

*EFECTES DEL FUM DEL TABAC ENVERS
EL FUNCIONALISME MITOCONDRIAL:
PAPER DEL MONÒXID DE CARBONI.*

Tesi presentada per José Ramón Alonso i Viladot
per a aspirar al grau de Doctor en Medicina

Directors

Dr. Francesc Cardellach i López

Dr. Óscar Miró i Andreu

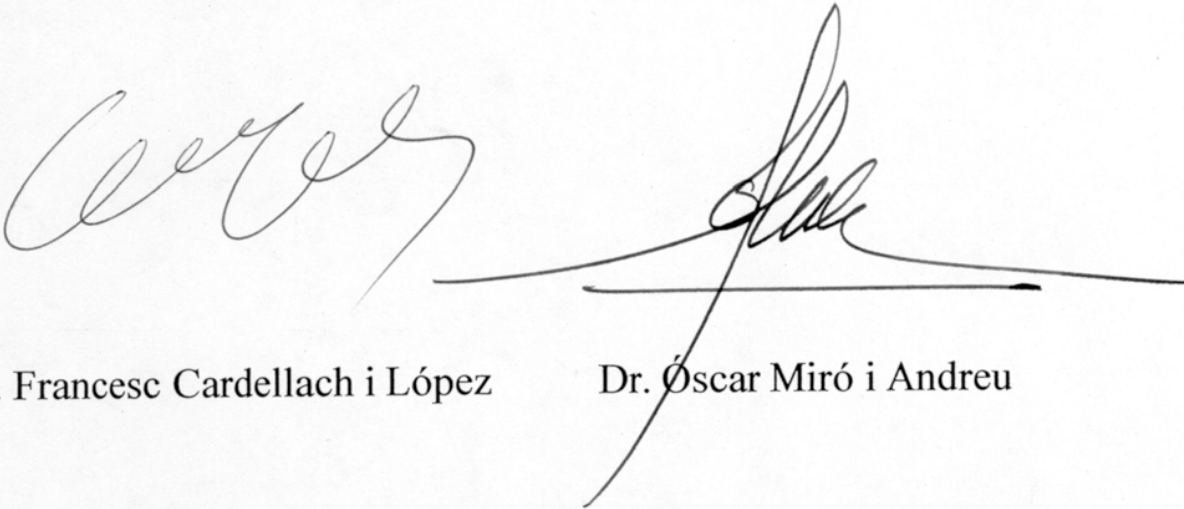
FACULTAT DE MEDICINA
UNIVERSITAT DE BARCELONA
Barcelona, Novembre 2003

El Dr. Francesc Cardellach i López, Catedràtic de Medicina de la Universitat de Barcelona, i el Dr. Óscar Miró i Andreu, Doctor en Medicina ,

CERTIFIQUEN:

Que en **José Ramón Alonso i Viladot**, llicenciat en Medicina i Cirurgia, ha realitzat sota la nostra direcció el seu treball de tesi doctoral que porta per títol “*Efectes del fum del tabac envers el funcionalisme mitocondrial: Paper del monòxid de carboni*”.

I per que així consti i surti els efectes oportuns, signen la present a Barcelona, a 29 de Setembre del 2003.



