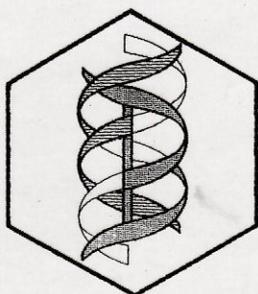
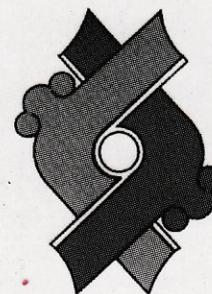


BEB 2001

BOLETÍN DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA



Órgano de información de la
**ASOCIACIÓN MEXICANA DE
PROFESORES DE BIOQUÍMICA, AC**



**SOCIEDAD MEXICANA DE
BIOQUÍMICA, AC**

Publicación incluida por el Centro de Información Científica y Humanística de la
Universidad Nacional Autónoma de México en la base de datos **PERIÓDICA**
(Índice de Revistas Latinoamericanas en Ciencias).

COMITÉ EDITORIAL

EDITORES FUNDADORES

ENRIQUE PIÑA GARZA

Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

GUILLERMO CARVAJAL SANDOVAL

Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias
e Instituto Politécnico Nacional

JESÚS MANUEL LEÓN CÁZARES

Facultad de Ciencias Naturales
Universidad Autónoma de Querétaro

SERGIO SÁNCHEZ ESQUIVEL

Instituto de Investigaciones Biomédicas
Universidad Nacional Autónoma de México

EDITORES

SOCORRO CONCEPCIÓN DURÁN VARGAS

Instituto de Investigaciones Biomédicas
Universidad Nacional Autónoma de México

MARCO ANTONIO JUÁREZ OROPEZA

Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

GRACIELA MEZA RUIZ

Instituto de Fisiología Celular
Universidad Nacional Autónoma de México

RAFAEL MORENO SÁNCHEZ

Instituto Nacional de Cardiología
"Dr. Ignacio Chávez"

ROSARIO ADELAIDA MUÑOZ CLARES

Facultad de Química
Universidad Nacional Autónoma de México

JORGE JOEL REYES MÉNDEZ

División de Ciencias Biológicas y de la Salud
Universidad Autónoma Metropolitana

EMILIO ROJAS DEL CASTILLO

Instituto de Investigaciones Biomédicas
Universidad Nacional Autónoma de México

ROCÍO SALCEDA SACANELLES

Instituto de Fisiología Celular
Universidad Nacional Autónoma de México

ALEJANDRO ZENTELLA DEHESA

Instituto de Fisiología Celular
Universidad Nacional Autónoma de México

EDITOR EN JEFE

JOSÉ VÍCTOR CALDERÓN SALINAS

Centro de Investigación y de Estudios Avanzados
Instituto Politécnico Nacional

COORDINADOR DE CORRESPONSALES

YOLANDA SALDAÑA BALMORI

Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

EDITORES ASOCIADOS

EDMUNDO CHÁVEZ COSÍO

Instituto Nacional de Cardiología "Dr Ignacio Chávez"

MARINA GAVILANES RUIZ

Facultad de Química
Universidad Nacional Autónoma de México

ELIZABETH LANGLEY McCARRON

Instituto de Investigaciones Biomédicas
Universidad Nacional Autónoma de México

JAIME MAS OLIVA

Instituto de Fisiología Celular
Universidad Nacional Autónoma de México

ASISTENTE EDITORIAL

MARIVEL ROJAS GARCÍA

Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

CORRESPONSALES

MARÍA DE LOS ANGELES BOFFILL CÁRDENAS

Facultad de Ciencias Médicas
Instituto Superior de Ciencias Médicas de Villa Clara, Cuba

ALMA LETICIA BORBOA OSUNA

Facultad de Medicina
Universidad Autónoma de Sinaloa

JOSÉ CARLOS GARCÍA PIÑEIRO

Instituto de Ciencias Básicas "Victoria de Girón"
Instituto Superior de Ciencias Médicas, La Habana, Cuba

GUADALUPE OLIVA

Facultad de Medicina
Universidad Autónoma de Tamaulipas, Matamoros, Tamps.

KATERINA LIRA RUÁN

Centro de Investigación sobre Fijación de Nitrógeno
Universidad Nacional Autónoma de México, Cuernavaca, Mor.

ARMANDO FRANCISCO VARGAS ALBORES

Biología Marina
Centro de Investigación en Alimentos y Desarrollo de Sonora

KARLA CARVAJAL AGUILERA
Instituto Nacional de Cardiología "Dr. Ignacio Chávez"

RAUL MIGUEL COVIAN
Instituto Nacional de Cardiología "Dr. Ignacio Chávez"

SILVIA DEVARAS RAMOS
Instituto Nacional de Cardiología "Dr. Ignacio Chávez"

JOSE EDGARDO ESCAMILLA MARVAN
Instituto de Fisiología Celular
Universidad Nacional Autónoma de México

DANIEL ALEJANDRO FERNÁNDEZ
Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

OSCAR FLORES HERRERA
Depto. de Bioquímica, Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

CECILIA GARCÍA PÉREZ
Depto. de Bioquímica, Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

CARLOS GÓMEZ LOJERO
Centro de Investigación y de Estudios Avanzados
Instituto Politécnico Nacional

LUIS GONZÁLEZ DE LA VARA
Centro de Investigación y de Estudios Avanzados
Instituto Politécnico Nacional

DIEGO GONZÁLEZ HALPHEN
Instituto de Fisiología Celular
Universidad Nacional Autónoma de México

RICARDO JASSO CHÁVEZ
Instituto Nacional de Cardiología "Dr. Ignacio Chávez"

ROLANDO HERNÁNDEZ MUÑOZ
Instituto de Fisiología Celular
Universidad Nacional Autónoma de México

IMELDA LÓPEZ VILLASEÑOR
Instituto de Investigaciones Biomédicas
Universidad Nacional Autónoma de México

HERMINIA LOZA TAVERA
Facultad de Química
Universidad Nacional Autónoma de México

BLAS LOTINA HENNSSEN
Facultad de Química
Universidad Nacional Autónoma de México

GUADALUPE MALDONADO MERCADO
Depto. de Bioquímica, Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

JOSE LUIS MOLINARI SORIANO
Instituto de Fisiología Celular
Universidad Nacional Autónoma de México

FERNANDO MONTIEL AGUIRRE
Facultad de Química
Universidad Nacional Autónoma de México

FERMÍN PACHECO MOISÉS
Instituto Nacional de Cardiología "Dr. Ignacio Chávez"

JUAN LUIS RENDÓN GÓMEZ
Depto. de Bioquímica, Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

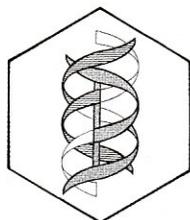
HORACIO REYES VIVAS
Instituto de Fisiología Celular
Universidad Nacional Autónoma de México

SARA RODRÍGUEZ ENRÍQUEZ
Instituto Nacional de Cardiología "Dr. Ignacio Chávez"

LUIS HUMBERTO SILVEIRA TORRE
Instituto Nacional de Cardiología "Dr. Ignacio Chávez"

MARÍA EUGENIA TORRES MARQUEZ
Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

SALVADOR URIBE CARVAJAL
Instituto de Fisiología Celular
Universidad Nacional Autónoma de México



Asociación Mexicana de
Profesores de Bioquímica, AC

Departamento de Bioquímica,
Facultad de Medicina,
UNAM



Facultad de Medicina,
UNAM

BOLETÍN DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA (BEB), publicación trimestral de la Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, AC. Correspondencia: Comité Editorial, Apartado Postal 70-281, Coyoacán, CP 04510 México, D F. Certificados de: Licitud de Título No 6703; Licitud de Contenido No 6989; No de expediente 1/432"92"/8443; Reserva al título en derecho de autor No 6703. Publicación incluida por el Centro de Información Científica y Humanística de la Universidad Nacional Autónoma de México en la base de datos **PERIÓDICA** (Índice de Revistas Latinoamericanas en Ciencias). Impresa en los talleres Editorial Uno, SA de CV, 1er Retorno de Correggio No 12, México 03720 DF; tiraje 1,500 ejemplares. Distribuidor: Servicio Postal Mexicano, Reg No PP09-0403; UNAM-Depto de Bioquímica y Facultad de Medicina.

El contenido de los artículos y las opiniones expresadas en ellos son responsabilidad de los autores y no reflejan necesariamente la del Comité Editorial.

EDITORIAL

"LA EDUCACIÓN CIENTÍFICA Y LA CONTROVERSIASOBRE EL SIDA. EL PELIGRO DE LA ANTICIENCIA"

Deseo iniciar este texto con una pregunta básica: ¿Cómo podemos cultivar la actitud científica? La institución más vital de la sociedad para desarrollar una apreciación por la actitud científica es la escuela. No es suficiente, sin embargo, para las instituciones educativas informar simplemente a la gente joven de los hechos o diseminar un cuerpo de conocimiento. La educación de tal clase puede ser nada más que aprendizaje rutinario o adoctrinación. Más bien, un propósito principal de la educación deberá ser desarrollar dentro de los individuos el uso de la inteligencia crítica y el escepticismo. No es suficiente hacer que los estudiantes memoricen una materia, amasen hechos, pasen exámenes o aún dominen una especialidad o profesión o sean entrenados como ciudadanos. Si hacemos eso y nada más, no hemos educado completamente; la teoría central es cultivar la habilidad de verificar experiencias, evaluar las hipótesis, evaluar los argumentos –en resumen– desarrollar una actitud de objetividad e imparcialidad. Es vital que los individuos desarrollen algún entendimiento de los criterios efectivos para juzgar estas afirmaciones. No me refiero solamente a nuestra habilidad de examinar afirmaciones de conocimiento acerca del mundo sino también de nuestra habilidad para desarrollar algunas características al apreciar juicios de valor y principios éticos. La meta de la educación deberá ser desarrollar personas reflexivas –escépticas aunque receptivas a nuevas ideas, siempre deseando examinar nuevas desviaciones del pensamiento, aunque insistiendo que sean probadas antes de ser aceptadas. El desarrollo de la educación y la ciencia en el mundo moderno es una maravilla que sostener, y deberíamos hacer cualquier cosa para fomentar su desarrollo. Pero hemos aprendido que un incremento en la suma del conocimiento por sí mismo no necesariamente derriba la superstición, el dogma, y la culpabilidad, porque estos son nutridos por otras fuentes en la psique humana. En los años recientes, las sociedades democráticas occidentales están siendo invadidas por diversas formas de irracionalismo, con frecuencia marcadamente anticientíficas y pseudocientíficas en carácter. Hay varias manifestaciones de esta nuevo asalto a la razón. Un buen ejemplo de esta tendencia es el aumento de la astrología, pero sólo representa la punta del iceberg. Porque si uno busca datos sobre el estado actual de las creencias, uno encuentra que gran número de gente está lista aparentemente para creer en una amplia variedad de cosas, sin pruebas suficientes. Desde el punto de vista del escéptico y el humanista científico, estos cultos no son más irracionales que los grupos religiosos ortodoxos. ¿Por

qué son las prédicas del más último de los gurúes, más insensatas que una deidad muerta y resucitada, José Smith y su viaje occidental, Mary Baker Eddy y la Ciencia Cristiana, la Teosofía, los Rosacruces, o la canonización de santos por supuestos milagros? Las religiones tradicionales violentan la credulidad tanto o más que las más nuevas y exóticas religiones importadas del Asia, pero los primeros han estado rondando más tiempo y son considerados parte del sistema social establecido. Lo que es aparente, es la tenaz resistencia de las creencias irracionales a través de la historia hasta el presente día –y a pesar de la revolución científica– y para muestra, The Kansas State Board of Education and the Colorado State Board of Education, que han mandado que los niños de esos estados no deben creer en la teoría de la evolución postulada por Darwin y Wallace, más de lo que creen en la teoría gravitatoria de Newton.

Todo esto es sintomático del rechazo actual de la razón y la objetividad. Mientras hace una década hubo un consenso general que al menos existían algunas reglas de evidencia, hoy día la gran existencia de criterios objetivos para juzgar afirmaciones verdaderas es seriamente cuestionados. Uno escucha una y otra vez que “una creencia es tan buena como la siguiente” y que hay una clase de “verdad subjetiva” inmune a la crítica o evidencia racionales. Uno aún encuentra proponentes de formas de subjetividad entre los filósofos de la ciencia, los cuales sostienen que las condiciones históricas o los factores psicológicos son bastante responsables de las revoluciones en el pensamiento científico.

Esto existe junto a otra disposición que está evidentemente incrementándose: una aversión a la cultura tecnológica misma. La ciencia y la tecnología son con frecuencia culpadas indiscriminadamente de la situación mundial actual. Oímos por todas partes acerca de los peligros de la tecnología, la destrucción de la ecología natural, la contaminación, la depredación de los recursos, los malos usos de la energía, la amenaza de las plantas de poder nuclear, etc. Muchos de estos intereses son legítimos, sin embargo, la postura crítica no es simplemente contra la tecnología sino contra la ciencia y investigación científica. Hay aquéllos de la derecha fundamentalista quienes todavía se oponen vehementemente, sobre bases éticas o religiosas, a la enseñanza de la teoría de la evolución, los cursos comparativos de estudios sociales, y la educación sexual.

Pero además, el científico es visto con frecuencia por algunos de la izquierda como una clase de demonio –si se ocupa de la experimentación humana o la modificación de la conducta, o si participa en la investigación genética. Y hay quienes de manera creciente opinan y consideran a los médicos y los psiquiatras como sumos sacerdotes malvados u hombres vudú.

Estamos confrontados hoy día con una forma de rectitud moral y anti-intelectualismo –con frecuencia bordeando la histeria– que enjuicia la ciencia como deshumanizante, destructiva de la libertad y el valor humanos. Esta actitud es paradójica, porque parece ocurrir más virulentamente en las sociedades afluentes, donde han sido logrados los más grandes avances de la investigación científica y la tecnología. ¿Deberíamos asumir que la revolución científica, que empezó en el siglo XVI, es continua? ¿O será oprimida por las fuerzas de la sinrazón? Sin embargo, el cuadro que estoy pintando no debe ser sobreestimado. Junto a los críticos de la ciencia están sus defensores. Y vastos recursos son invertidos en educación, investigaciones, organizaciones y publicaciones científicas. La ciencia todavía es bastante considerada por mucha gente.

Ciertamente, el hecho que la ciencia es esencial para nuestra civilización tecnológica está muy bien reconocido por algunos de los críticos de la ciencia –que me lleva incluso a otra dimensión del crecimiento de la irracionalidad: la proliferación de la pseudociencia–. Aquellos que no son tentados por lo oculto siempre pueden encontrar naves de los dioses, ovnis, triángulos de las Bermudas o continentes perdidos para seducirlos. Los nuevos profetas buscan tener sus teorías especulativas encubiertas por el manto de la legitimación científica; incluyen a von Däniken y aquellos asociados con la dienética, la cientología, y los recientes esfuerzos en desarrollar una “astrología científica”.

No estoy negando la constante necesidad de examinar la evidencia y mantener una mente abierta. Ciertamente, insistiría en que los científicos quieran investigar las afirmaciones de nuevos fenómenos. La ciencia no puede ser censuradora e intolerante, ni apartarse de los nuevos descubrimientos al hacer juicios que antecedan la investigación. Formas extremas de cientismo pueden ser tan dogmáticas como el subjetivismo. Sin embargo, hay una diferencia entre el uso cuidadoso de métodos de investigación por un lado, y la tendencia a generalizaciones apresuradas basadas en la evidencia insuficiente por el otro. Lamentablemente, también hay con demasiada frecuencia una tendencia de los crédulos en confiar en los datos más insuficientes y elaborar vastas conjeturas, o insistir que sus especulaciones han sido confirmadas concluyentemente, cuando no lo han sido.

En años recientes los medios de comunicación han aumentado en influencia. La imagen del científico es frecuentemente esbozada por los periodistas, novelistas y dramaturgos, no siempre por los mismos científicos y lo que

la ciencia es o hace ha sido a veces mal elaborado y se le ha dado un mal nombre. Cuestiones serias pueden ser levantadas acerca de la escena actual. ¿Es mayor el nivel de irracionalidad o menor el nivel de irracionalidad en tiempos anteriores, o el nivel de lo insensato ha permanecido medianamente constante en la actitud humana y sólo asumió diferentes formas? ¿Por qué persiste la irracionalidad, aún en las sociedades adelantadas? La persistencia de la irracionalidad en la cultura moderna revela algo acerca de la naturaleza peculiar de la especie humana. Hay una tendencia en el animal humano hacia la credulidad –esto es, una facilidad psicológica a aceptar creencias no probadas, a ser crédulo en el asentimiento.

Indudablemente hay individuos que se especializan en engañar a otros; proveen dioses falsos y servicios vacíos, pero sin duda hay también creyentes sinceros que se engañan así mismos que quieren creer en ideas sin la evidencia adecuada, y que buscan convertir a otros a sus concepciones equívocas. Lo que está en acción aquí no es el fraude consciente sino el autoengaño. La cosa curiosa es que, algunas veces si un psicótico se repite a sí mismo con la suficiente frecuencia, al tiempo otros llegan a creer y seguirlo. Además, si una falsedad es suficientemente exagerada, alguna gente está más apta para creerla. Además, el herético siempre se arriesga a ser quemado en la estaca, especialmente después que la nueva mitología llega a ser institucionalizada como la doctrina oficial.

En este sentido, una manifestación preocupante en nuestro tiempo son las teorías pseudocientíficas, las cuales son teorías puestas como científicas cuando no son científicas. Una teoría es científica cuando de ésta se pueden deducir predicciones empíricas las cuales pudieran encontrarse que son falsas. Esta cualidad de las teorías científicas fue llamada falsabilidad por Karl Popper. Una teoría pseudocientífica asegura ser científica, i.e., falsable, pero o la teoría en realidad no es falsable o ya ha sido falsada pero sus partidarios se niegan a aceptar que la teoría ha sido refutada.

