transmetran.
- Heteroplàsmia: Coexistència en la mateixa cèl·lula de mitocondris amb còpies normals de mtDNA i d'altres amb còpies mutants. L'heteroplàsmia també existeix a nivell d'organel·la, coexistint genomes mutants i normals al mateix mitocondri. En funció de la quantitat de còpies malmeses a la cèl·lula i la dependència oxidativa del teixit es farà patent la malaltia (efecte llindar).
- Segregació mitòtica: En dividir-se la cèl·lula, els mitocondris es distribueixen a l'atzar, variant la càrrega de mtDNA mutant a cada cèl·lula filla. Això explica la variabilitat de manifestacions clíniques de les malalties mitocondrials en funció del teixit.

Per a finalitzar, hom ha de saber que existeix una alta freqüència de mutacions al mtDNA fruit del dany oxidatiu, i dels escassos mecanismes de reparació/protecció.

1.5. MALALTIES MITOCONDRIALS

1.5.1. Mitocondripaties primàries

Les citopaties mitocondrials constitueixen un grup de malalties en les que l'alteració fonamental radica en una afectació primària del metabolisme mitocondrial (ref.14). Són malalties multisistèmiques donada la presència gairebé omnicel·lular de l'organel·la. No obstant, el múscul i el sistema nerviós central en són els principals òrgans diana, doncs aquests teixits estan formats per cèl·lules postmitòtiques i amb una elevada dependència del metabolisme oxidatiu, éssent especialment susceptibles a la lesió mitocondrial (ref.15,16,17).

La primera descripció d'una malaltia mitocondrial data de l'any 1962. La malaltia de Luft (ref.6) o hipermetabolisme no hipertiroïdal es caracteritza per l'aparició de febre,

intolerància a la calor, suació profusa, dispnea i taquipnea en repòs, polidípsia, polifàgia i debilitat muscular, i constitueix la situació clínica que reflexa la manca d'acoblament entre fosforil·lació oxidativa i oxidació dels substrats (ref.7).

Fins a l'actualitat s'han identificat nombrosos dèficits enzimàtics a diferents nivells: en el transport de substàncies a través de la membrana mitocondrial, en la metabolització dels substrats, en el cicle de Krebs, en l'acoblament de la fosforil·lació-oxidació, o en la CRM, i en molts d'aquests casos de dèficit enzimàtic se'n deriven malalties o síndromes ben definides (ref.13,15,16,17). Malgrat tot, generalment s'accepta reservar el terme de citopatia mitocondrial només per a aquells trastorns que afecten als enzims que formen la CRM.

Durant els darrers anys, aquests trastorns de la CRM han estat objecte d'una atenció i investigació creixent. Actualment es coneixen els defectes genètics congènits primaris del nDNA o mtDNA (mutacions puntuals, reordenaments i alteracions nDNA que codifica per a proteïnes mitocondrials) (ref.13) que provoquen una alteració mitocondrial que és la base de diverses síndromes i malalties (MELAS, MERRF, Sd. Kearns-Sayre, etc.) (ref.13,18,19). Així mateix, també s'han pogut observar anomalies adquirides de la CRM per afectació primària del material genètic, com ara la miopatia en relació amb el tractament amb zidovudina dels malalts infectats pel virus de la immunodeficiència humana (ref.20,21), on s'ha demostrat que existeix una depleció del mtDNA probablement deguda a la inhibició reversible de la gammaDNA-polimerasa per part d'aquest fàrmac (ref.22).

1.5.2. **Mitocondripaties secundàries**

D'altra banda, existeix un nombrós i heterogeni grup de processos en els quals també s'ha objectivat disfunció mitocondrial, però on la seva causa, estructural i/o funcional, es troba fora de la pròpia organel·la (ref.23). En aquest sentit, s'ha suggerit que la disfunció

mitocondrial podria jugar un paper important en la fisiopatologia de malalties neurodegeneratives (malaltia de Parkinson (ref.24,25,26), malaltia d'Alzheimer (ref.27), corea de Huntington (ref.28), esclerosi lateral amiotròfica (ref.29)), malalties inflamatòries (ref.30,31,32,33,34), i algun tipus de diabetis mellitus (ref.35,36,37,38) o de miocardiopaties (ref.39).