Dr. Francesc Cardellach i López

Dr. Óscar Miró i Andreu

Als meus pares

AGRAÏMENTS

- Al doctor Francesc Cardellach per la direcció d'aquesta tesi, per la constant insistència en mantenir el nivell científic més alt possible i pel continu interès pels avenços i fracassos de la meva tasca al laboratori.
- Al doctor Óscar Miró, el meu predecessor d'aquesta línia de treball, qui m'ha ajudat fins i tot en els moments més difícils d'aquest treball, éssent un gran metge, científic i amic.
- Al doctor Jordi Casademont, qui em va introduir al grup de recerca muscular i va engrescar-me a realitzar el que seria el meu projecte de tesi doctoral, per la seva ajuda amb l'estadística, pel seu mètode en medicina, però sobretot per la seva amistat.
- Al professor Álvaro Urbano-Márquez, cap del Servei de Medicina Interna General de l'Hospital Clínic i Provincial de Barcelona, pel seu recolzament al treball realitzat.
- Al doctor Josep Maria Grau per introduir-me en la realització i l'estudi histològic i histoquímic de les biòpsies múscul i d'artèria temporal, pel seu exemple de constància i rectitud, i per ser-hi allà quan sembla que no hi ha ningú.
- Al doctor Alfons López-Soto, company i amic, qui sempre té la clarividència dels passos a seguir davant una situació professional difícil.
- A tots els autors de relats, contes, novel·les, còmics i pel·lícules de ciència ficció, per acostar-me al món científic des de la meva infància.
- A tots els mestres i professors que han contribuït a la meva formació acadèmica i extra-acadèmica, per ensenyar-me bàsicament a valorar les coses i el seu context.

- Al doctor Ramon Estruch, per acollir-me com a alumne intern al Servei d'Urgències, mostrar-me aquest tipus de patologia i introduir-me al món de la investigació mèdica.
- A tots els companys del Servei de Medicina Interna de l'Hospital Clínic, especialment als companys de residència i al doctor Albert Bové, per ser amb nosaltres en aquells moments tan difícils que són el principi de l'especialitat.
- A tots els companys i amics de l'Àrea de Vigilància Intensiva de l'Hospital Clínic i Provincial de Barcelona.
- Als companys i amics de CRIS – Unitat Terapèutica Hiperbàrica i especialment als doctors Jordi Desola i Joan Sala per la seva acollida al curs de medicina subaquàtica i hiperbàrica i a la pròpia unitat.
- Al doctor Miquel Sánchez i a la resta dels companys del Servei d'Urgències de Medicina de l'Hospital Clínic i Provincial de Barcelona, on he desenvolupat la tasca assistencial a la vegada que estava realitzant els treballs que formen part d'aquesta tesi.
- Al doctor Angel Charre i a tots els companys de l'Institut Universitari Dexeus, on també he desenvolupat tasques assistencials, pel seu suport.
- A tots els companys i amics del nostre laboratori de recerca, especialment a la Diana Jarreta per ensinistrar-me en les tècniques de laboratori i a l'Ana Beato pel seu exemple d'ordre, sistemàtica i constància.
- Als tots els membres de la Unitat de Tabaquisme, i especialment a la doctora Dolors Marin per la seva amable acollida i haver-nos remés la gran part dels fumadors estudiats en la present tesi.
- Als membres del Servei de Cirurgia Ortopèdica i Traumatologia, que tan amablement han contribuït en l'obtenció de les mostres musculars utilitzades pels experiments.

- A tot l'equip d'Infermeria del servei de Medicina Interna i del Servei d'Urgències Medicina, per la seva ajuda en realitzar les extraccions de sang.
- A l'Hospital Clínic i Provincial de Barcelona, pel seu suport econòmic mitjançant la concessió del Premi Fi de Residència de l'any 1999.
- A tots els voluntaris fumadors i no fumadors, que han accedit a formar part dels estudis que es presenten en aquesta tesi, sempre interessats pels seus resultats.
- A tots els coautors dels treballs presentats en aquesta tesi, per la seva col·laboració en la realització dels mateixos.
- Als meus amics que ho han continuat sent malgrat tots els caps de setmana i nits que he hagut d'emprar en tasques assistencials o investigadores, i que han aconseguit que els pocs dies lliures renovés energies per tal de continuar treballant.
- A totes aquelles persones que han compartit un tros petit o llarg de la meva vida. Per aquells moments.
- A la meva germana, al meu cunyat i a les meves nebodes, així com a la resta de la meva petita família, per recordar-me que la família, lluny o prop, sempre la tens.
- A la meva àvia amb qui vaig conviure uns anys, pel seu exemple d'independència i d'opinió sense imposició que va mantenir fins el dia que va morir, dia que defensava davant el Comitè de l'Hospital el projecte de beca que conclouria amb la present tesi.
- Als meus pares, per recolzar-me en totes les decisions que he pres al llarg de la meva vida. Els hi dedico especialment a ells aquesta tesi doncs d'alguna manera els vull agrair tot el que sóc i el que m'han donat.