Los pseudocientíficos dicen que basan sus teorías en evidencia empírica, y hasta llegan a usar algunos métodos de la ciencia, aunque su entendimiento de un experimento controlado es incuestionablemente incompetente. Muchos pseudocientíficos se deleitan de ser capaces de señalar la consistencia de sus teorías con hechos conocidos o con consecuencias previstas, pero no reconocen que tal consistencia no prueba nada. La consistencia de una teoría científica con los hechos es una condición necesaria pero no suficiente para que sea una buena teoría. Una teoría que es contrariada por los datos empíricos obviamente no es una muy buena teoría científica, pero de este hecho no se sigue que una teoría que sea consistente con los datos es por tanto una buena teoría. Por ejemplo, “la verdad de la hipótesis de que las plagas son debidas a malos espíritus no se establece de la correcta deducción de que se puede evitar la enfermedad manteniéndose alejado del alcance de los malos espíritus”.

Algunas de las características de los pseudocientíficos y las pseudociencias que más resaltan son:

1. La tendencia a proponer teorías puestas como científicas, pero que no pueden ser probadas empíricamente de ninguna manera significativa; es decir, la teoría es consistente con todo evento empírico concebible y ninguna predicción deducida de ella la puede mostrar falsa. O, la teoría es presentada en términos de entidades no empíricas. (Por ejemplo, la teoría de los engramas de L. Ron Hubbard).
2. El rechazo dogmático a abandonar una idea ante evidencia aplastante de que la idea es falsa, y el uso de hipótesis ad hoc para tratar de explicar las evidencias contrarias. (Por ejemplo, parapsicología).
3. El uso selectivo de los datos: la tendencia de poner atención sólo a las instancias positivas y de ignorar a las negativas, i.e., contar los aciertos e ignorar los errores. (Por ejemplo, biorritmos, rdomancia, parapsicología).
4. El uso de anécdotas personales como evidencia. (Por ejemplo, biorritmos, dianética, grafología, parapsicología).
5. La indiferencia a cerca de la inexistencia de evidencia que soporte la teoría. (Por ejemplo, dianética, Velikovsky).
6. La utilización de mitos o misterios antiguos para sustentar teorías que son usadas entonces para explicar los mitos o misterios. (Por ejemplo, creacionismo, Velikovsky, Däniken, teoría de los orígenes de la conciencia de Julian Jaynes).
7. Credulidad, especialmente de lo paranormal, sobrenatural o pretensiones extraterrestres. (Por ejemplo, creacionismo, parapsicología).

Quiero referirme a una polémica que lamentablemente ha llegado a los medios electrónicos y ante el riesgo que entraña la desinformación ante un problema tan serio como lo es el SIDA, retomo el tema, que aunque ha quedado sanjado entre la comunidad científica, al trascender hacia la comunidad no experta, podría llevar a malas interpretaciones y por lo tanto, conviene aclarar algunos de sus aspectos. Como sabemos, en los inicios de la década de los ochenta, el mundo vio nacer un nuevo icono del terror, expresado en cuatro letras enigmáticas, que pronto adquirieron una connotación mortal: SIDA, siglas de Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida. A la explosión de casos y muertes por esta enfermedad le siguió una explosión no menos epidémica de informaciones contradictorias, de tergiversaciones, de “interpretaciones”, y de opiniones sin fundamento. A medida que la investigación científica fue avanzando, el panorama comenzó a aclararse. Se trataba de una enfermedad infecciosa, que podía prevenirse, podía conseguirse un tratamiento y, eventualmente, una vacuna, la enfermedad es causada por un virus, y más concretamente, por un retrovirus. Todo esto, si bien no resultaba muy tranquilizador, al menos era comprensible. El agente causal de la enfermedad fue descubierto en 1983, y tras una sonada polémica, comenzó a denominarse Virus de la Inmunodeficiencia Humana (mejor conocido por sus iniciales en inglés: HIV). Pero, ¿es realmente el HIV la causa del Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida? La mayor parte de las personas que tienen algún conocimiento acerca de la enfermedad no lo pondrán en duda, pero muy

probablemente se verán en problemas si se les pregunta porque lo creen así. Y sin duda se sorprenderán si se les informa de que existe un grupo de disidentes (mas ruidoso que nutrido) que rechaza la hipótesis de que el HIV sea la causa del SIDA. Y que este grupo no está compuesto única ni fundamentalmente por los tradicionales devotos de las terapias alternativas, sino que forman en sus filas unos cuantos personajes cuyas credenciales académicas previas son inatacables. Haré un breve resumen del tema que nos ocupa.

Como era de esperarse, todo este apasionante debate no podía pasar desapercibido así como así para cierta gente sagaz. Y esa gente sagaz se presentó enseguida; me refiero a los manipuladores de energías ignotas, a los vendedores de cartílago de tiburón, de melatonina, de hierbas chinas y de otras inutilidades por el estilo, detractores a ultranza de la medicina oficial.

Por supuesto, para los practicantes de las terapias complementarias de cualquier pelaje, el repetido reclamo de Peter Duesberg sobre que el AZT es “SIDA por prescripción” no podía dejar de sonar como música celestial para sus oídos, siempre atentos según acostumbran a cualquier rumor que les permita atacar a la agonizante y malsana llamada por ellos medicina oficial. Y la postura extrema de los negadores de la existencia del HIV no pudo venirles mejor: la medicina oficial no solo suministra medicamentos que matan en vez de curar, sino que ni siquiera existe aquello contra lo que se indican. ¿Acaso es concebible mayor perversidad?

El doctor Peter Duesberg es un notable virología. Nacido en Alemania, que emigró a los Estados Unidos en 1964. Profesor de Biología Celular y Molecular en la Universidad de California, en 1970 había sido el codescubridor de las bases genéticas de la acción carcinogénica del retrovirus del sarcoma de Rous. En 1977 contribuyó a descifrar la estructura genética de los retrovirus. Todos estos trabajos lo habían hecho acreedor del premio del NIH Outstanding Investigator Grant, que le otorgaba el privilegio de dedicarse libremente por siete años a las investigaciones de su interés sin tener que renovar las solicitudes de fondos. Lo menos que se puede decir de todo esto es que resulta impresionante. Con semejantes credenciales era obvio que sus opiniones sobre el problema HIV-SIDA no dejarían de llamar la atención, como en efecto ocurrió.

Debo aclarar que una porción de los llamados en algunos medios “herejes del SIDA” son individuos cuyos referencias académicas son intachables; ahí encontramos a un Harvey Bialy, a un Walter Gilbert, al mismo Peter Duesberg, incluso a un Kary Mullis, y a muchas decenas más. Ya se han mencionado los antecedentes de Peter Duesberg: de haber continuado en su línea de investigación, muy probablemente habría terminado por recibir el premio Nobel. Esto no implica que no puedan estar equivocados (y de hecho, todo parece indicar, lamentablemente para ellos, que lo están). Pero también

encontramos otra clase de gente, incluyendo autodenominados “expertos” que no son tales, e individuos disfrazados de “herejes del SIDA” que en realidad son herejes respecto cualquier forma de pensamiento racional y organizado. Naturalmente, la presencia en el debate de esta clase de elementos no favorece en nada la repetida solicitud de los heréticos ortodoxos de que la comunidad científica inicie una discusión crítica respecto al rol del HIV en el SIDA; en todo caso, lo que hace es desnaturalizarlo. Por continuidad se asimilan los argumentos (buenos o malos) de los herejes a las especulaciones perfectamente gratuitas del gremio de los alternativos. Por supuesto, los heréticos ganan un foro para sus ideas (dada la repercusión desmedida que tienen en los medios de comunicación las ridiculeces paracientíficas) pero pierden credibilidad ante la comunidad científica y ante el público bien informado.

Veamos algunos ejemplos de estos discutibles herejes. El Dr. Heinrich Kremer se nos presenta como “exdirector médico de una clínica de drogodependencia”, posición de la que hubo de dimitir debido a sus puntos de vista sobre el SIDA (por supuesto). Pues bien, el Dr. Kremer tiene algunas cosas interesantes que contarnos. Ha descubierto que el SIDA es ocasionado por la lesión mitocondrial que produce el uso del Trimetropim-sulfametoxazol o cotrimazol, combinación de antimicrobianos de amplísimo uso a nivel mundial (sus componentes inhiben pasos sucesivos del metabolismo del ácido fólico). Demás está decirlo, el apoyo documental a esta brillante observación es inexistente (por lo visto, es algo que simplemente se le ocurrió). Por supuesto, los homosexuales comenzaron a tomarlo consuetudinariamente y sus mitocondrias se dañaron, por lo que terminaron enfermando. A partir de aquí el Dr. Kremer desarrolla la típica teoría conspiranoica: desde altas instancias gubernamentales y de la industria farmacéutica se decidió inventar la Operación SIDA para ocultar la verdad; según parece, en la génesis de esta operación estuvo implicado nada menos que el entonces vicepresidente de los Estados Unidos, George Bush. Por lo visto, este solo fue el inicio, pues posteriormente alguien decidió seguir sacándole provecho a la situación y comenzaron a aparecer los dañinos antirretrovirales. ¿Y que hay respecto a los hemofílicos? Ellos no toman cotrimazol rutinariamente, y por lo tanto, no deberían enfermar. Pero el Dr. Kremer también tiene su respuesta a mano: es porque recibieron sangre con proteínas contaminadas. ¿Con que se contaminaron? Pues eso no se sabe (presuntamente no fue con el HIV). Debemos señalar aquí que los argumentos del Dr. Heinrich Kremer no son más que una burda simplificación de los de Duesberg. Pero aún hay más: después de darnos todas estas razones supuestamente científicas, el Dr. Kremer nos ofrece una luz de esperanza: en lugar de los nocivos inhibidores artificiales de las proteasas, se deben tomar productos que ayuden a recuperar el funcionamiento correcto de las mitocondrias como la coenzima Q-10 y Padma-28 (un producto de la fitoterapia tibetana); también resultan útiles el condroitinsulfato y el agar. Por no hablar de la melatonina.

Stefan Lanka es otro de los representantes, quien siempre se nos presenta como virólogo y genetista alemán, portavoz de REGIMED (Research Group in Investigative Medicine and Journalism); al Dr. Lanka sus credenciales académicas parecen aportarle, hasta cierto punto, alguna autoridad. Afirma que la ingeniería genética produce daños masivos en medicina, incluyendo en esto el uso de insulina recombinante (?), así como en la agricultura y la ganadería (?), que los antibióticos dañan la actividad celular y la formación de la energía y del material genético (?) y que no existen los virus de las Hepatitis B y C (???). Semejante colección de insensateces echa por tierra cualquier credibilidad que pudiéramos atribuirle a este investigador.

Otros no intentan ni siquiera escudarse tras credenciales académicas mas o menos convencionales. El personaje más ilustrativo de esta tendencia es el Dr. Ryke Geerd Hamer, autor de la “Ley de Hierro del Cáncer”, descubridor de los no menos imaginarios Focos de Hamer y del Síndrome Dirk Hamer, y actualmente en prisión por infracciones a la Ley de la práctica médica. No es este el lugar para detallar las extensas y enrevesadas ideas de Hamer sobre el SIDA, que no son otra cosa que una heterogénea mezcla de reinterpretaciones y plagios de los argumentos de Duesberg con la Ley de Hierro. Según parece, Hamer considera que el SIDA es conflicto de desvalorización consigo mismo, ocasionado por el diagnóstico de un paciente como seropositivo (“¡sólo se convierte en víctima del S.I.D.A. quien sabe que es seropositivo o cree serlo!” - afirma). Por lo visto, Hamer es el que ha ido más lejos al plantearse la etiología del SIDA; la causa no es un virus, sino el mismo diagnóstico (bueno, pero esto no es tampoco original; el grupo de Reappraising AIDS ya había hablado del “terror psicosomático inspirado por un diagnóstico de seropositividad al HIV”). Más tarde, la perversa medicina oficial se encargará de liquidar al paciente por medio de sus pócimas nocivas (idea, por otra parte, nada nueva entre los devotos del alternativismo). ¿Qué tratamiento ofrece Hamer? Por supuesto, la “Nueva Medicina”, inventada por él mismo. La supuesta ayuda de estos personajes no hace sino caricaturizar la postura de los auténticos disidentes. Y es de prever que a corto plazo, de mantenerse la tendencia actual, lleguen incluso a convertirse en mayoría. Con lo que algo que comenzó como una lucha por un debate científico abierto terminará por convertirse en uno más de los grandes mitos de las pseudomedicinas.

¿Existe alguna posibilidad de que Peter Duesberg y los demás herejes estén en lo cierto cuando afirman que la “hipótesis” HIV/SIDA es errónea? Es muy dudoso. La evidencia acumulada tras dieciocho años de investigaciones está, en general, en contra de esa posición.

La evidencia epidemiológica respalda con mucha más fuerza la etiología infecciosa que la tóxica; para hacer encajar a esta última hay que apelar a argumentos forzados, como ocurre con las diferentes “soluciones” que se ofrecen para cada grupo de riesgo en particular: los homosexuales por los nitritos de amilo, los drogadictos intravenosos por el

abuso de fármacos, los hemofílicos por la inmunosupresión por las transfusiones, el SIDA infantil por las madres adictas. Y lo peor es que ninguna de estas propuestas se sustenta cuando se estudian en profundidad, empezando por su inconsistencia epidemiológica.

El hecho es que aparece una nueva enfermedad, y poco después se descubre un virus completamente nuevo. El virus solo afecta al 0,3 % de la población, pero dentro de ese mínimo porcentaje se encuentran todos los casos que muestran un patrón inmunológico y un espectro clínico característicos. El virus se aísla, se cultiva, se clona y se secuencian; tres laboratoristas se inoculan accidentalmente con él y enferman. La enfermedad se transmite por vía sanguínea, pero solo si el donante está infectado por el virus. Mujeres heterosexuales sin ningún factor de riesgo tóxico enferman al mantener relaciones sexuales con un infectado. Hijos de madres con infección por el virus desarrollan también la enfermedad. Claro que ha habido errores y precipitaciones en los organismos gubernamentales y en los medios científicos, empezando por la forma en que se dio a conocer el supuesto descubrimiento del virus por Gallo, en una aparatosa rueda de prensa, sin dar lugar a que otros investigadores contrastaran previamente los hallazgos o que los sometieran a revisión crítica. Por no hablar de las absurdas expectativas que se crearon tras este anuncio, haciendo parecer que una vacuna o una cura estaban prácticamente al alcance de la mano. También la apresurada aprobación del AZT sin un adecuado respaldo experimental, quizás como un modo de intentar demostrar que al fin y al cabo se estaba haciendo algo y cediendo a la presión del momento.

Pero nada de esto influye particularmente para que Duesberg tenga razón. Solo demuestra que los hombres de ciencia son falibles (cosa sabida desde hace mucho) y en especial cuando comienzan a hacer ciencia en base a consideraciones políticas o de relaciones públicas.

La posición de los detractores trasciende el mero debate científico o académico. Nadie puede criticar que se exija un controversia abierta sobre cualquier tema, pero existen peligros muy reales en este caso en particular. Decir que el SIDA no es una enfermedad infecciosa o que el HIV no existe puede echar por tierra todos los esfuerzos de prevención y crear una falsa sensación de seguridad. Y el precio a pagar sería muy alto.

Faltarían sin duda muchas cosas que decir. No falta quien afirme (sin el mas mínimo apoyo documental) que el HIV fue diseñado en un laboratorio durante la guerra fría, con la finalidad de servir de arma biológica. O que es un castigo divino a las prácticas homosexuales y demás conductas pecaminosas. El SIDA da para todo, en especial si se es devoto de las teorías sobre conspiraciones y se carece de algunos conocimientos elementales sobre el tema. Es indudable que existe gente capaz de creer en ideas tan absurdas como estas, como es capaz de creer en las fantasías de los ovnis, en el biorritmo y en las pirámides. Pero ese es otro tema.

Jorge Joel Reyes Méndez
 Universidad Autónoma Metropolitana
 Unidad Xochimilco
 División de Ciencias Biológicas y de la Salud

EL COMPLEJO III: EL CITOCROMO bc_1 DE LA CADENA RESPIRATORIA

Juan Pablo Pardo, Federico Martínez, Juan Luis Rendón Gómez y Oscar Flores-Herrera. Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, UNAM, Apdo. Postal 70-159, 04510, México, D.F. Teléfono: 5623-25-10. Fax: 5616-24-19; Correo electrónico: pardov@servidor.unam.mx.

Recibido: 5 de octubre de 1999. Aceptado: 12 de diciembre de 2000.

RESUMEN

El complejo III o citocromo bc_1 , acopla la transferencia de dos electrones del ubiquinol a dos moléculas de citocromo c , con la translocación de dos H^+ del lado N (negativo) de la membrana al lado P (positivo). En algunas bacterias, el complejo III está formado por tres proteínas: el citocromo b , el citocromo c_1 , y la proteína Rieske. En las mitocondrias de mamíferos, el número total de subunidades del complejo del citocromo bc_1 se incrementa a once. Para su funcionamiento requiere de la presencia de cuatro grupos redox (un centro fierro-azufre, dos grupos hemo del tipo b y un hemo c) distribuidos en tres subunidades. El modelo que explica el bombeo de protones a través de la membrana y el flujo de electrones en el complejo bc_1 se conoce como ciclo Q.

PALABRAS CLAVE: Complejo III, citocromo b , citocromo c , ciclo Q.

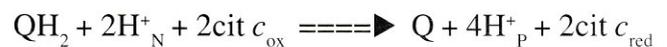
ABSTRACT

Complex III or cytochrome bc_1 couples the transfer of two electrons from ubiquinol to two molecules of cytochrome c with the translocation of two H^+ across the membrane. In some bacteria, complex III is formed by only three proteins: cytochrome b , cytochrome c_1 and the Rieske protein. In mammalian mitochondria the total number of subunits in complex III increases to eleven. To function properly, complex III requires the presence of four redox groups: an iron-sulfur center, two heme b groups and a heme c group distributed among the three essential subunits. The pumping of protons across the membrane and the electron flow inside the complex can be explained by the Q cycle.

KEY WORDS: Complex III, cytochrome b , cytochrome c , Q cycle.

INTRODUCCIÓN

El complejo bc_1 cataliza la transferencia de dos electrones del ubiquinol a dos moléculas de citocromo c , como se ve en la siguiente ecuación:



La reacción de oxidorreducción se acopla al bombeo de dos protones del lado negativo de la membrana al lado positivo (H^+ vectoriales), y la liberación de otros dos H^+ que provienen de la reacción de oxidorreducción del ubiquinol (H^+ escalares) (1, 2).

