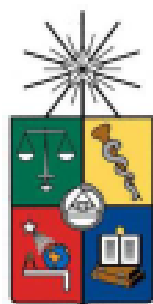


**UNIVERSIDAD DE CHILE**

**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS**



**“ROL DE BAG3 EN LA REGULACIÓN DEL  
METABOLISMO MUSCULAR ESQUELÉTICO”**

**MEMORIA PARA OPTAR AL TÍTULO DE BIOQUÍMICO**

**DANIEL ALEJANDRO PEÑA OYARZÚN**

Directores de Memoria

Dr. Sergio Lavandero González

Mg. Andrea Rodríguez Villarroel

Santiago, Chile

2014

## TABLA DE CONTENIDOS

AGRADECIMIENTOS .....	iii
ÍNDICE DE FIGURAS .....	vi
ABREVIATURAS .....	vii
RESUMEN.....	xii
SUMMARY .....	xiv
<b>1. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
1.1. El músculo esquelético y sus vías de señalización para el metabolismo energético.....	1
1.1.1. Estructura y función contráctil del músculo esquelético .....	1
1.1.2. Insulina y su sistema de transducción de señales .....	4
1.1.3. Resistencia a la insulina .....	5
1.2. Autofagia y Bag3 .....	7
1.2.1. El proceso de autofagia.....	7
1.2.2. Bag3 y su relación con autofagia.....	10
1.2.3. Bag3 y su importancia en la célula muscular .....	11
1.3. Interrelación metabolismo y autofagia .....	12
1.3.1. AMPK y el complejo mTORC1: Integración metabolismo-autofagia.....	12
1.3.2. Bag3 y su relación con el metabolismo energético .....	16
<b>2. HIPÓTESIS .....</b>	<b>17</b>
<b>3. OBJETIVO GENERAL .....</b>	<b>17</b>
<b>4. OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....</b>	<b>17</b>
<b>5. MATERIALES Y MÉTODOS .....</b>	<b>18</b>
5.1. Reactivos.....	18
5.2. Cultivo celular.....	19
5.3. Transfección con RNA interferente .....	19
5.4. Transfección con plasmidio de sobreexpresión .....	20
5.5. Estímulos adicionales para evaluación de autofagia.....	20
5.6. Obtención de extractos proteicos.....	21
5.6.1. Cuantificación de proteínas totales por método de Bradford para Western blot .....	21

5.7.	Western blot.....	21
5.8.	Captura de glucosa .....	22
5.8.1.	Cuantificación de proteínas totales por método de BCA para captura de glucosa .....	22
5.9.	Consumo de oxígeno.....	23
5.10.	Detección densitométrica de GLUT4-myc en superficie .....	23
5.11.	Inmunofluorescencia indirecta.....	24
5.12.	Análisis estadístico.....	25
<b>6.</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	<b>26</b>
6.1.	Efecto de RNA interferente (siRNA) contra Bag3 en miotubos L6: Construcción del modelo de estudio.....	26
6.2.	Efecto de SiBAG3 sobre el metabolismo basal de miotubos L6.....	30
6.3.	Efecto de SiBAG3 sobre la autofagia en miotubos L6.....	34
6.4.	Efecto de sobreexpresión de Bag3 en la autofagia de miotubos L6.....	37
6.5.	Efecto de SiBAG3 sobre la activación basal de Akt, AMPK y mTORC1 en miotubos L6 .....	39
6.6.	Efecto de SiBAG3 sobre el metabolismo estimulado por insulina en miotubos L6 .....	42
6.7.	Efecto de SiBAG3 sobre la activación de Akt estimulada por insulina en miotubos L6 .....	45
6.8.	Efecto de SiBAG3 sobre la activación de AMPK-mTORC1 estimulada por insulina en miotubos L6.....	47
<b>7.</b>	<b>DISCUSIÓN</b> .....	<b>50</b>
7.1.	Sobre el metabolismo basal en miotubos L6 SiBAG3.....	50
7.2.	Sobre la autofagia mediada por Bag3.....	53
7.3.	Sobre el metabolismo estimulado por insulina en miotubos L6 SiBAG3 .....	56
<b>8.</b>	<b>PROYECCIONES</b> .....	<b>59</b>
<b>9.</b>	<b>CONCLUSIÓN</b> .....	<b>61</b>
<b>10.</b>	<b>BIBLIOGRAFÍA</b> .....	<b>62</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructura y componentes del sarcómero .....	3
Figura 2. Mecanismos de autofagia celular.....	9
Figura 3. Interrelación entre metabolismo y autofagia mediante señalización Akt-AMPK-mTORC1 .....	15
Figura 4. Sitios de acción de siBAG3-1 y siBAG3-2 en el mRNA de Bag3.....	28
Figura 5. Reducción de los niveles de proteína Bag3 mediante uso de siRNA destinado contra el mRNA de Bag3 (siBAG3) en miotubos L6.....	29
Figura 6. Incremento basal de la función metabólica en miotubos L6 Bag3 knock-down (L6 SiBAG3) .....	33
Figura 7. Disminución de la autofagia en miotubos L6 SiBAG3.....	36
Figura 8. Aumento del flujo autofágico en miotubos L6 que sobreexpresan Bag3.....	38
Figura 9. Activación de Akt y mTORC1, e inactivación de AMPK en miotubos L6 SiBAG3.....	41
Figura 10. Impedimento del ingreso de glucosa y del metabolismo mitocondrial dependiente de insulina pero no de la exportación de Glut-4 a la membrana en miotubos L6 SiBAG3 .....	44
Figura 11. Vía de señalización Akt dependiente de insulina no se altera en miotubos L6 SiBAG3.....	46
Figura 12. Reactivación de AMPK y bloqueo de la activación de mTORC1 en miotubos L6 SiBAG3 estimulados con insulina .....	49