En aquestes mitocondriopaties secundàries, el defecte pot ésser al nDNA que codifica per a una determinada proteïna extramitocondrial que alhora condiciona una alteració metabòlica secundària; o bé pot ésser deguda a l'acció de determinats factors ambientals que actuen negativament envers el mitocondri (ref.23). Ben conegut és el dèficit de carnitina, que pot ser primari, o secundari a acidúries orgàniques, defectes de la CRM, hemodiàlisi i tractament amb valproat, i que es caracteritza per episodis d'encefalopatia, hipotonia, acidosi metabòlica, dipòsits difusos de lípids als teixits i concentracions baixes de carnitina a plasma (ref.40). Els dèficits d'oligoelements (coure, ferro) són models experimentals d'afectació del metabolisme oxidatiu, que en el cas del ferro pot disminuir fins al 90%, i que es normalitza en restituir aquest metall (ref.23). Així mateix, situacions metabòliques com l'hipotiroïdisme (ref.41) o la hipòxia (ref.42) poden afectar el funcionalisme mitocondrial. Finalment, existeixen diverses substàncies que poden constituir veritables tòxics mitocondrials alterant la seva funció. Entre aquests s'inclouen alguns fàrmacs com els neuroleptics, els quimioteràpics o els aminoglucòsids, i tòxics com l'acònit i el cianur (ref.7,23).

2. EL FUM DEL TABAC COM A POSSIBLE TÒXIC MITOCONDRIAL

El fum del tabac és un contaminant ambiental i personal molt estès. Conté més de 4000 substàncies diferents, la gran majoria altament tòxiques i de les quals depèn el seu potencial addictiu i patogènic (ref.43). Alguns d'aquests components, com ara alquenes, nitrosamines, amines i hidrocarburs aromàtics i heterocíclics, són fonts ben conegudes de radicals lliures (RL) (ref.44,45,46). A més d'aquesta aportació exògena de RL, diversos estudis *in vitro* han demostrat que el fum del tabac implica un increment de la producció endògena de RL (ref.47,48,49), probablement a través de l'activació de processos immunoinflamatoris (ref.45). Els RL són molècules amb radicals d'alta reactivitat química condicionada pel seu estat redox inestable. Les anomenades espècies reactives de l'oxigen (ERO) (peròxid d'hidrogen, anió superòxid i radicals hidroxil) en són bons exemples, però sota la denominació de RL incloem altres molècules no derivades de l'oxigen, com ara lípids peroxidats, i que també tenen una alta tendència a reaccionar químicament amb altres molècules, les quals alhora poden actuar com a nous RL, desembocant en un veritable fenomen de propagació i expansió. La conseqüència més important per a la biologia cel·lular de l'augment d'ERO i en general de RL és un augment del dany oxidatiu, és a dir la disminució o pèrdua de propietats i funcions de biomolècules (DNA, proteïnes i lípids) fruit de la seva interacció amb els RL (ref.49).

Diversos estudis demostren un augment de RL en relació al consum de tabac, que s'expressa amb un augment de la peroxidació lipídica de membranes biològiques (ref.50,51,52), i un increment del dany oxidatiu del DNA (ref.49,53,54,55,56), amb un necessari augment de l'activitat reparadora del DNA (ref.54). Aquest dany oxidatiu del DNA es considera de crucial rellevància en la carcinogènesi (ref.54,57,58,59).

Alguns autors proposen el mitocondri també com a diana del fum del tabac (ref.60). El mitocondri, present a pràcticament totes les línies cel·lulars, juga un important paper en dos funcions cel·lulars de gran transcendència: constitueixen la via comuna per als iniciadors de l'apoptosi (un procés fisiològic pel qual les cèl·lules són eliminades quan el seu DNA està danyat indefectiblement per agents nocius), i realitzen la respiració cel·lular (gràcies a la CRM) que és la font energètica més important de la cèl·lula (alliberada en forma de molècules d'ATP). Donat que el fum del tabac conté RL i que alhora pot estimular la producció endògena de més RL, induint peroxidació lipídica, oxidació proteica i dany al mtDNA (ref.61,62), aquest dany oxidatiu a un nivell mitocondrial podria resultar no només en una disminució de la producció energètica i per tant a una disminució de l'activitat cel·lular (ref.63), sinó també en despolarització mitocondrial i finalment en apoptosi cel·lular (ref.64,65).