En algunas bacterias, como *Paracoccus denitrificans*, el complejo III está formado por 3 proteínas de membrana que constituyen la unidad funcional mínima (Fig. 1) (2). En contraste, además de las tres subunidades hidrofóbicas que tienen homología con las de bacteria, en las mitocondrias hay 8 subunidades adicionales, cuya función probablemente sea de tipo estructural (3). Independientemente del número de cadenas polipeptídicas que forman al complejo III, éste tiene cuatro grupos redox distribuidos en las tres subunidades hidrofóbicas que participan en la transferencia de los electrones (Fig. 1) (2, 3).

Una de las subunidades, el citocromo b , tiene dos hemo b unidos en forma no covalente; uno de éstos, el b -560 o b_H , tiene un alto potencial redox ($E_m = +40$ mV) y se encuentra cerca del lado N (negativo) de la membrana, mientras que el otro grupo, el b -566 o b_L , es de bajo potencial ($E_m = -90$ mV) y se localiza hacia el lado P (positivo) de la membrana (3, 4). Esta diferencia en los potenciales redox facilita el transporte de electrones del citocromo b -566 al b -560, a pesar de que existe un potencial de membrana que se opone a este movimiento (4). Los hemos b_L y b_H están unidos a histidinas y el plano de cada grupo hemo está orientado en forma perpendicular al plano de la

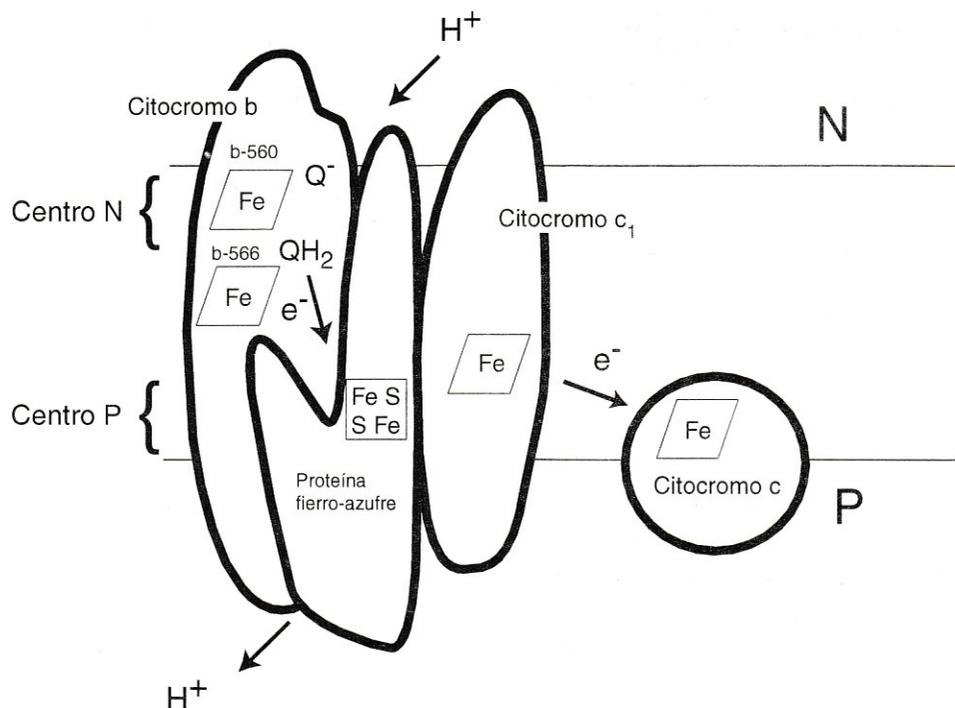


Figura 1. Esquema del complejo III de *Paracoccus denitrificans*. (Figura tomada de la referencia 2).

membrana (3). El citocromo *b* es una proteína membranal con ocho segmentos transmembranales, los cuales tienen una estructura de alfa hélice (3).

La otra subunidad corresponde al citocromo *c*₁, con un hemo *c* que está unido covalentemente a dos residuos de cisteína (Cis-37 y Cis-40) y cuyo hierro está coordinado al nitrógeno N3 de un residuo de histidina (His-41) y al átomo de azufre de un residuo de metionina (Met-60) (3). El citocromo *c*₁ se encuentra en el lado P de la membrana (espacio intermembranal), unido por medio de un segmento transmembranal en la región carboxilo terminal, y con el hemo *c* a nivel de la superficie de la membrana (3).

Finalmente, la última subunidad con un grupo redox es una proteína hierro-azufre, llamada proteína Rieske, que contiene el centro binuclear [2Fe-2S] unido a los átomos de azufre de dos cisteínas y a los átomos de nitrógeno de dos histidinas (3). La proteína Rieske está anclada a la membrana con un cruce transmembranal en la región amino terminal e interactúa con el citocromo *b* y con el citocromo *c*₁ por medio de interacciones hidrofóbicas (3).

EL CICLO Q

El ciclo Q que se muestra en la figura 2 explica la estequiometría entre el transporte de electrones y el bombeo de H⁺ a través de la membrana durante la reacción catalizada por el complejo III, así como la trayectoria que siguen estos electrones y H⁺ (5). El ciclo se inicia con la oxidación del ubiquinol en el sitio P (también llamado sitio Q_o), de tal manera que un electrón se transfiere a la proteína Rieske, dejando a la semiquinona SQ (Q_p⁻) en el sitio P y permitiendo que se transfieran dos H⁺ al lado P de la membrana (5).

De la proteína Rieske, el electrón se transporta primero al citocromo *c*₁ y luego al citocromo *c*. Por otro lado, el electrón de la semiquinona que se encuentra en el sitio P pasa al hemo *b*-566 de bajo potencial ($E_m = -90$ mV) y luego al hemo *b*-560 de alto potencial ($E_m = 40$ mV), con lo cual se produce una molécula de quinona (Q) que se incorpora a la poza de quinonas en la membrana (4, 5). En el sitio N (o sitio Q_i) el hemo *b*-560 reduce a la ubiquinona a SQ (Q_n⁻). Para cerrar el ciclo, otra molécula de ubiquinol se oxida en el sitio P, con el resultado de que una vez más se forma una SQ en el sitio P (Q_p⁻), se transfieren dos protones al lado positivo de la

membrana y un electrón viaja a la proteína Rieske, al citocromo c_1 y finalmente al citocromo c . El electrón de la SQ viaja primero al hemo b -566, después al b -560 y finalmente reduce a la semiubiquinona que se encuentra en el sitio N (Q_n^-). En esta última etapa de reducción se toman $2 H^+$ del lado N de la membrana para producir una molécula de ubiquinol, con lo cual se completa el ciclo Q (5). El resultado neto es la oxidación de una molécula de ubiquinol, la reducción de dos moléculas de citocromo c , la aparición de cuatro H^+ en el lado positivo de la membrana y la desaparición de $2 H^+$ del lado negativo (5). Debido a que se bombean dos H^+ del lado N de la membrana al lado P, se genera un gradiente de potencial electroquímico de H^+ a través de la membrana, sin que intervenga un canal de H^+ propiamente dicho (1, 4-6).

Un punto importante del ciclo Q es que la oxidación del ubiquinol ocurre en el sitio P, mientras que la reducción de la SQ se lleva a cabo en el lado opuesto de la membrana, en el sitio N, por lo que las SQs que se producen en ambos sitios tienen propiedades fisicoquímicas diferentes. Basta decir que la SQ en el sitio N es mucho más estable que la del sitio P (4, 5).

El ciclo Q se ha confirmado por medio de la estructura cristalográfica del complejo (3), a través de

varias mutaciones dirigidas (7, 8) y del uso de inhibidores (5). Una familia de inhibidores, representada por el mixotiazol, la estigmatelina, la mucina y el undecil-hidroxi-dioxi-benzotiazol (UHDBT) interactúan en el sitio P y bloquean la oxidación del quinol (Fig. 2). Otra familia, que incluye a la antimicina y al 2-N-heptil-4-hidroxiquinolina-N-óxido (HQNO) bloquean la reducción de la quinona en el sitio N.

EL CAMBIO CONFORMACIONAL DE LA PROTEÍNA RIESKE

Uno de los puntos más importantes en el ciclo Q es la bifurcación del flujo de los electrones que se lleva a cabo en el sitio P, en donde el ubiquinol, con un potencial redox de 60 mV, cede un electrón a la proteína Rieske ($E_m = +280$ mV) y se transforma en una SQ, que a su vez transferirá el otro electrón al hemo b -566 ($E_m = -95$ mV). Este es el paso en el que se lleva a cabo la conversión de energía (4, 9). Asimismo, la proteína hierro-azufre se oxida al ceder el electrón al citocromo c_1 ($E_m = +290$ mV). Si se comparan los potenciales de reducción de la SQ en el sitio P (-160 mV) y de la proteína hierro-azufre ($+280$ mV), no se explica por qué el electrón de la SQ no viaja a la proteína hierro-azufre. Se ha sugerido que este fenómeno radica en un cambio conformacional que tiene la proteína Rieske durante el proceso de oxido-

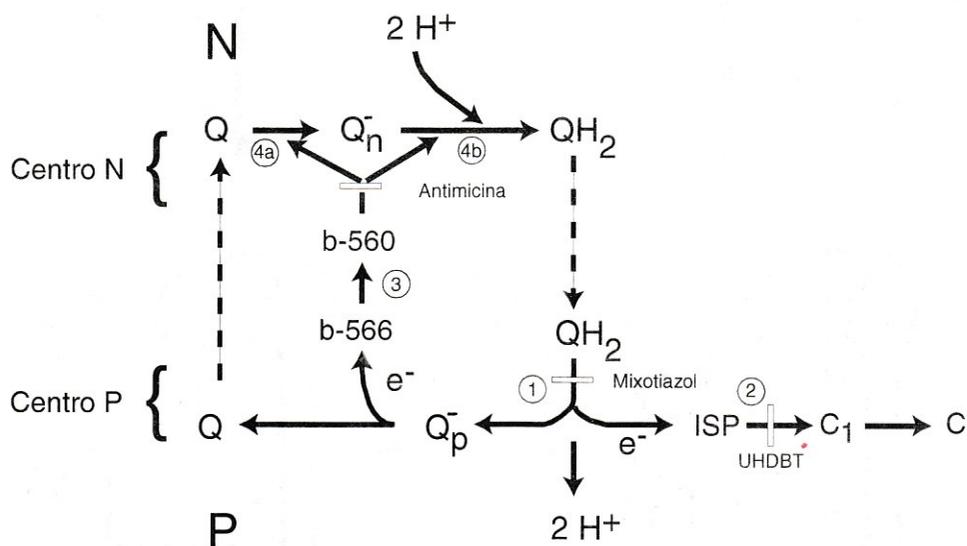


Figura 2. El ciclo de la coenzima Q. Este modelo describe el funcionamiento del complejo III. Se muestran los centros N y P, en donde se producen las semiquinonas Q_n^- y Q_p^- . La antimicina se une al sitio N, mientras que el mixotiazol interactúa con el sitio P. El ciclo Q describe la trayectoria que siguen los electrones en los diferentes centros redox del complejo III, así como el mecanismo de la translocación de protones a través de la membrana. (Figura tomada de la referencia 5).

reducción (4, 10). Como se observa en la figura 3, la proteína Rieske puede adoptar dos conformaciones, la c_1 y la b . La reducción del centro hierro-azufre en la proteína Rieske induce una transición conformacional que lleva a la proteína a interactuar con el citocromo c_1 (conformación c_1) y la aleja del sitio P, que ahora contiene a la SQ. Debido a este movimiento, se pierde la ruta que conecta a la proteína hierro-azufre con el sitio P. En la siguiente etapa, la proteína Rieske cede su electrón al citocromo c_1 y la SQ al hemo b_L . Hasta este punto, la proteína hierro-azufre se mantiene en la posición c_1 . Se ha propuesto que quien induce el cambio conformacional de la proteína Rieske hacia la

conformación b es la transferencia del electrón del hemo b_L al hemo b_H (4, 10) o la transferencia del electrón del hemo b_H al sitio Q_i (6). Otra posibilidad es que el movimiento de la proteína Rieske sea un proceso de difusión pasiva (11); en este caso, debido a las propiedades termodinámicas de los componentes que interactúan en el sitio Q_o (12), la transferencia del electrón de la SQ al hemo b_L es un paso esencial para que se lleve a cabo la transferencia del electrón de la proteína Rieske al citocromo c_1 (9, 13). Como se mencionó, en la última etapa el hemo b_H se oxida por una Q o SQ en el sitio N y el citocromo c_1 cede su electrón al citocromo c (4, 5).

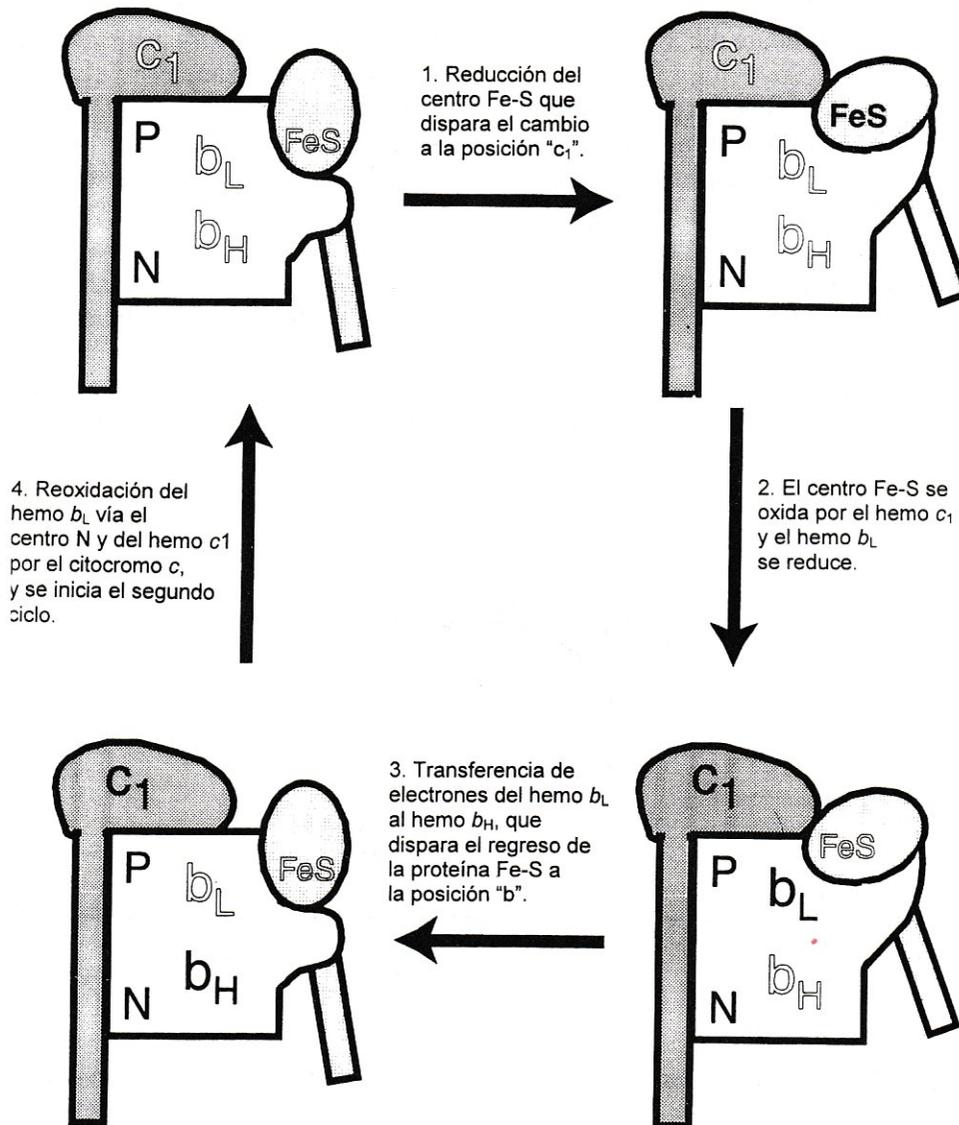


Figura 3. Modelo de dos estados para explicar la bifurcación del flujo de electrones en el sitio P. De acuerdo con este modelo, la proteína Rieske puede adoptar dos conformaciones, la c_1 y la b (Figura tomada de la referencia 4).

EL MODELO DE TRES ESTADOS

Este modelo incluye tres diferentes estados conformacionales para la proteína Rieske, y se propuso con base en las estructuras cristalinas del complejo bc_1 obtenidas a partir de cuatro diferentes cristales (14). En ellas, el dominio extrínseco de la proteína Rieske se encuentra en tres posiciones:

- La posición "c", en donde el centro hierro-azufre [2Fe-2S] está cerca del hemo c_1 .
- La posición "b", con el centro [2Fe-2S] próximo al citocromo b .
- La posición intermedia, en donde el centro [2Fe-2S] está entre la posición "c" y la "b" (Fig. 4) (3, 14).

De acuerdo con este modelo, antes de que las quinonas se unan al complejo III, la proteína Rieske se encuentra en la posición intermedia (Fig. 5, A). El ubiquinol (QH_2) se une al sitio de la quinona (Q_p) en el citocromo b (Fig. 5, B) y posteriormente se des-

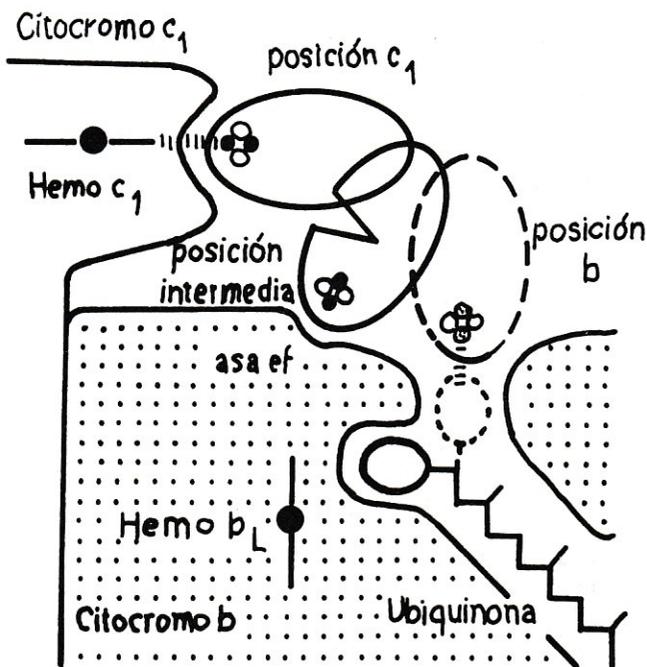


Figura 4. Esquema de las tres diferentes posiciones del dominio extrínseco de la proteína Rieske. Se observa que la región globular de la proteína hierro-azufre puede adoptar las siguientes tres posiciones: la posición "c", la intermedia y la posición "b". En la posición "c" el centro [2Fe-2S] se encuentra cerca del hemo c_1 , mientras que en la posición "b" está cerca del citocromo b . En la posición intermedia la región globular se encuentra entre la posición "c" y la "b" (Figura tomada de la referencia 3).