ABREVIATURES

ADP	: Adenosin difosfat.
ATP	: Adenosin trifosfat.
CCCP	: Carbonil-cianur-clorofenil hidrazona.
CO	: Monòxid de carboni.
CO ₂	: Diòxid de carboni.
COAE	: Monòxid de carboni en aire exhalat.
COHb	: Carboxihemoglobina.
Complex I	: NADH – ubiquinona – reductasa.
Complex II	: Succinat – ubiquinona – reductasa.
Complex III	: Ubiquinol – citocrom <i>c</i> – reductasa.
Complex IV	: Citocrom <i>c</i> oxidasa.
Complex V	: ATP sintasa.
COX	: Citocrom <i>c</i> oxidasa.
CRM	: Cadena Respiratòria Mitocondrial.
Cyt	: Citocrom.
DNP	: Dinitrofenol
ERO	: Espècies reactives de l'oxigen.
FAD	: Flavin adenin dinucleòtid.
FADH ₂	: Forma reduïda del FAD.
G3PDH	: Glicerol-3-fosfat deshidrogenasa.
mtDNA	: DNA mitocondrial.
nDNA	: DNA nuclear.
NADH	: Nicotinamida adenin dinucleòtid en la seva forma reduïda
O ₂	: Oxigen.
RL	: Radicals lliures.
tRNA	: RNA de transferència.

ÍNDIX

AGRAÏMENTS	1
ABREVIATURES	5
ÍNDIX	7
INTRODUCCIÓ	9
1. Bases del funcionalisme mitocondrial	11
1.1. Ressenya històrica del descobriment del mitocondri	11
1.2. Descripció del mitocondri	12
1.3. Descripció de la cadena respiratòria mitocondrial	14
1.4. Fonaments de genètica mitocondrial	18
1.5. Malalties mitocondrials	19
2. El fum del tabac com a possible tòxic mitocondrial	22
3. Possibles mecanismes de toxicitat mitocondrial del fum del tabac	25
3.1. El monòxid de carboni com a tòxic mitocondrial	25
3.2. Possible paper dels components del fum del tabac en la disfunció mitocondrial.....	27
HIPÒTESI DE TREBALL	29
OBJECTIUS	33
PACIENTS I MÈTODE	37
1. Pacients	39
2. Mètode	40
3. Anàlisi de resultats	46

INVESTIGACIÓ I RESULTATS	47
1. <i>“Smoking disturbs mitochondrial respiratory chain function and enhances lipid peroxidation on human circulating lymphocytes”</i> Fumar altera el funcionalisme de la cadena respiratòria mitocondrial i augmenta la peroxidació lipídica en limfòcits perifèrics humans	49
2. <i>“Effect of smoking cessation on mitochondrial respiratory chain function”</i> Efecte del fet de deixar de fumar envers el funcionalisme de la cadena respiratòria mitocondrial	53
3. <i>“Reversible inhibition of mitochondrial complex IV activity in peripheral blood mononuclear cells following acute smoking”</i> Inhibició reversible de l’activitat del complex IV mitocondrial de mononuclears de sang perifèrica deguda a fumar de forma aguda	57
4. <i>“Análisis ex-vivo de la función mitocondrial en pacientes intoxicados por monóxido de carbono atendidos en urgencias”</i> Anàlisi ex–vivo de la funció mitocondrial en pacients intoxicats per monòxid de carboni atesos a urgències.....	61
5. <i>“Oxidative damage on lymphocyte membranes is increased in patients suffering from acute carbon monoxide poisoning”</i> El dany oxidatiu sobre membranes limfocitàries es troba augmentat en pacients intoxicats per monòxid de carboni	65
6. <i>“Carbon monoxide specifically inhibits cytochrome c oxidase of human mitochondrial respiratory chain”</i> El monòxid de carboni inhibeix específicament la citocrom c oxidasa de la cadena respiratòria mitocondrial humana	69
DISCUSIÓ CONJUNTA.....	73
RESUM I CONCLUSIONS	85
BIBLIOGRAFIA.....	89