D'altra banda, el mitocondri durant el procés d'obtenció d'energia, fruit de la gran quantitat de reaccions redox a la CRM amb l'oxigen molecular, genera de forma habitual ERO (ref.63) dels quals la cèl·lula es defensa amb els anomenats sistemes antioxidants, que esmorteixen els devastadors efectes de les ERO mentre no es vegi superada la seva capacitat (ref.66,67,68). Tal i com s'ha assenyalat anteriorment, la interferència de la CRM pot resultar en una disminució de la síntesi d'ATP i augment de la producció d'ERO. Així doncs, si el fum del tabac interferís d'alguna manera amb la CRM (ref.69,70,71), la disfunció mitocondrial resultant produiria una disminució de la funció cel·lular global (ref.69), i a més, un augment extraordinari del dany oxidatiu a través dels RL generats en excés (ref.49,70).

Hi ha pocs estudis realitzats que valorin la possible afectació mitocondrial pel tabac. A la bibliografia es troben alguns estudis experimentals on es descriu l'efecte *in vitro* del

fum del tabac en els processos oxidatius de la CRM (ref.72,43) i en el mtDNA (ref.73,61) en models animals. En aquest sentit, Pryor i cols. (ref.43) comproven la inhibició de la CRM pels components del quitrà del tabac, trobant el complex I el més sensible, i observant un augment en la formació de RL. També es troben alguns estudis de l'efecte *in vivo* del tabac en la respiració mitocondrial. Orlander i cols (ref.74,75) troben diferències morfològiques i metabòliques en múscul de fumadors i no fumadors, així com una disminució de l'activitat COX al grup de fumadors, però tanmateix es troba una diferència d'activitat física entre els grups, fet que pot representar un biaix no menyspreable en el teixit estudiat. Gozdjáková i cols. (ref.69,71,76,77) realitzen estudis *in vivo* en animals d'experimentació i en cultius cel·lulars de miocardiòcits de conill, demostrant que el fum del tabac és capaç de deprimir els processos oxidatius al mitocondri (ref.71), trobant una disminució de l'activitat COX com a possible responsable (ref.76). L'únic estudi dissenyat per a valorar els possibles efectes del tabaquisme en el funcionalisme mitocondrial en humans és el de Smith i cols (ref.70), que demostra un descens del 24% de l'activitat del complex I en plaquetes de fumadors sense trobar diferències significatives en l'activitat d'altres complexos. Tot i ser el primer estudi en humans que demostra *in vivo* una interferència mitocondrial per un agent ambiental comú com és el fum del tabac, no valora l'activitat oxidativa mitocondrial ni els efectes en quant a dany oxidatiu es refereix, però obre un camp d'estudi respecte a aquest mecanisme de toxicitat cel·lular.

De l'anàlisi de tots aquests treballs que s'han comentat, podem concloure que existeixen prou indicis, si bé no la certesa científica, que alguns components del tabac poden interferir amb la respiració mitocondrial. Aquest fet fóra de gran interès, doncs permetria hipotetitzar en mecanismes fisiopatològics que intervenen en les diverses malalties relacionades amb el tabaquisme, com les neoplàsies o la malaltia pulmonar

obstructiva crònica, en les quals la formació de RL a partir de la disfunció mitocondrial podria tenir un paper important com a efectors del dany cel·lular final. A més, establiria una base per a que futurs estudis de funcionalisme mitocondrial necessàriament haguessin de contemplar aquest costum tòxic a l'hora de valorar els resultats, i si més no, voldria dir que els malalts afectes d'algun tipus de malaltia mitocondrial haurien d'evitar de forma radical el consum de tabac, doncs podria accelerar l'evolució de la seva malaltia. D'altra banda, es planteja una altra incògnita, i és que si el fum del tabac pot interferir amb la cadena respiratòria mitocondrial, a través de quina o quines substàncies ho faria.

3. MECANISMES DE TOXICITAT MITOCONDRIAL DEL FUM DEL TABAC

3.1. El monòxid de carboni com a tòxic mitocondrial

El monòxid de carboni (CO) és un gas tòxic no irritant, incolor i inodor, produït per la combustió incompleta dels hidrocarburs (ref.78,79,80,81). Malgrat als humans es produeix normalment una petita quantitat de CO resultant del catabolisme de l'hemoglobina, la majoria de CO present al cos prové de fonts exògenes, i la seva absorció pot portar a una intoxicació i fins i tot la mort (ref.82,83). La simptomatologia de la intoxicació aguda per CO és inespecífica, amb taquicàrdia, taquipnea, cefalàlgia, nàusees, vòmits, sensació d'instabilitat, debilitat, dificultat per a concentrar-se o confusió, trastorns visuals, síncope, convulsions, dolor abdominal i rampes musculars (ref.84).