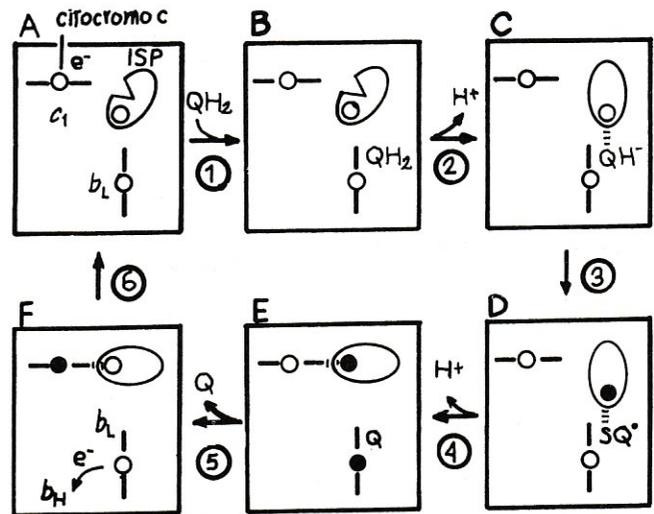


Figura 5. Modelo de tres estados para la oxidación del ubiquinol en el sitio Q_p del complejo bc_1 . A) La proteína Rieske se encuentra en la posición intermedia. B) El ubiquinol (QH_2) se une al sitio de la quinona (Q_p) en el citocromo b . C) El ubiquinol se desprotona y la proteína Rieske cambia hacia la posición "b". D) El centro [2Fe-2S] se reduce y se forma la semiquinona, la cual estabiliza a la proteína Rieske en la posición "b". E) Se transfiere el electrón de la semiquinona al hemo b_L y la proteína Rieske se mueve hacia la conformación "c". F) Se libera la quinona y el electrón de la proteína Rieske pasa al citocromo c_1 . Finalmente, el ciclo se cierra con la transferencia del electrón del hemo b_L al hemo b_H y del electrón del citocromo c_1 al citocromo c . Con esto, la proteína Rieske vuelve a la posición intermedia (Figura tomada de la referencia 3).

protona (Fig. 5, C). Como consecuencia de la desprotonación del ubiquinol se promueve el movimiento de la proteína Rieske hacia la posición "b", con el centro [2Fe-2S] en estrecha proximidad con el QH_2 desprotonado (Fig. 5, C), lo cual favorece la transferencia del electrón del QH_2 a la proteína hierro-azufre (Fig. 5, D). Por tanto, la desprotonación del QH_2 es un paso importante en la oxidación del QH_2 . La SQ que se produce interactúa fuertemente con el centro [2Fe-2S] reducido, de tal manera que este último permanece fijo en la posición "b". La transferencia del electrón de la SQ al hemo b_L produce el movimiento de la proteína Rieske hacia la conformación c_1 (Fig. 5, E), lo cual permite la transferencia del electrón al hemo c_1 . En el siguiente paso se libera la Q (Fig. 5, F) y el electrón de la proteína Rieske pasa al hemo c_1 . Finalmente, con la transferencia del electrón del hemo b_L al hemo b_H y del citocromo c_1 al citocromo c , la proteína Rieske pasa a la posición intermedia (Fig. 6, A) (3, 14).

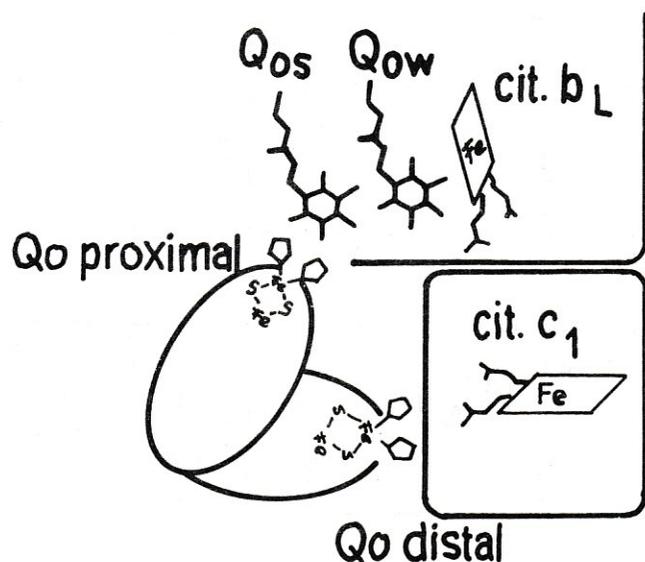


Figura 6. Modelo de dos quinonas en el sitio Q_o. Según este modelo, el sitio Q_o del complejo III está formado por dos dominios, Q_{os} y Q_{ow}. La quinona en el dominio Q_{os} se encuentra fuertemente unida al complejo, a diferencia de la quinona en el dominio Q_{ow}, que está unida débilmente y que se encuentra en equilibrio con la poza de quinonas en la membrana. La quinona en el sitio Q_{os} está cerca del centro [2Fe-2S] de la proteína Rieske, mientras que la quinona en el sitio Q_{ow} está cerca del grupo hemo b_L (Figura tomada de la referencia 13).

LA PRESENCIA DE DOS QUINONAS EN EL SITIO Q_o

Hay evidencias experimentales de que el sitio Q_o contiene dos quinonas, una unida fuertemente (Q_{os}), que se intercambia muy lentamente con la poza de quinonas en la membrana, y la otra unida débilmente (Q_{ow}), y que se encuentra en equilibrio con la poza de quinonas (Fig. 6) (9, 13). Estas dos quinonas definen dos dominios del sitio Q_o. Una característica estructural de este sistema es que la quinona que se une al dominio Q_{ow} está cerca del hemo b_L, mientras que la quinona en el dominio Q_{os} está próxima al centro [2Fe-2S] de la proteína Rieske (9, 13). Aún más, estos dos dominios interactúan en forma diferente con los inhibidores (9, 13). Por ejemplo, la estigmatelina se une al subsitio Q_{os}, mientras que el MOA-estilbena interactúa con el subsitio Q_{ow} (14). De acuerdo con Dutton y colaboradores (13), al entrar el QH₂ al dominio Q_{ow} reduce a la Q en el sitio Q_{os} y al hemo b_L. La semiquinona en el sitio Q_{os} sería la encargada de ceder el electrón a la proteína Rieske. De esta manera, la Q en el dominio Q_{ow} se comporta como un sustrato, que sale y entra constantemente del sitio activo, mientras que la quinona en el dominio Q_{os} fun-

Pardo J P, Martínez F, Rendón Gómez J L y Flores-Herrera O

ciona como un cofactor catalítico o como un grupo prostético (13).

AGRADECIMIENTOS

Los autores desean hacer un agradecimiento por el apoyo que recibieron de la UNAM a través de la DGAPA (IN200897 para JPP; IN202496 e IN200399 para FM) y del CONACyT (26096M para FM).

REFERENCIAS

1. Yu C, Xia D, Kim H, Deisenhofer J, Zhang L, Kachurin AM y Yu L (1998) Structural basis of functions of the mitochondrial cytochrome bc₁ complex. *Biochim Biophys Acta* 1365: 151-158.
2. Trumppower BL (1991) The three-subunit cytochrome bc₁ complex of *Paracoccus denitrificans*. Its physiological function, structure, and mechanism of electron transfer and energy transduction. *J Bioenerg Biomemb* 23: 241-255.
3. Iwata S, Lee JW, Okada K, Lee JK, Iwata M, Rasmussen B, Link TA, Ramaswamy S y Jap BK (1998) Complete structure of the II-subunit bovine mitochondrial cytochrome bc₁ complex. *Science* 281:64-71.
4. Brandt U (1998) The chemistry and mechanics of ubihydroquinone oxidation at center P (Q_o) of the cytochrome bc₁ complex. *Biochim Biophys Acta* 1365: 261-268.
5. Trumppower BL (1990) The protonmotive Q Cycle. *J Biol Chem* 265: 11409-11412.
6. Berry EA, Zhang Z, Huang LS y Kim SH (1999) Structures of the quinone-binding sites in bc complexes: functional implications. *Biochem Soc Trans* 27: 565-572.
7. Gray KA, Dutton PL y Daldal F (1994) Requirement of histidine 217 for ubihydroquinone reductase activity (Q_i site) in the cytochrome bc₁ complex. *Biochemistry* 33: 723-733.
8. Mather MW, Yu L y Yu CA (1995) The involvement of threonine 160 of cytochrome b of *Rhodobacter sphaeroides* cytochrome bc₁ complex in quinone binding and interaction with subunit IV. *J Biol Chem* 270: 28668-28675.
9. Sharp RE, Palmitessa A, Gibney BR, Moser CC y Dutton PL (1999) Probing the ubihydroquinone primary energy conversion site in *the Rhodobacter capsulatus* cytochrome bc₁ complex. *Biochem Soc Trans* 27: 572-576.
10. Brandt U (1996) Bifurcated ubihydroquinone oxidation in the cytochrome bc₁ complex by proton-gated charge transfer. *FEBS Lett* 387: 1-6.

11. **Brandt U (1999) Control of ubiquinol oxidation at center P (Q_o) of the cytochrome *bc*₁ complex.** J Bioenerg Biomembr 31: 243-250.
12. **Junemann S, Heathcote P y Rich PR (1998) On the mechanism of quinol oxidation in the *bc*₁ complex.** J Biol Chem 273: 21603-21607.
13. **Sharp RE, Moser CC, Gibney BR y Dutton PL (1999) Primary steps in the energy conversion reaction of the cytochrome *bc*₁ complex Q_o site.** J Bioenerg Biomembr 31: 225-233.
14. **Iwata M, Bjorkman J y Iwata S (1999) Conformational change of the Rieske [2Fe-2S] protein in cytochrome *bc*₁ complex.** J Bioenerg Biomembr 31: 169-175.

EL COMPLEJO IV O CITOCROMO C OXIDASA DE LA CADENA RESPIRATORIA

Juan Pablo Pardo, Federico Martínez, Guillermo Mendoza e Isabel Velázquez. Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, UNAM, Apdo. Postal 70-159, 04510. México, D.F. Teléfono: 5623-25-10. Fax: 5616-24-19; Correo electrónico: pardov@servidor.unam.mx.

Recibido: 5 de octubre de 1999. Aceptado: 12 de diciembre de 2000.

RESUMEN

El último complejo que participa en la cadena de transporte de electrones es la citocromo *c* oxidasa. Esta tiene la función de reducir al oxígeno a agua, uno de los productos finales de la oxidación completa de los nutrientes. En la actualidad, tal vez sea el complejo respiratorio del cual se tenga la mayor información en cuanto a su mecanismo de reacción. Se ha propuesto que los H⁺ se transportan en el interior de la proteína a través de canales que contienen varias moléculas de agua, las cuales tienen un papel importante en el movimiento de los H⁺. Además de las moléculas de agua, estos canales tienen residuos de aminoácidos polares que son importantes para la conducción de los H⁺.

PALABRAS CLAVE: Complejo IV, citocromo oxidasa, translocación de protones, ciclo de la histidina.

ABSTRACT

The last complex participating in the respiratory chain is the cytochrome oxidase. It catalyzes the reduction of molecular oxygen to water, one of the final products in the complete oxidation of nutrients. Information about the structure and function of complex IV is extensive. It has been proposed that the translocation of H⁺ across the membrane occurs through channels inside the protein. These channels contain molecules of water and polar amino acid residues that are important for the translocation of H⁺.

KEY WORDS: Complex IV, cytochrome oxidase, translocation of H⁺, histidine cycle.

INTRODUCCIÓN

La citocromo *c* oxidasa cataliza la transferencia de los electrones al oxígeno, de acuerdo con la siguiente reacción:



Los cuatro electrones provienen de cuatro equivalentes de citocromo *c* en el lado positivo (P) de la membrana (el espacio intermembranal) que, en forma secuencial, ceden sus electrones a la citocromo *c* oxidasa (1). Por cada molécula de oxígeno que se reduce se usan ocho H⁺ del lado N de la membrana (la matriz mitocondrial), cuatro de ellos se usan en la química de la reducción del oxígeno y los otros cuatro se bombean al lado P de la membrana (1). Debido a que los H⁺ y los electrones que se usan para producir el agua vienen de lados opuestos de la membrana, la reacción química se asocia con la translocación neta de cuatro cargas a través de la membrana por cada molécula de oxígeno. Asimismo, la enzima bombea cuatro H⁺ electrogénicamente, lo que resulta en un total de 8 cargas que se transportan a través de la membrana y en la generación de un gradiente de potencial electroquímico de H⁺ (1, 2).

COMPOSICIÓN DE LA CITOCROMO C OXIDASA (TIPO aa₃)

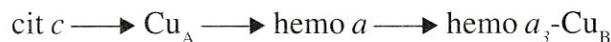
En las mitocondrias de mamíferos la enzima está formada por 13 subunidades (3), pero solamente la subunidad I está conservada en todas las oxidasas que usan cobre. Esta es una proteína integral de membrana con 12 cruces transmembranales y tres centros redox: un hemo *a* de bajo espín, otro hemo *a* de alto espín y un Cu_B, estos dos últimos formando el centro binuclear a₃-Cu_B (3). Por otro lado, la subunidad II contiene el centro binuclear Cu_A que se encarga de recibir los electrones del citocromo *c*. En ciertas bacterias, como *Paracoccus denitrificans*, las citocromo *c* oxidasas del tipo aa₃ son más sencillas, y algunas están formadas por cuatro subunidades (4). Se ha demostrado que la unidad catalítica mínima de la citocromo *c* oxidasa está formada por las subunidades I y II (5), las cuales contienen todos los centros

redox que participan en la oxidación del citocromo *c* y en la reducción del oxígeno (3, 4).

TRAYECTORIA DE LOS ELECTRONES

En un primer paso, el citocromo *c* reducido cede su electrón al Cu_A , un centro binuclear que se encuentra en la subunidad II y que forma un anillo plano formado por dos iones Cu que están unidos a dos residuos de cisteína y a dos residuos de histidina (Fig. 1) (3, 4, 6). El electrón en el centro binuclear Cu_A se encuentra deslocalizado en un orbital que se distribuye sobre las dos mitades del centro, con un alto grado de deslocalización sobre los átomos de azufre y muy poca presencia del electrón en los átomos de nitrógeno de los residuos de histidina (6). A partir de este centro, el electrón viaja al hemo *a* de bajo espín en la subunidad I. El hierro del hemo *a* está coordinado en la región ecuatorial a los cuatro nitrógenos centrales del anillo de protoporfirina IX y a los nitrógenos de dos histidinas axiales que provienen de diferentes hélices transmembranales (3, 4), debido a que el hierro hexacoordinado es de bajo espín. Como se mencionó, este grupo recibe el electrón del centro binuclear Cu_A de la subunidad II y luego lo cede al centro binuclear a_3 - Cu_B , en la subunidad I. Este último cen-

tro está formado por un ion Cu coordinado a tres residuos de histidina y un hemo *a* pentacoordinado de alto espín (3, 4). En este sitio se lleva a cabo la reducción de la molécula de oxígeno. Por tanto, el flujo de electrones en la citocromo *c* oxidasa podría resumirse con el siguiente esquema:



Hay otro aspecto de la transferencia de electrones que no se ha mencionado hasta este momento y que se puede plantear con las siguientes preguntas: ¿por dónde viajan los electrones dentro de la proteína? ¿Cuál es el camino físico que siguen los electrones para ir de un centro redox al otro? Para contestar estas preguntas se puede analizar el modelo cristalográfico de la citocromo *c* oxidasa con sus tres centros redox (3, 4). El centro binuclear Cu_A recibe un electrón del citocromo *c* y lo cede al hemo *a*; de aquí, el electrón viaja al centro hemo a_3 - Cu_B , en donde se lleva a cabo la reducción del oxígeno. Por tanto, las dos reacciones internas de la citocromo *c* oxidasa son $\text{Cu}_A \Rightarrow a$ y $a \Rightarrow a_3 \Rightarrow \text{Cu}_B$. La velocidad de transferencia del electrón del centro Cu_A al hemo *a* es de $2 \times 10^4 \text{ s}^{-1}$ y de $2 \times 10^5 \text{ s}^{-1}$ para la reacción que va de hemo *a* \Rightarrow hemo a_3 , en presencia de una diferencia de potencial de 40 meV (6). La energía de reorganización asociada a la transferencia del electrón de $a \Rightarrow a_3$ es de 0.76 eV y de 0.3 eV para $\text{Cu}_A \Rightarrow a$ (6).

Con el fin de identificar los enlaces covalentes y los puentes de hidrógeno que sigue el electrón para ir de un grupo redox al otro se utiliza el “método de las trayectorias” (6). Para la reacción $\text{Cu}_A \Rightarrow a$ se tiene un camino que comienza con un puente de hidrógeno entre una de las histidinas ligantes (His 204) y el grupo carbonilo de un asa en la subunidad I (Fig. 1). Este camino incluye 14 enlaces covalentes y dos puentes de hidrógeno. Por otra parte, existen tres posibles caminos, casi equivalentes, que llevan el electrón de $a \Rightarrow a_3$, que comienzan y terminan con los átomos de hierro de los grupos hemo y que van a través de las histidinas 378 y 376, las cuales están coordinadas al hemo *a* y a_3 , respectivamente. Una de estas vías incluye el residuo de fenilalanina 377 y comprende 16 enlaces covalentes (Fig. 1) (6).

La pequeña energía de reorganización de la reacción $\text{Cu}_A \Rightarrow \text{hemo } a$ probablemente se relacione con la estructura del centro binuclear del Cu_A y con su

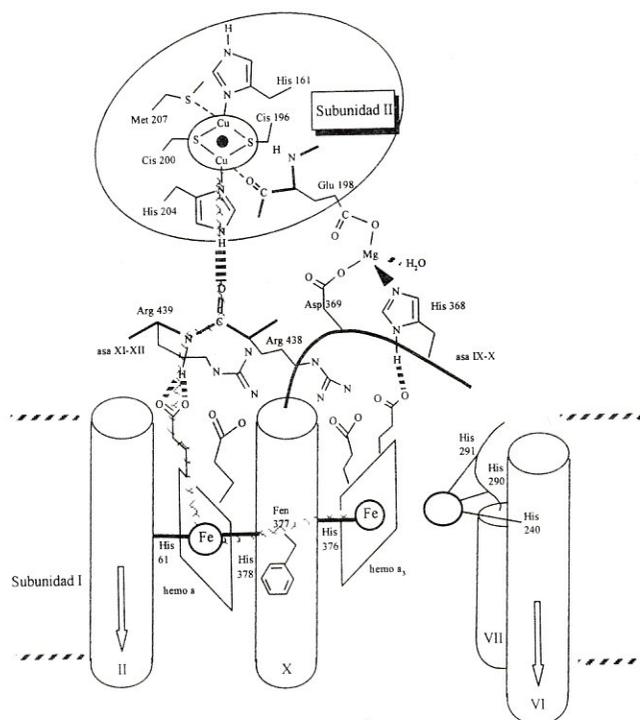


Figura 1. Camino que siguen los electrones dentro del complejo IV. (Figura tomada de la referencia 6).

capacidad para deslocalizar el electrón sobre una región muy grande (6). Por tanto, es la combinación de una baja energía de reorganización y un camino eficiente para la conducción de los electrones lo que finalmente resulta en un flujo rápido de éstos.

MODELOS DEL CICLO CATALÍTICO DE LA CITOCROMO C OXIDASA

A) Los H^+ se bombean en la fase oxidativa ($R \Rightarrow P \Rightarrow F \Rightarrow O$)

De acuerdo con este modelo, el bombeo de protones a través de la membrana se lleva a cabo en la fase oxidativa (7, 8). El ciclo catalítico de la citocromo *c* oxidasa se muestra en la figura 2. Puede verse que hay etapas en las que la entrada de los electrones se asocia con la captación de H^+ , y otras en las que estos dos procesos están separados. Además, este modelo explica la estequiometría H^+/e^- del complejo IV (7, 8). Si se suman todas las etapas se obtiene la reacción descrita anteriormente. Por conveniencia, la descripción del ciclo se iniciará a partir de la forma oxidada del complejo IV, el intermediario **O**, que contiene una molécula de agua unida al hemo *a* de alto espín ($Fe^{3+}-H_2O$) y un anión hidroxilo unido al Cu^{2+} ($HO-Cu^{2+}$) (7, 8).

1.- **O** recibe un electrón y un H^+ , que se transportó por el canal D (se llama canal D porque participa el amino-ácido aspártico) y se produce la liberación de dos moléculas de agua y la reducción del cobre del centro binuclear a Cu^{1+} . En esta etapa se produce el intermediario **E**.

2.- Un segundo electrón se acepta para reducir el hierro (de Fe^{3+} a Fe^{2+}) y otro protón, vía el canal K (se llama K porque interviene una lisina) para dar **R**.

3.- En el siguiente paso se une una molécula de oxígeno y se obtiene el intermediario **A**.

4.- A continuación entra el tercer electrón y se obtiene **P**, cuya característica principal es la de tener un radical peróxido.

5.- Se capta un protón por el canal D que se utiliza para la formación de una molécula de agua, la cual permanece unida al Cu^{2+} . Asimismo, se lleva a cabo el transporte electrogénico de un par de protones a través de la membrana, por el canal D. El producto de esta etapa es el intermediario **F** u oxoferrilo. Nótese que el estado de oxidación del hierro es de IV.

6.- La producción del intermediario **H**, tiene las siguientes características:

a) recibe el último de los cuatro electrones, con lo cual el hierro IV se reduce a Fe^{3+} ;

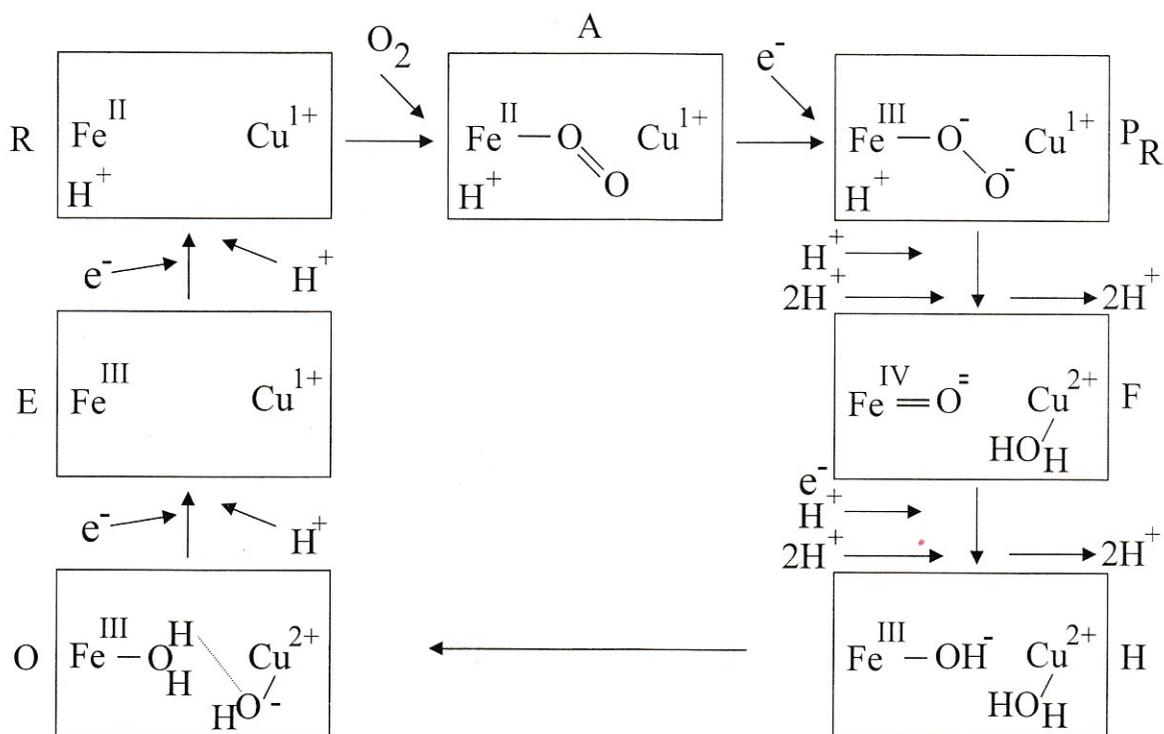


Figura 2. Ciclo catalítico de la citocromo *c* oxidasa con bombeo de H^+ en la fase oxidativa ($R \Rightarrow A \Rightarrow P_R \Rightarrow F \Rightarrow H \Rightarrow O$). Los diferentes intermediarios por los que pasa la citocromo *c* oxidasa durante el ciclo catalítico se representan por las letras R, A, P_R , F, H, O y E (Figura tomada de la referencia 7).

b) capta un protón que reacciona con el oxoferri-
lo para dar un anión hidroxilo unido al Fe³⁺ del hemo a₃;
c) transporta otros dos protones en forma elec-
trógena a través del canal D.

7.- Finalmente, en un paso en el cual se intercambia-
n los ligandos del hemo a₃ y del Cu_B, se regenera
el intermediario O, con lo cual se inicia nuevamente el
ciclo.

B) Los H⁺ se bombean en la fase reductiva (O-R) y en la fase oxidativa (R => P => F => O)

Recientemente se ha propuesto el mecanismo que se
ilustra en la figura 3, en donde el bombeo de H⁺ a
través de la membrana ocurre tanto en la fase oxi-
dativa (R => O) como en la fase reductiva (O => R)
(9).

Como en el caso anterior, se puede iniciar el análi-
sis del ciclo a partir del intermediario O el cual acepta

un H⁺ (que viaja por el canal K) y un electrón para
dar lugar al intermediario E. La entrada de otro elec-
trón y otro protón (vía el canal D) resulta en el bom-
beo de un protón al lado P de la membrana (el protón
viaja por el canal D) y en la producción del interme-
diario R. Hasta este momento el centro binuclear
hemo a-Cu_B de la citocromo c oxidasa ha ganado
dos electrones, por lo que a esta fase se le llama
reductiva. De acuerdo con este nuevo modelo, la
citocromo c oxidasa bombea un protón durante la
fase reductiva (9).

Las siguientes reacciones constituyen la fase oxi-
dativa. El intermediario R recibe al O₂ para dar lugar
al intermediario A. Un rearrreglo electrónico y la rup-
tura de la molécula de oxígeno conduce a la forma-
ción de P_M, un estado oxoferri- con un OH⁻ unido al
Cu_B. En el siguiente paso el intermediario P_M se trans-
forma en F'. Para esto, el anión hidroxilo unido al

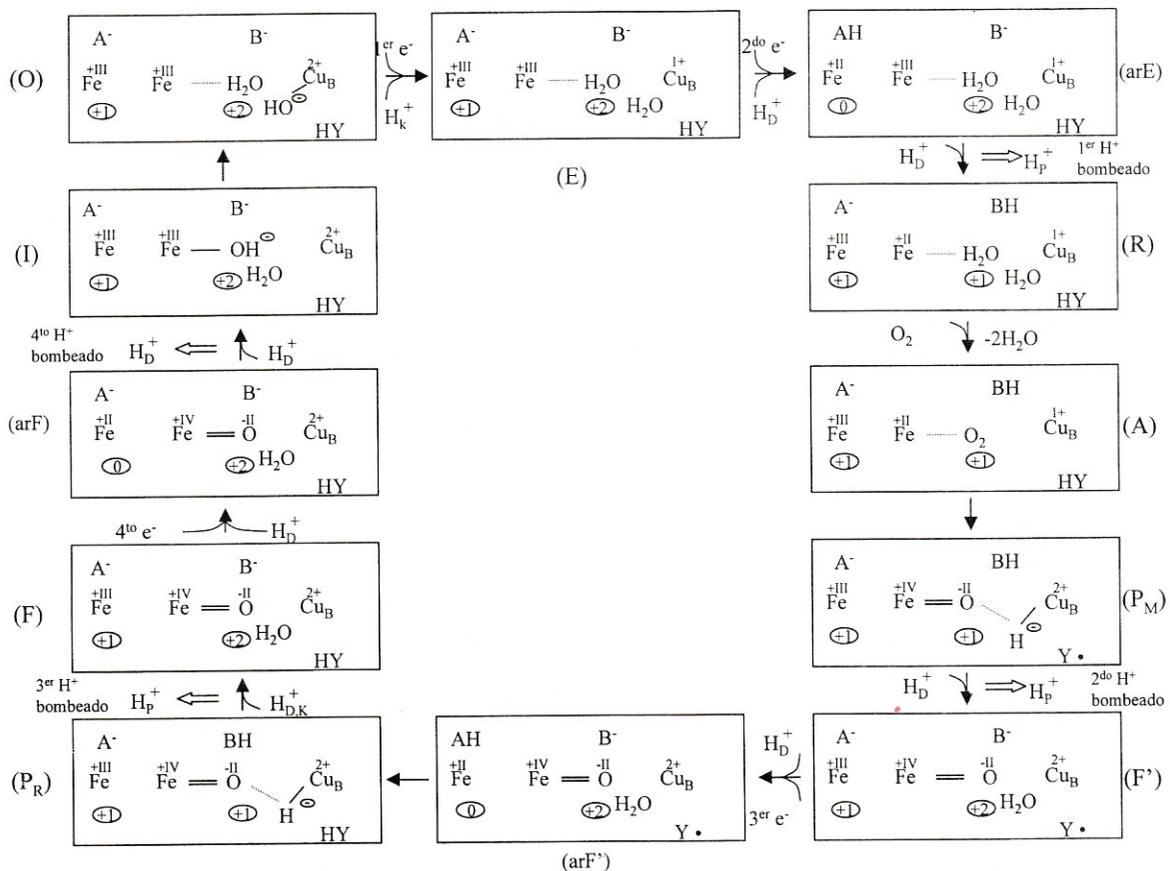


Figura 3. Ciclo catalítico de la citocromo c oxidasa con bombeo de H⁺ en la fase oxidativa (R => A => P_M => F' => P_R => F => I => O) y en la fase reductiva (O => E => R). Los diferentes intermediarios por los que pasa la citocromo c oxidasa durante el ciclo catalítico se representan por las letras R, A, P_M, F', P_R, F, P_R, I, O y E (Figura tomada de la referencia 9).

Cu_B en P_M reacciona con un H^+ (que viaja por el canal D) y se produce una molécula de agua. Asimismo, la transformación de P_M a F' se asocia con el bombeo de un H^+ (por el canal D) a través de la membrana.

A continuación, entra el tercer electrón y otro H^+ (por el canal D), con lo cual se produce el intermediario P_R , con una estructura semejante a P_M , ya que es un oxoferrilo y tiene un OH^- unido al Cu_B . Al igual que en la reacción anterior, P_R se transforma en el intermediario F . En esta etapa el OH^- unido al Cu_B en el intermediario P_R reacciona con un protón que proviene del canal D (aunque no se ha descartado la participación del canal K) y se produce una molécula de agua, junto con el bombeo de otro H^+ a través de la membrana. El intermediario F acepta el cuarto electrón y dos H^+ (vía el canal D) y se transforma en el intermediario I . Esta etapa se asocia con el bombeo de otro H^+ a través de la membrana. Finalmente, el ciclo catalítico se cierra con la formación del intermediario O a partir del intermediario I . En resumen, durante la fase oxidativa se bombean 3 H^+ a través de la membrana y 1 H^+ durante la fase reductiva (9).

De acuerdo con este mecanismo, la translocación de un H^+ a través de la membrana se acopla a la fase reductiva (9). Sin embargo, se ha demostrado experimentalmente que si la citocromo *c* oxidasa no ha recorrido la fase oxidativa del ciclo catalítico, la reducción de ésta no se asocia con el bombeo de H^+ (10). Estos resultados sugieren que el bombeo de H^+ ocurre durante la reducción solamente si se precede de una fase oxidativa, lo cual a su vez indica que la energía para la transferencia de los H^+ se conserva en la fase oxidativa (10). Se ha propuesto la existencia de dos formas del intermediario O : O y O^* . Este último es el producto inmediato de la fase oxidativa y conserva la energía para realizar el bombeo de H^+ . Sin embargo, con el tiempo, O^* se transforma en O . De tal manera que cuando la fase reductiva se inicia a partir de O^* , se bombea un protón a través de la membrana, pero si la reducción se inicia con el intermediario O , entonces no hay bombeo de protones durante la fase reductiva (10).

LOS CANALES DE PROTONES

Se sabe que los protones escalares y vectoriales viajan por canales específicos denominados K y D (Fig. 4). El canal K contiene a la lisina 254 oculta dentro

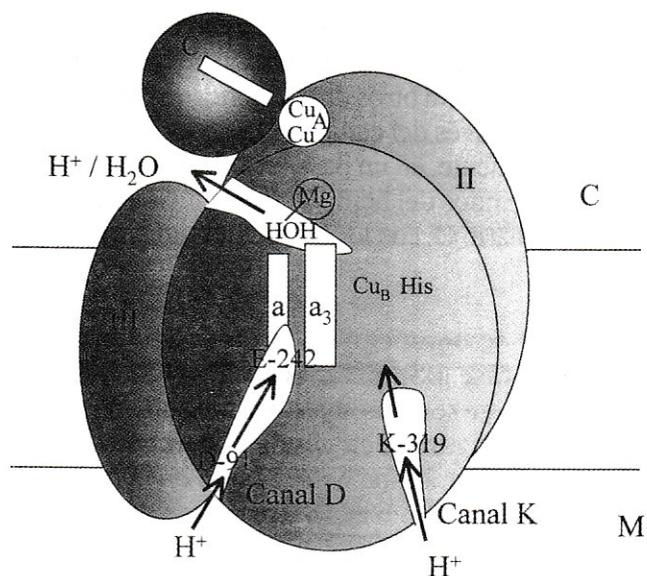


Figura 4. Modelo de la citocromo *c* oxidasa con los canales D y K. Se observa que el canal D contiene un residuo de aspartato (D91) y el canal K un residuo de lisina (K319). También se propone un canal en la otra superficie de la proteína que serviría para la liberación de los protones en el espacio intermembranal de la mitocondria. C, lado citosólico de la membrana interna mitocondrial. M, matriz mitocondrial. II y III, subunidades II y III de la citocromo *c* oxidasa (Figura tomada de la referencia 11).

de la membrana, y cerca de la tirosina 280, esta última en el sitio activo (11). La tirosina 280 está unida covalentemente a una de las histidinas que se ligan al Cu_B y su grupo hidroxilo está lo suficientemente cerca del sitio activo como para servir de donador de hidrógenos o protones durante la ruptura del enlace $\text{O}-\text{O}$ (12). Por medio de la mutagénesis dirigida se ha visto que el canal K puede suministrar uno o dos protones que participan en la reducción del oxígeno en el centro binuclear hemo a_3 - Cu_B (11, 13).

Como se observa en la figura 5, el canal D comienza en el aspártico 91, cerca de la superficie de la enzima y se continúa, vía una serina (serina 157), hasta el glutámico 242, en el interior de la proteína (11). Participan varias moléculas de agua en la conducción de los H^+ entre el aspártico 91 y el glutámico 242 (11, 13, 14). En función de la conformación de este último residuo se pueden dirigir los H^+ hacia el centro binuclear, en donde se lleva a cabo la reducción del oxígeno, o hacia el elemento activo de la bomba de H^+ , que probablemente es una histidina (histidina 291) (8). Por tanto, el glutámico 242 actúa como una compuerta, dirigiendo los H^+ hacia uno u otro lado (8).