La fisiopatologia de la intoxicació per CO sembla ser el resultat d'una combinació d'hipòxia tissular i dany tissular directe produït pel CO a nivell cel·lular. El CO té una gran afinitat per l'hemoglobina, proteïna que conté el grup *heme* (ref.85). Aquesta afinitat porta

a la formació de carboxihemoglobina (COHb) (ref.86), reduint el transport d'oxigen i dificultant l'alliberació als teixits de l'oxigen per part de l'oxihemoglobina (ref.87). De totes maneres, no existeix una relació precisa entre els nivells de COHb i la simptomatologia (ref.88,89), persistint de vegades cefalàlgia i debilitat muscular malgrat la normalització de la COHb, i fins i tot apareixent una síndrome neuropsiquàtrica (amb deteriorament cognitiu que pot arribar a la demència, moviments extrapiramidals de tipus parkinsonià, incontinència esfinteriana, canvis de personalitat i psicosi) dies o mesos després de la intoxicació. En aquests pacients s'observen lesions al *globus pallidus* i zones profundes de la substància blanca quan els nivells de COHb són ja normals (ref.78,79,80,81).

Per aquest motiu s'han suggerit altres mecanismes fisiopatològics, com ara la lesió per reoxigenació, la peroxidació lipídica i l'estrès oxidatiu (ref.51,90), així com la unió del CO a les proteïnes cel·lulars mioglobina i citocroms (ref.88,91), que també contenen el grup *heme*. En aquest sentit, Miró i cols. (ref.92) han trobat una marcada i sostinguda inhibició de l'activitat de la citocrom *c* oxidasa (COX), complex IV de la CRM, en limfòcits humans de pacients intoxicats per CO. No obstant, tot i que el CO es un reconegut tòxic a nivell mitocondrial (ref.93,88), i que es coneix que el seu lloc d'acció principal seria a nivell del citocrom *a₃* (ref.94) contingut a la COX, pocs estudis avaluen el mecanisme patogènic a un nivell subcel·lular (ref.91,95,96,97,90), i en tot cas ho fan en models animals. A més, els estudis basats en intoxicacions per CO haurien d'excloure la hipòxia concomitant (ref.98,42) per tal de valorar correctament el funcionalisme mitocondrial.

3.2. Possible paper dels components del fum del tabac en la disfunció mitocondrial.

El fum del tabac és una font important de CO (ref.78,79,80). Així, un major consum de tabac es correspon amb uns nivells més alts de COHb (ref.99), amb els subseqüents efectes adversos en el transport d'oxigen per l'hemoglobina (ref.100).

En quant a la unió del CO amb els citocroms, tal com s'ha comentat prèviament, alguns autors, com Örlander (ref.74), Larsson (ref.75), Gvozdjaková (ref.69), Gvozdjak (ref.77) i Pryor (ref.43), han descrit en relació al tabac una inhibició de la cadena respiratòria mitocondrial, principalment a nivell de la COX, apuntant al CO com a un possible responsable d'aquesta inhibició. A més, aquestes dades recorden també les trobades a estudis preliminars en pacients intoxicats per CO (ref.92), suggerint la idea d'interpretar en aquest àmbit el tabaquisme com una mena d'intoxicació crònica per CO, si bé no pura, doncs el fum del tabac conté altres components.

En aquest sentit, el cianhídric també podria contribuir a una inhibició COX (ref.101). També la nicotina, sembla afectar la CRM de forma encara no ben establerta, doncs per una part sembla inhibir el complex I competint amb el NADH (ref.102), mentre per altra sembla activar la respiració cel·lular (ref.103). Finalment substàncies desconegudes però contingudes als extractes de quitrà també podrien interferir amb la CRM (ref.43).

Així, sembla que el fum del tabac podria afectar el funcionalisme mitocondrial, a través de moltes de les substàncies que hi conté. Resulta atractiva la idea que el CO pugui desenvolupar un paper fisiopatològic central, si bé probablement no únic, en aquesta disfunció mitocondrial, i a través d'aquesta alteració, contribuir d'alguna manera a la fisiopatologia de les malalties relacionades amb el tabaquisme.