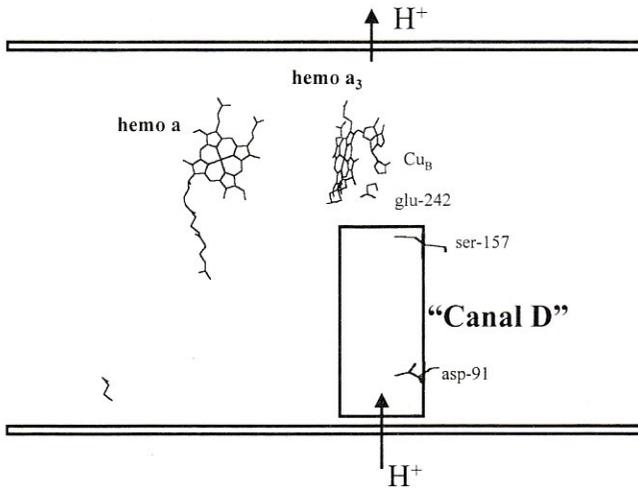


Figura 5. Componentes del canal D en la citocromo *c* oxidasa. (Figura tomada de la referencia 14).

EL CICLO DE LA HISTIDINA

Como se habrá notado, los H⁺ que viajan por el canal D pueden reaccionar con el oxígeno o ser trans-

locados a través de la membrana. ¿Cuáles son los factores que determinan que un H⁺ se seleccione para formar parte del agua o se transporte al otro lado de la membrana? ¿Cuál es el mecanismo que le informa a la proteína del destino de cada uno de los H⁺? Wikström propuso el ciclo de la histidina para explicar cómo la citocromo *c* oxidasa desvía ciertos H⁺ hacia la formación del agua o hacia el camino del transporte electrogénico (Fig. 6) (8, 15). Un punto clave en este modelo es que la carga negativa del intermediario de oxígeno, unido al Fe del a₃, estabiliza la protonación del elemento que participa en el bombeo de H⁺. Esta interacción mantiene a los H⁺ vectoriales en su lugar hasta que llegan los H⁺ escalares al oxígeno, momento en el cual la carga negativa en el intermediario del oxígeno se neutraliza, por lo que su interacción con el elemento de bombeo se desestabiliza y los H⁺ vectoriales se expulsan al medio externo (8, 15). Los postulados del modelo son los siguientes:

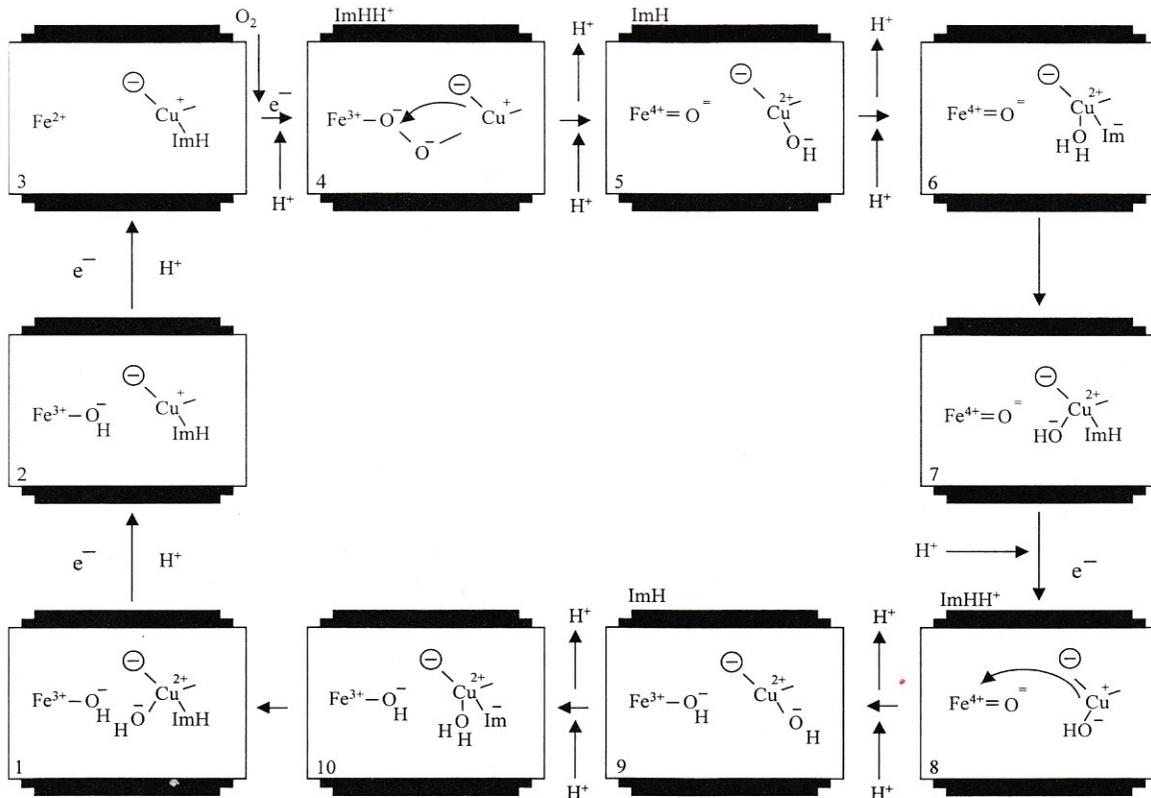


Figura 6. Ciclo de la histidina en la citocromo *c* oxidasa. Este ciclo explica el mecanismo por medio del cual la citocromo *c* oxidasa desvía ciertos H⁺ hacia la formación del agua o hacia el camino del transporte electrogénico a través de la membrana. El Cu_b se muestra con dos ligandos permanentes: un imidazol neutro (His-240, solamente se representa el enlace) y un imidazolato (His-290, círculo con signo menos). El tercer ligando, un imidazolato (His-291), es lábil y se indica como ImH, Im⁻ o ImHH⁺, dependiendo de su estado de protonación. Se señala arriba de cada cuadro el estado de protonación de este ligando (Figura tomada de la referencia 8).

1.- En primer lugar, se puede alcanzar una estequiometría de dos H^+ por electrón si se utiliza a una histidina como acarreador. Para esto, se requiere que la histidina alterne entre la forma del imidazolio (ImH_2^+) y la del imidazolato (Im^-), este último estabilizado por medio de un enlace dirigido al Cu^{2+}_B y a través de puentes de hidrógeno con ciertos residuos de aminoácidos en la proteína. Probablemente sea la histidina 291 la que lleve a cabo esta función.

2.- El oxígeno está involucrado en el mecanismo del bombeo de H^+ , pero de manera indirecta, ya que no se une en forma covalente a estos H^+ vectoriales. La manera en que lo hace es a través de la estabilización de los estados de transición por medio de interacciones electrostáticas entre el ImH_2^+ y el ligando unido al oxígeno.

3.- Estas interacciones electrostáticas favorecen la transferencia del electrón al intermediario fierro-oxígeno. Se sugiere que los intermediarios peroxi y ferril tienen potenciales de reducción pequeños cuando están desprotonados. Sin embargo, la protonación de la histidina 291 induce la protonación del oxígeno que está unido al Fe de a_3 , con lo que aumenta su potencial redox y se favorece la transferencia de electrones. Es decir, la unión de los protones al sitio involucrado en el bombeo de H^+ dispara la transferencia de electrones hacia el oxígeno.

4.- La unión de los H^+ escalares al oxígeno favorece la translocación de los H^+ vectoriales por la bomba. El estado de transición, estabilizado por las interacciones electrostáticas, conduce a la transferencia del electrón hacia el oxígeno unido al Fe de a_3 y a la captación de los H^+ , con lo que se terminan las etapas en las que reacciona el oxígeno. Como resultado de la unión de estos H^+ se neutraliza la carga del oxígeno y se pierde la energía de interacción que estabiliza al ImH_2^+ , lo cual desplaza a los H^+ hacia el medio externo.

5.- El acceso de los H^+ escalares y vectoriales se controla en forma separada. Esto implica que los H^+ vectoriales no deben reaccionar con el oxígeno ya que permanecerían asociados a éste y se dejaría de transportar H^+ . Asimismo, los H^+ escalares no deben entrar antes que los vectoriales, ya que la estabilización de estos últimos en la histidina 291 depende de la carga del intermediario de oxígeno desprotonado. Si los H^+ escalares llegan antes de tiempo, se inhibe la captación de los H^+ vectoriales y se pierde el acoplamiento entre el transporte de electrones y el bombeo de H^+ . El control se lleva a cabo a través del uso de

dos canales para los H^+ así como de cambios conformacionales que mueven a la histidina 291 a la posición correcta.

La figura 6 muestra un esquema del ciclo de la histidina con el elemento de bombeo ($H291$) en su forma neutra (Im), unido al Cu^{1+}_B . La molécula de oxígeno unida al Fe de a_3 , adquiere dos cargas negativas como resultado de la transferencia de dos electrones. La presencia de estas cargas negativas en el oxígeno favorece la captación de un H^+ por la histidina 291 ($ImHH^+$). Por otro lado, la entrada de dos H^+ que neutralizan la carga en el oxígeno desestabilizan al ImH_2^+ , lo que resulta en el bombeo de dos H^+ al exterior. En este punto, el elemento de bombeo vuelve a tomar dos H^+ del lado N de la membrana y se estabiliza por la presencia de cargas negativas en el oxígeno. Finalmente, la entrada de otros dos H^+ escalares neutralizan la carga del oxígeno, una vez más se desestabiliza el imidazolio y se liberan dos H^+ al lado P de la membrana. En esta última fase se produce la segunda molécula de agua. El ciclo se completa con la entrada de dos electrones, una molécula de oxígeno y la captación de un H^+ (8, 13).

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el apoyo que recibieron de la UNAM a través de la DGAPA (IN200897 para JPP; IN202496 y IN200399 para FM), y PADEP (201436 para IV) y del CONACyT (26096M para FM). IV fue becada por la Dirección General de Apoyo al Personal Académico para estudios de doctorado.

REFERENCIAS

1. Rottenberg H (1998) The generation of proton electrochemical potential gradient by cytochrome c oxidase. *Biochim Biophys Acta* 1364: 1-16.
2. Gennis RB (1998) How does cytochrome oxidase pump protons? *Proc Natl Acad Sci USA* 95: 12747-12749.
3. Tsukihara T, Aoyama H, Yamashita E, Tomizaki T, Yamaguchi H, Shinzawa-Itoh K, Nakashima R, Yaono R y Yoshikawa S (1996) The whole structure of the 13-subunit oxidized cytochrome c oxidase at 2.8 Å. *Science* 272: 1136-1144.
4. Itawa S, Ostermeier C, Ludwig B y Michel H (1995) Structure at 2.8 Å resolution of cytochrome c oxidase from *Paracoccus denitrificans*. *Nature* 376: 660-669.

5. Hendler RW, Pardhasaradhi K, Reynafarje B y Ludwig B (1991) Comparison of energy-transducing capabilities of the two and three subunit cytochromes aa₃ from *Paracoccus denitrificans* and the 13 subunit beef heart enzyme. *Biophys J* 60: 415-423.
6. Regan JJ, Ramirez BE, Winkler JR, Gray H y Malmstrom BG (1998) Pathways for electron tunneling in cytochrome c oxidase. *J Bioenerg Biomembr* 30: 35-39.
7. Wikström M (1998) Proton translocation by the respiratory haem-copper oxidases. *Biochim Biophys Acta* 1365: 185-192.
8. Wikström M, Morgan JE y Verkhovsky MI (1998) On the mechanism of proton translocation by respiratory enzyme. *J Bioenerg Biomembr* 30:139-145.
9. Michel H (1999) Cytochrome c oxidase: catalytic cycle and mechanism of proton pumping-a discussion. *Biochemistry* 38: 15129-15140.
10. Verkhovsky MI, Jasaitis A, Verkhovskaya ML, Morgan JE y Wikström M (1998) Proton translocation by cytochrome c oxidase. *Nature* 400: 480-483.
11. Mills DA y Ferguson-Miller S (1998) Proton uptake and release in cytochrome c oxidase: separate pathways in time and space?. *Biochim Biophys Acta* 1365: 46-52.
12. Gennis RB (1998) Multiple proton-conducting pathways in cytochrome oxidase and a proposed role for the active-site tyrosine. *Biochim Biophys Acta* 1365: 241-248.
13. Pfitzner U, Odenwald A, Ostermann T, Weingard L, Ludwig B y Richter OMH (1998) Cytochrome c oxidase (Heme aa₃) from *Paracoccus denitrificans*: analysis of mutations in putative proton channels of subunit I. *J Bioenerg Biomembr* 30: 89-97.
14. Riistama S, Hummer G, Puustinen A, Dyer RB, Woodruff WH y Wikström M (1997) Bound water in the proton translocation mechanism of the haem-copper oxidases. *FEBS Lett* 414: 275-280.
15. Morgan JE, Verkhovsky MI y Wikstrom M (1994) The histidine cycle: A new model for proton translocation in the respiratory heme-copper oxidases. *J Bioenerg Biomembr* 26: 599-608.

MECANISMOS DE SEÑALIZACIÓN PARA EL IFN gamma

Massiel del Rosario Quijano, Pedro Prats Pérez. Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología. Ave. 31 entre 158 y 190, Cubanacán, PO. Box: 6162, La Habana, Cuba. Teléfono: 537-213464 Fax: 537-337853. e-mail: market@cigb.edu.cu.

Recibido: 9 de marzo de 2000. Aceptado: 13 de marzo de 2001.

RESUMEN

Los interferones (IFN) pertenecen a una gran familia de proteínas que ejercen diversidad de efectos biológicos como: inmunomodulador, antiviral y antiproliferativo. En el caso particular del IFN γ esta variedad de acciones se establece por el mecanismo de señalización que involucra a las proteínas JAK-STAT. Las proteínas JAK activan el factor transcripcional GAF, que se transloca al núcleo por una maquinaria energética que requiere la presencia de una GTPasa, participando en este proceso las proteínas transportadoras. Una vez que se produce este fenómeno de transporte e incorporación al núcleo, se inserta este factor transcripcional a una secuencia específica de la región o sitio promotor denominado GAS, favoreciéndose la expresión de un conjunto de genes responsables de los efectos biológicos que ejerce esta citocina.

PALABRAS CLAVE: Interferón gamma, JAK-STAT, señalización.

ABSTRACT

Interferons belongs to a great family of proteins which exert a diversity of biological effects like: immunomodulator, antiviral and antiproliferative. Particularly for Interferon Gamma, proteins JAK-STAT are involved in this variety of actions, JAK proteins activate the transcriptional factor GAF, which translocate to the nucleus through and energy machine requiring the presence of a GTPase, with carrier proteins participating in this process. Once this carrier phenomena and nuclear incorporation takes place, the transcriptional factor became inserted to a specific sequence at the promoter site or region named GAS, this favor the expression of a set of genes in charge of the biological effects exerted by this cytokine.

KEY WORDS: Interferon gamma, JAK-STAT, signalling.

CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LOS INTERFERONES

Los interferones (IFNs) constituyen un conjunto de biomoléculas reconocidas como citocinas, que participan en los mecanismos naturales de defensa de los seres vivos. Estas moléculas fueron descubiertas en 1957 por Isaac y Linderman, los cuales observaron en los fluidos provenientes de cultivos celulares de embrión de pollo infectados por virus, la presencia de una proteína que confería a la célula resistencia a una infección de origen viral (1); de hecho, de este fenómeno de interferencia proviene el nombre de interferón. En 1965, Wheelock describió otro tipo de interferón, el cual se clasificó como tipo II o IFN gamma, tanto por su origen cromosómico diferente, así como por su respuesta o liberación ante disímiles situaciones biológicas, resultando una de las más estudiadas a nivel molecular.

Los IFNs son considerados una familia de proteínas que se presentan fundamentalmente en forma de glicoproteínas producidas por células de vertebrados ante diferentes estímulos biológicos; inducidos principalmente por virus aunque también se han descrito otros agentes inductores tales como: bacterias, micoplasmas, protozoarios, otras citocinas, mitógenos, RNA de doble cadena tanto naturales como sintéticos y otras sustancias.

Inicialmente los IFNs se clasificaron por el tipo de célula donde se producía y por sus características genéticas, como leucocitario o IFN α , y fibroblástico o IFN β . Estos 2 tipos de interferones se encuentran agrupados como tipo I, que se caracterizan por ser ácido estable y los genes que los codifican se encuentran localizados en las bandas p21-ter del brazo corto del cromosoma 9, mientras que existe un tercer tipo denominado inmune o γ ; que se encuentra clasificado como tipo II y el gen que lo codifica se en-

TABLA I

DIFERENCIAS GENERALES ENTRE LOS DOS TIPOS DE INTERFERONES

	IFN TIPO I	IFN TIPO II
Distribución	Mamíferos, aves, peces y posiblemente anfibios y reptiles	Mamíferos y pollos
Genes	Múltiple; sin intrones	Simple; 3 intrones
Proteínas	Monoméricas	Dimérica
Receptor	Presenta 2 sub-unidades	Presenta 2 sub-unidades
Expresión por tipo celular	Varios tipos celulares	Células T y un rango limitado de otras células, se incluye la célula trofoblástica de cerdo
Estabilidad	Estable a un pH ácido	Inestable a un pH ácido

cuentra ubicado en el brazo largo del cromosoma 12. Este último tipo de IFN tiene un comportamiento ácido lábil, siendo inactivo a un pH de 2 en un período de tiempo de pocos minutos (2).

Actualmente, la clasificación de los IFNs se realiza fundamentado en la estructura genética y proteica; agrupándose como IFNs tipo I (alfa, beta, delta, omega y tau); mientras que el tipo II se encuentra representado solamente por el IFN γ .

En la Tabla I se puede apreciar, de forma general, la diferencia existente entre los grandes grupos de interferones que se han caracterizado hasta el momento.

Los interferones ejercen su acción biológica a través de dos tipos de receptores diferentes. En el caso específico de los IFNs tipo I emplean el mismo receptor, mientras que el IFN tipo II o IFN γ se une con alta afinidad a otro tipo de receptor que se encuentra ubicado en la superficie de la célula (Fig 1). Una vez que estas citocinas se unen con sus receptores específicos, activan mecanismos de señalización citoplasmática que resultan en la estimulación o modulación de la expresión de genes que codifican para diversas proteínas que determinan la gran variedad de acciones biológicas de los IFNs.

MECANISMO DE SEÑALIZACIÓN PARA EL IFN γ

CARACTERÍSTICAS GENERALES DEL RECEPTOR

El IFN γ tiene la particularidad de ser secretado por células asesinas naturales (NK) ante diferentes estímulo-

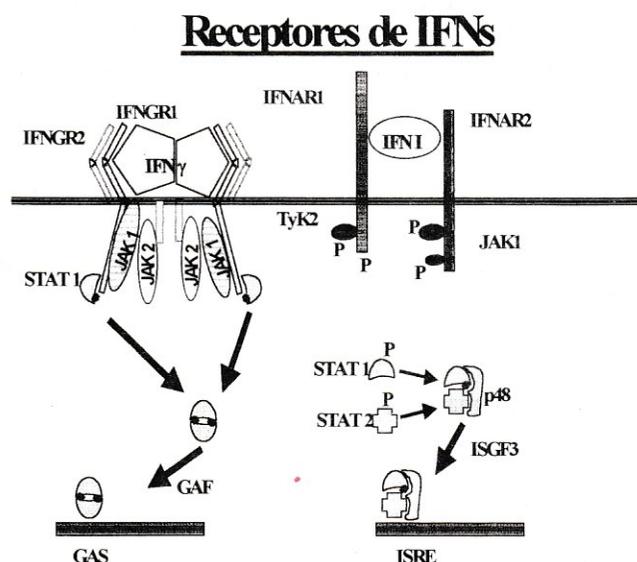


Figura 1. Representación del mecanismo del reconocimiento y transducción de señales de los IFNs tipo I y tipo II con sus respectivos sitios de unión a nivel del núcleo, en regiones promotoras de genes activados por los IFNs. (P: Fosforilación, Tyk2: proteína tirosina cinasa, ISGF3: Factor 3 del gen estimulado por el IFN, ISRE: Elementos reguladores estimulados por el IFN).

los como la interleucina 12 (IL-12) y el factor α de necrosis tumoral (TNF α) derivados del macrófago o autoestimulada por el propio IFN γ ; liberado además por otros tipos de células: T (Th1) y CD8+ (fenotipo TC1). La forma biológicamente activa de esta citocina está formada por un homodímero no covalente de 34 kDa que presenta estructura glicosilada (3).

Desde el punto de vista estructural, el receptor para IFN γ está formado por dos cadenas polipeptídicas: IFNGR1 (con anterioridad denominada cadena α o CD119w); que se encuentra codificada por un gen localizado en el cromosoma 6 del humano y tiene importante función en el reconocimiento del ligando, en la incorporación de éste a la célula y en la transducción de señales. IFNGR2 (antes reconocida como cadena β o factor accesorio 1); se encuentra codificada por un gen en el cromosoma 21 del humano y la función más relevante que tiene es la participación en el proceso de señalización. Esto puede apreciarse de forma detallada en la Tabla II donde se exponen las características estructurales del receptor para el IFN γ humano (4, 5).

Cada una de estas cadenas polipeptídicas se encuentra constitutivamente asociada a un miembro de la familia de proteínas cinasas Janus de residuos de tirosina (JAK). En el caso particular del IFNGR1 se encuentra asociado a las JAK1; mientras que las JAK2 se asocian a la cadena IFNGR2 del receptor para el IFN γ .

La cadena IFNGR1 se expresa constitutivamente, mediante síntesis en el retículo endoplásmico rugoso y se glicosila en el aparato de Golgi. Esta cadena tiene la particularidad de presentar una mayor afinidad por el ligando. Hasta el momento se han identificado en esta cadena 3 secuencias importantes: en la primera, correspondiente a la región Leu-Ile (270-271), se ha demostrado que cualquier sustitución o delección por alanina pueda generar una deficiencia en la internalización del ligando; mientras que las dos secuencias restantes Leu-Pro-Lys-Ser (266-269) y Tyr-Asn-Lys-Pro-His (440-445), están involucradas en la inactivación del receptor si este sufre cualquier mutación (6). De forma similar, Dorman y Holland describieron mutaciones por delección de los nucleótidos 278 y 279, que se encuentran en el exon 3 del gen que codifica el dominio extracelular del IFNGR2, en un niño con infección diseminada por el complejo *Mycobacterium Fortuitum* y *M Avium* (7).

La cadena para el receptor IFNGR2 también se expresa de forma constitutiva, pero a niveles muy bajos; no obstante, su expresión es regulada por diferentes estímulos externos. La función propia de esta cadena es contribuir al proceso de unión ligando-receptor al favorecer la estabilización del complejo, aunque en comparación con la IFNGR1, su afinidad por el ligando es menor.

De las secuencias que se han identificado como importantes en el dominio intracelular se han caracte-

TABLA II

CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LA CADENA IFNGR1 E IFNGR2 DEL RECEPTOR PARA IFN γ

	IFNGR-1	IFNGR-2
<u>Secuencia primaria</u>		
Péptido señal	17 aminoácidos	21 aminoácidos
Forma madura	472 aminoácidos	316 aminoácidos
Localización cromosómica	6	21
<u>Estructura del dominio</u>		
Extracelular	228 aminoácidos	226 aminoácidos
Transmembranal	23 aminoácidos	24 aminoácidos
Intracelular	219 aminoácidos	66 aminoácidos

rizado dos hasta el momento: Pro-Pro-Ser-Ile-Pro (263-267); Ile-Glu-Glu-Tyr-leu (270-274) (8); estas secuencias o dominios se unen a las JAK2; por lo tanto, mutaciones a este nivel afectan esta asociación y por ende la activación de las proteínas transductoras de señales y activadoras de la transcripción (STAT1).

Actualmente se ha podido demostrar que el IFN γ es reconocido por su receptor debido a la interacción de su porción N-terminal con el dominio extracelular IFNGR1; mientras que la porción C-terminal del IFN γ es reconocida por el dominio citoplasmático del IFNGR1. Debido a los resultados obtenidos en diferentes trabajos realizados se puede inferir que el dominio citoplasmático de la cadena IFNGR1 es imprescindible para poder inducir una respuesta biológica (9).

SISTEMAS JAK-STAT

En el proceso de señalización están involucradas dos tipos de proteínas diferentes: las JAKs y las STAT.

Las JAK integran una familia de proteínas tirosina cinasa que se han caracterizado hasta el momento cuatro miembros; estas se asocian con dominios intracelulares de receptores para dar lugar a proteínas STAT activadas. En el caso específico del IFN γ se reconoce la participación de JAK1 y JAK2; éstas se asocian constitutivamente a ambas cadenas del receptor para el IFN γ y fosforilan a las proteínas STAT, después de sufrir una activación en respuesta a la interacción ligando receptor.

Las STAT están integradas por una familia de siete proteínas que juegan un papel importante en la mediación de los efectos biológicos en una gran variedad de citocinas y factores de crecimiento (10), como puede apreciarse en la Tabla III.

Las STAT tienen un peso molecular que se encuentra en el intervalo de 84 a 113 kDa. En ausencia de estímulos esta proteína se encuentra en forma de monómeros latentes en el citosol, que presenta en su estructura dominios SH2 que se han identificado como necesarios para establecer su unión con la cadena IFNGR1 del receptor. En el proceso de activación de estas proteínas se relaciona su activación con la fosforilación de un residuo de tirosina, que se encuentra ubicado en la posición 701 (11). Este fenómeno de fosforilación es llevado a cabo por las JAKs, que se encuentran asociadas constitutivamente a ambas sub-unidades para el receptor del IFN γ . Una vez establecida la activación de las STAT1, éstas forman homodímeros, generándose el factor de activación del interferón gamma (GAF), que se transloca al núcleo donde se une a un segmento denominado sitio activado por el gamma (GAS), presente en el promotor de diferentes genes (12). El fenómeno de incorporación al núcleo de estos homodímeros se produce a través de un complejo de poros a nivel del núcleo (CPN). La transportación a su vez se favorece por proteínas que están formadas por dos sub-unidades (transportadora α y transportadora β). El GAF se une a éstas por un sitio específico denominado secuencia de localización nuclear (SLN); posteriormente se produce el acople de la sub-unidad β ,

TABLA III

MIEMBROS DE LAS STAT Y RECEPTORES DE DIFERENTES CITOCINAS QUE EMPLEAN ESTAS PROTEÍNAS EN SU MECANISMO DE SEÑALIZACIÓN

RECEPTOR	PROTEÍNA STAT UTILIZADA
IFN γ , IFN α/β	*STAT 1
IFN α/β	STAT2
Familia de las IL-6R, IL-10, GH, EGF	STAT3
IL-12	STAT4
IL-2R, IL-3R, PRL, EPO	STAT5a y b
IL-4	STAT6

que a su vez establece sitios de interacción con CPN. La translocación de este complejo al núcleo se establece por un mecanismo que requiere energía, donde está involucrada la GTPasa denominada Ran (13, 9) (Fig 2).

Como puede verse en la figura anterior, una vez que el GAF se introduce en el núcleo se inserta a la secuencia de ADN del sitio GAS, generándose una respuesta primaria que involucra la expresión de algunos genes que forman parte de factores transcripcionales necesarios para establecer una respuesta secundaria; dando lugar a la expresión de proteínas. Ejemplos sustantivos de esto lo constituye el factor regulador del IFN (IRF-1), el cual regula la expresión de la enzima inducible óxido nítrico sintasa

(iNOS), que a su vez está regulado por STAT6 (14). Otro caso que demuestra estos niveles de respuesta secundaria, se evidencia por el incremento de la expresión de STAT1 (α , β) y la p48, estas dos moléculas participan en la modulación de la expresión de los genes respondedores al IFN α , por lo que se pudiera reafirmar este caso como ejemplo de sinergismo entre ambos tipos de IFNs. Otro ejemplo representativo lo constituye el gen transactivador clase II (CIITA) el cual regula la expresión de los genes del complejo de inmunohistocompatibilidad (MHC) clase I y II (15).

Podemos señalar que la función biológica del IFN γ puede sufrir afectación por modificaciones estructurales del receptor para esta citocina, así como cual-

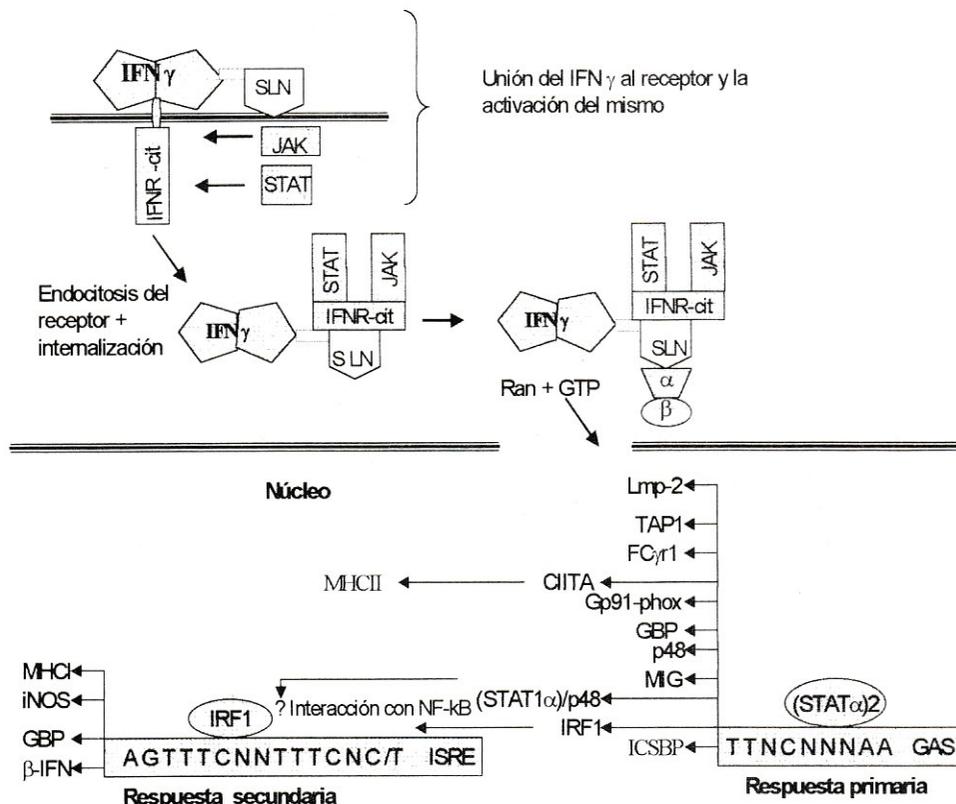


Figura 2. Mecanismo de señalización del IFN γ . Los detalles de este modelo se describen en el texto. En esta figura se ilustra la secuencia de eventos que ocurren, desde que interacciona la molécula de IFN γ con su receptor, generando la activación del mecanismo de señalización que involucra las JAK y las STAT, una vez que éstas últimas se activan, se forma un homodímero denominado GAF que penetran en el núcleo con ayuda de la proteína Ran. Posteriormente, el GAF se inserta en el sitio promotor GAS, generándose una respuesta primaria que incluye la expresión de un grupo de genes, algunos de los cuales actúan como transcritos insertándose en regiones promotoras, favoreciendo una respuesta secundaria. (GBP: proteína de unión a guanilatos, TAP: proteína activadora de translocación, NF-kB: factor de transcripción nuclear, ICSBP: proteína de unión a una secuencia consenso de IFN).

quier modificación que ocurra a nivel de las proteínas que participan en el mecanismo de señalización.

REFERENCIAS

1. Allen G y Diaz MO (1996) Nomenclature of the human interferon proteins. *J Interferon Cytokine Res* 16:181-4.
2. Piasecki E (1999) Human acid-labile interferon alpha. *Arch Immunol Ther Exp* 47: 89-98.
3. Mogensen E, Lewerenz M, Reboul J, Luftalla G y Uzé G (1999) The Type I Interferon Receptor: Structure, Function, and Evolution of a Family Business. *J Interferon Cytokine Res* 19: 1069-1098.
4. Larkin J, Johnson HM y Subramaniam PS (2000) Differential localization of the IFNGR-1 and IFNGR-2 subunits of the IFN gamma Receptor Complex following activation by IFN gamma. *J Interferon Cytokine Res* 20: 565-76.
5. Star G R, Kerr I M, Williams B R G, Silverman R H y Schreiber R D (1998) How cells respond to interferon?. *Annu Rev Biochem* 67: 227-64.
6. Bach EA, Aguet M y Schreiber R D (1997) The IFN γ receptor: A Paradigm for Cytokine Receptor Signaling. *Annu Rev Immunol*. 15: 563-91.
7. Dorman SE y Holland SM (1998) Mutation in the signal-transducing chain of the interferon gamma receptor and susceptibility to Mycobacterial infection. *J Clin Invest*. 101: 2364-2369.
8. Bach EA, Tanner JW, Marsters SA, Ashkenazi A, Aguet M, Shaw AS y Schreiber RD (1996) Ligand-induced assembly and activation of the gamma interferon receptor in intact cells. *Mol Cell Biol* 16:3214-21.
9. Johnson HM, Torres BA, Green M, Szente B, Silver K, Larkin J y Subramaniam P (1998) Hypothesis: Ligand/Receptor-Assisted Nuclear Translocation of STATs. *Proc Soc Exptl Biol Med*. 218: 149-155.
10. Heim MH (1999) The Jak-STAT Pathway: Cytokine signalling from the receptor to the nucleus. *J Receptor Signal Transduction Res* 19: 75-120.
11. Su L, Rickett R y David M (1999) Rapid STAT phosphorylation via the B cell receptor. *J Biol Chem* 45: 31770-31774.
12. Min W, Pober JS y Johnson DR (1998) Interferon induction of TAP1: the phosphatase SHP-1 regulates crossover between the IFN alpha/beta and the IFN-gamma signal-transduction pathways. *Cir Res* 83: 815-23.
13. Subramaniam PS, Larkin J, Mujtaba MG, Walter MR y Johnson HM (2000) The COOH-terminal nuclear localization sequence of interferon gamma regulates STAT1 alpha nuclear translocation at an intracellular site. *J Cell Sci* 113 :2771-81.
14. Coccia EM, Stellacci E, Marziali G, Weiss G y Battistini A (2000) IFN-gamma and IL-4 differently regulate inducible NO synthase gene expression through IRF-1 modulation. *Int Immunol* 7:977-85.
15. Girdlestone J (2000) Synergistic induction of HLA class I expression by RelA and CIITA. *Blood* 12:3804-8.

LOS ESTOMAS: APERTURA, CIERRE Y CANALES IÓNICOS

Juan Carlos Raya Pérez. Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN. Unidad de Biotecnología e Ingeniería Genética de Plantas. Depto. de Biotecnología y Bioquímica. Km 9.6 Libramiento Norte carretera Irapuato-León apdo. postal 629 Irapuato. Correo electrónico: jraya@ira.cinvestav.mx

Recibido: 5 de octubre de 1999. Aceptado: 12 de diciembre de 2000.

RESUMEN

Los estomas son los encargados de regular el intercambio gaseoso en las plantas; su aparición se documenta desde muy temprano en la evolución vegetal; las guarda son de las células más especializadas en los tejidos vegetales, responden a los cambios en la concentración atmosférica de CO₂ y de humedad y son muy importantes en la fisiología de las plantas. En la apertura y el cierre estomatal participan canales iónicos, transportadores y bombas, además de vías metabólicas y vías de transducción de señales en las que están involucrados varios fotorreceptores.

PALABRAS CLAVE: célula guarda, canales iónicos, calcio, fotorreceptores, ácido abscísico.

ABSTRACT

Stomata regulate gas exchange between the plants and the atmosphere. They appeared early in the vegetal evolution, and are among the most specialized cells in plant tissues that respond to multiple stimuli like the CO₂ concentration and the atmospheric water vapor. The process of stomatal closing and opening involves ionic channels, transporters and pumps in addition to metabolic and signal transduction pathways coupled to several photoreceptors.

KEY WORDS: guard cell, ionic channels, calcium, photoreceptors, abscisic acid.

INTRODUCCIÓN

El estoma comprende el par de células guarda y el poro que forman entre ellas; las células guarda, o guardianas, se originan de células protodermales y son las más especializadas de la epidermis de las plantas. Las células subsidiarias o accesorias, cuando existen, se hallan junto a las guarda y sirven como reservorios iónicos de estas, aunque el apoplasto (pared celular) tiene también una gran capacidad de al-

macenamiento de iones. Las guarda no tienen plasmodesmos y los intercambios iónicos y la absorción de metabolitos deben hacerlos a través de la membrana plasmática. No obstante su especialización son capaces de dividirse *in situ* e incluso de producir callos cuando se les cultiva *in vitro* (1).

Se tiene evidencia de que los estomas aparecieron muy tempranamente en la evolución vegetal para regular la absorción de CO₂ y la pérdida de agua (2). Están presentes en los musgos pero no en las hepáticas; en las plantas superiores se localizan en pétalos, sépalos, estambres, en las vainas de las leguminosas y en la cáscara del plátano, aunque en sitios como los pétalos no son funcionales. En las herbáceas aparecen en ambos lados de la hoja (anfistomáticas), en las plantas flotantes se encuentran en la parte superior (epistomáticas) y las plantas que viven sumergidas carecen de ellos (Fig. 1).

La densidad estomatal (que es igual al número de poros por unidad de área) se ha utilizado en el estudio de los paleoclimas pues es sensible a cambios en la precipitación. El índice (que es igual a la proporción de poros expresada como porcentaje de las células epidérmicas) y la densidad estomatal están inversamente relacionados con la concentración ambiental de CO₂ durante el desarrollo de la planta. El índice estomatal de plantas provenientes del devónico inferior es muy bajo y las estimaciones indican que se desarrollaron a concentraciones de 2100 a 2400 ppm (partes por millón) de CO₂; estas plantas presentan 25-40 estomas por mm² (2). En las plantas que se han recuperado del intervalo que va del Devónico al Pérmico se observa una densidad estomatal mayor al disminuir la concentración ambiental de CO₂. Para chícharo (*Pisum sativum*), una planta moderna, se reportan valores de 120 a 180 estomas por mm² y se ha observado que algunas especies de plantas han

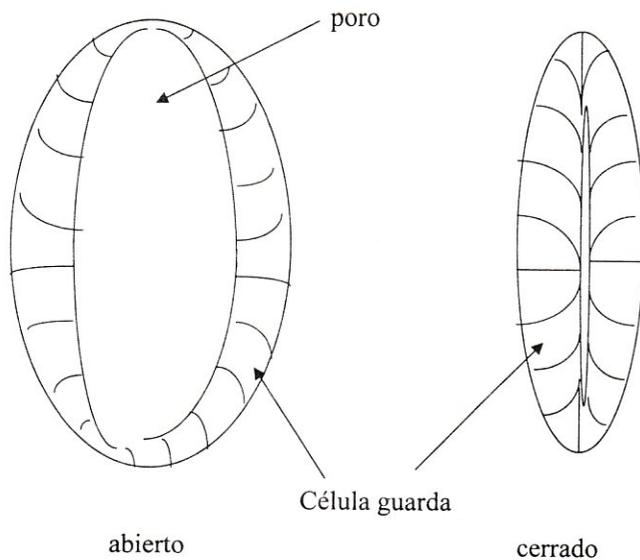


Figura 1. Las células guarda absorben iones y agua, se hinchan y se separan formando un poro entre ellas, debido a las restricciones impuestas por la pared celular; durante el cierre, al perder los iones y el agua, pierden también turgencia, se juntan entre sí y cierran el poro.

respondido al aumento en la concentración de CO_2 con una reducción de 40% en su densidad estomatal. Además, las hojas primitivas tenían estomas sólo en la superficie inferior (hipostomáticas) y las modernas, como el maíz, son anfistomáticas, lo que reduce la distancia que debe recorrer el CO_2 en el interior de la hoja, que difunde 10,000 veces más lentamente en el agua que en el aire. Una vez dentro del cloroplasto la difusión es facilitada por la anhidrasa carbónica (a pH 8 la relación de carbonato a CO_2 es de 45). Los estomas responden a la concentración interna de CO_2 y los abaxiales son más sensibles a este gas y al ABA aplicado en el exterior de la célula. Los adaxiales requieren de mayor intensidad luminosa para lograr la máxima actividad de bombeo de protones, en comparación con los abaxiales que requieren menor intensidad luminosa (2).

CANALES IÓNICOS EN CÉLULAS GUARDA

El mecanismo mediante el cual se da la apertura y cierre estomatal se conoce a grandes rasgos; utilizando la técnica de “patch-clamp” se han empezado a identificar los tipos de canales iónicos presentes en las células guarda y la manera en que son regulados.

Se han encontrado canales aniónicos rápidos (Tipo R o GCAC 1) y tipo lento (tipo S) además de otros activados por presión (“stretch”), que responden a

estímulos mecánicos, como cambios en la turgencia o el volumen (3). En células guarda de tabaco se han detectado canales que pueden cambiar del tipo S al tipo R debido a fosforilación. Sobre los de tipo R el malato causa un cambio del canal controlado por voltaje, hacia potenciales hiperpolarizados. Hay también canales rectificadores para la entrada de K^+ (se abren sólo cuando el gradiente electroquímico favorece la entrada) y canales rectificadores de salida. El ATCNGC2 es un canal rectificador de entrada activado por cAMP y cGMP internos y los cationes divalentes externos en abundancia bloquean la conductancia del canal, que tiene además un sitio de unión para calmodulina. Hay en la membrana plasmática, canales poco selectivos respecto al catión, poseen alta conductancia y son conocidos como canales maxi-catión. Otra clase es llamada canal tipo 2 de cationes dependiente de voltaje, tiene una conductancia menor por canal y es más selectiva respecto al catión; una característica de estos canales es su activación por despolarización de membrana, muy probablemente a través de la activación inicial de los canales aniónicos. Los antagonistas de canales de Ca^{2+} tipo L en animales (nifedipine y verapamil) así como bloqueadores de canales aniónicos NPPB (5 nitro-2,3-fenilpropilaminobenzoico) y ácido niflúmico son inhibidores muy potentes de los canales rectificadores de la salida de K^+ en plantas, lo cual indica que hay diferencias entre los canales de origen vegetal y los de origen animal. Las bombas de calcio ACA1 y ACA2, de arabidopsis, se localizan en membrana plasmática y hay evidencia de otras que son reguladas por calcio/calmodulina. El aumento en la cantidad o en la actividad de una bomba de calcio puede alterar la transducción de señales; se ha encontrado que la duración y la localización de las ondas de calcio tienen una gran importancia para la interpretación que hará la célula respecto al estímulo que las desencadenó, y la presencia de proteínas que secuestran este ion, o de bombas y transportadores que afectan estos parámetros modificarán la interpretación de la señal. La regulación y el uso que hace la planta de las distintas isoformas de estas proteínas es también un tema importante de investigación (4-10).

Los homólogos de plantas de los canales de potasio (KAT1, AKT1, KST1) tienen un sitio de unión para nucleótido cíclico pero son funcional y estructuralmente distintos de los canales de origen animal. Además, los canales de potasio pueden ser regula-

dos por fosforilación, por pH y por proteínas G. Los canales tipo R podrían producir una despolarización transitoria, mientras que los canales aniónicos lentos permitirían la salida sostenida de cloro y provocarían la despolarización que activaría los canales de salida de K^+ , empujando su liberación, esto durante el cierre estomatal. El NPPB inhibe el cierre estomatal inducido por ABA (ácido abscísico) ya que bloquea ambos tipos de canales; el DIDS (ácido 4,4'-di isotiocianato estilbena - 2,2' disulfónico) bloquea los tipos R pero no los tipos S y no tiene efecto significativo sobre el cierre estomatal inducido por ABA (11).

CANALES PRESENTES EN LA VACUOLA DE LAS CÉLULAS GUARDA

Las vacuolas constituyen más del 90% del volumen de las células guarda y en el tonoplasto o membrana vacuolar se han identificado un gran número de canales (12). Los cationes como el Ca^{2+} , Na^+ y K^+ se acumulan en la vacuola contra su gradiente electroquímico y la concentración de calcio vacuolar libre es unas diez mil veces mayor que la citosólica; este es mantenido a 200 nM en el citosol pero puede alcanzar concentraciones de 1-10 μ M. Un intercambiador de H^+/Ca^{2+} , CAX1p, parece tener localización vacuolar, lo mismo que una bomba de calcio, LCA1, y una H^+ -pirofosfatasa; la H^+ -ATPasa y la pirofosfatasa acidifican la vacuola a pH's entre 6 y 2, polarizan el tonoplasto, positivo en el interior con respecto al citoplasma, y proveen la fuerza que permite la concentración de iones.

Hay canales vacuolares lentos permeables al calcio selectivos para cationes y canales vacuolares rápidos; los lentos son activados por Ca^{2+} citosólico; los canales rápidos, se cree, permiten la salida de K^+ de la vacuola durante el cierre estomatal, cuando se alcaliniza el citosol. Los canales vacuolares lentos de-

pendientes de voltaje son activados por Ca^{2+} citosólico y son además regulados por ATP, calmodulina, cinasas y fosfatasa como la calcineurina. El magnesio, tanto en el lado citosólico como en el lado vacuolar, disminuye las corrientes vacuolares rápidas e incrementa las corrientes lentas desde el lado citosólico. Los canales rápidos permiten la salida de K^+ cuando está activa la bomba de protones del tonoplasto (V-ATPasa); esta salida de potasio vuelve más positivo el lado citosólico de la membrana vacuolar, lo que puede activar canales iónicos lentos. Se han identificado además canales que son activados por ADP ribosa cíclica y por IP_3 (inositol trifosfato) pues estos compuestos son capaces de provocar la liberación de calcio de las vacuolas (13-15). Las plantas poseen fosfolipasa C específica para inositidos activada por calcio, lo cual podría llevar a la liberación de calcio inducida por calcio: la liberación de IP_3 , inducida por calcio, podría provocar más producción de IP_3 , que activaría canales y provocaría mayor liberación de calcio. Otros almacenes importantes de calcio intracelular son la mitocondria, el retículo endoplásmico y el cloroplasto, que podrían tener algún papel activo en la transducción de señales, además de servir como amortiguadores o reservorios del ión (ver figura 2) (13).

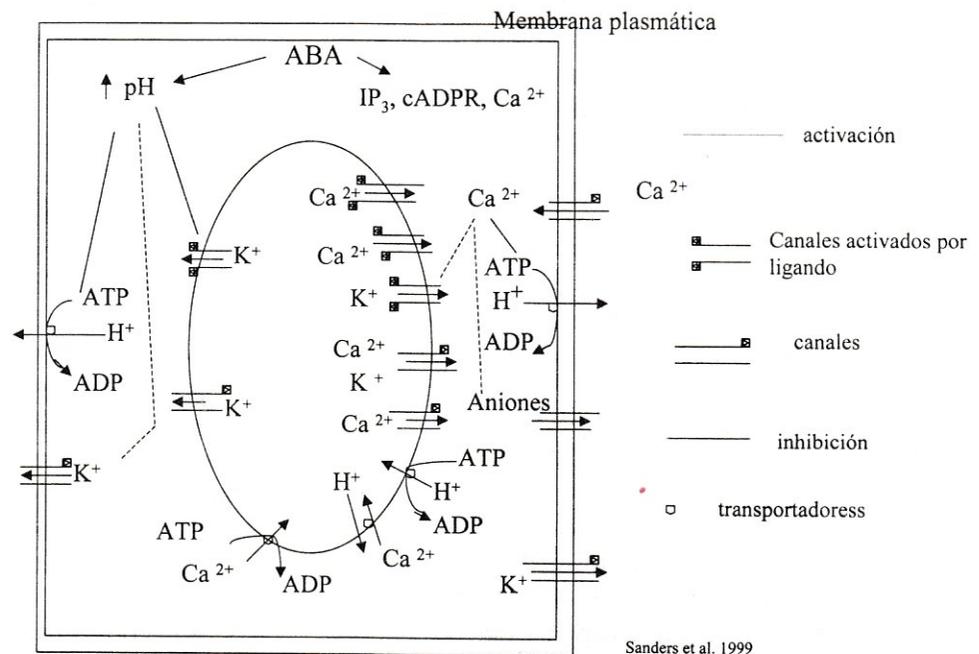


Figura 2. El ABA actúa inhibiendo algunos elementos y activando otros aumentando el pH citosólico y provocando la salida de cloro y potasio desde la vacuola, pasando por el citosol y la membrana plasmática, hasta el apoplasto o la célula subsidiaria. La salida de iones provoca la salida de agua por efecto osmótico.

Sanders et al. 1999

En las células guarda ocurren grandes cambios en el área superficial de la membrana en respuesta a los cambios osmóticos. Cuando se cierran los estomas se retira membrana plasmática vía la endocitosis y durante la apertura, al aumentar la turgencia de las guarda, se incorpora membrana nueva mediante la exocitosis (3). Las guarda tienen gran cantidad de mitocondrias que pasan por cambios ultraestructurales durante la apertura estomatal, relacionados con el aumento en la respiración; estas células tienen una alta tasa respiratoria, varias veces mayor que la de los protoplastos provenientes del mesófilo y altas actividades enzimáticas del ciclo de Krebs. La anoxia impide el cierre estomático y el cianuro es capaz de inhibir el cierre estomático inducido por ABA, resaltando la importancia de la respiración para la producción de energía necesaria para el cierre. La vía alternativa, sensible al ácido salicilhidroxámico (SHAM), pero no al cianuro, provee un tercio de la respiración, en contraste con las del mesófilo que presentan dos tercios sensibles al SHAM. La salida de protones se suple con energía de la fotosíntesis y la respiración, tienen fotosistema I (PSI) Fotosistema II (PSII) complejos colectores de luz (LHC), ATP sintetasas y altas tasas de fosforilación cíclica y no cíclica. La principal función de la fotosíntesis en las guarda parece ser la de la formación de malato, aunque cuando la fotosíntesis está activa en el mesófilo, toman sacarosa que almacenan en cantidades suficientes para no importar carbohidratos cuando la fotosíntesis es baja, como durante las mañanas. El transportador de azúcar STPI de *Arabidopsis* se expresa principalmente en estas células y es un cotransportador proton-hexosa; también se ha detectado que hay un mecanismo transportador de glucosa para cuando no se realiza fotosíntesis y otro para cuando esta actividad es alta (7).

RESPUESTA A LUZ

En células guarda la luz roja estimula la bomba de protones y esta activación ocurre sin retraso mensurable después de iluminar. La salida de protones estimulada por luz azul tiene un retraso de 30 segundos, lo que permite, entre otras cosas diferenciarla de la activación debida a otros estímulos, es rápida y toma 12-16 minutos. En *Mesembryantemum crystallinum* la inducción de la fotosíntesis vía CAM (metabolismo ácido de las crasuláceas) conlleva la pérdida de sensibilidad estomatal a la luz azul, y la incapacidad para la formación de zeaxantina dependiente de

esta longitud de onda en el cloroplasto; de hecho, esta síntesis tiene el espectro de acción de la fotosíntesis, así que el aumento en la luz roja aumenta el contenido de zeaxantina y la sensibilidad a esta longitud de onda. Con luz roja saturante el espectro de acción para la apertura estomatal tiene un pico a 450 nm y picos menores a 420 y 470 nm; en la región del UV (ultravioleta) tiene un pico a 280 y otro a 360; la excitación con longitud de onda de 280 nm favorece la hipótesis de una flavina actuando como fotorreceptor. La orquídea *Paphiopedilum harrisianum* tiene células guarda sin clorofila, pero aún responden al azul. Un mutante de *Arabidopsis* en zeaxantina, *npq1*, muestra respuestas normales a la luz blanca en sus estomas, pero le falta la respuesta al azul, y su crecimiento es normal bajo luz de sol no obstante no tener mecanismo fotoprotector a través de la vía de las xantofilas. Los mutantes *CRY1*, *CRY1CRY2*, *NPH1*, *NPH1CRY1* tienen estomas con respuesta normal al azul no obstante la ausencia de los receptores de luz azul *cry1*, *cry2* (criptocromos) y *nph1* (fototropina), incluso en ausencia de dos de estos fotorreceptores (los mutantes dobles) (8, 10).

Los receptores propuestos para activarse en respuesta a luz azul en las guarda incluyen zeaxantina y flavinas; el mutante *npq1* apoya la idea de que el cromóforo es la zeaxantina ya que está unida a proteínas y pasa por cambios conformacionales, de la forma *trans*, en la que se encuentran la mayor parte de las moléculas, a la forma *cis*, siendo este un posible modo de transmisión de la señal. La forma *trans* no absorbe en el UV-A. En el caso del fototropismo se había postulado también a la zeaxantina como el cromóforo responsable de la absorción en el azul, al igual que las flavinas; finalmente se ha logrado clonar el gen que codifica para la fototropina y se comprobó que lleva unido FMN, por lo cual se deberá esperar la comprobación sobre el fotorreceptor de luz azul implicado en la apertura estomatal (8, 10).

Cuando los estomas se iluminan simultáneamente con luz roja y azul tienen una respuesta mayor, y esto se explica por la interacción entre los receptores al rojo y al azul y debe haber además una vía de transducción de señales entre el cloroplasto y la membrana plasmática pues, como se anotó, la activación de la fotosíntesis lleva a la apertura estomática. Se ha propuesto que en la membrana plasmática hay un sistema redox en el que participarían un citocromo b,

otro del tipo P-450/420, flavinas y quinonas ya que la luz azul estimula la oxidación del NADH externo y la reducción del ferricianuro.

Otro fotorreceptor que tiene participación en las células guarda es el fitocromo, pero no tiene efectos en el corto plazo, actuaría especialmente al finalizar el día, durante el cierre.

La luz azul, al activar la bomba de protones (se puede alcanzar un potencial de membrana inferior a -200 mV) permite la absorción de iones, inactivando los canales que permiten la salida de K^+ y los aniónicos, estimula la degradación de almidón en el cloroplasto y la síntesis de malato en el citosol. Las cargas positivas del potasio son balanceadas con las cargas negativas del cloro entre un 6-73%; el malato es también utilizado con este fin y la proporción depende de la especie. Además de activar a la H^+ -ATPasa la luz azul induce la formación de fructosa 2,6 bifosfato que activa la glicolisis y lleva a la producción de malato. La PEP-carboxilasa (fosfoenolpiruvato carboxilasa), que produce al precursor del malato, no parece ser activada directamente por la luz azul, sino por la concentración de potasio y la alcalinización del medio provocada por el eflujo de protones. En la apertura y cierre estomático también participa indirectamente la actina, al influenciar la redistribución de las proteínas membranales y la permeabilidad iónica.

Se tiene evidencia de que los canales de calcio activados por despolarización de la membrana pueden ser desactivados al interactuar con microtúbulos, por lo que habría un control independiente del voltaje. Una toxina de hongo, la fusicoccina, también promueve la salida de protones con un retraso de 3 minutos, la extrusión continua hasta por más de 20 minutos, y parece lograrlo, entre otros mecanismos, al estabilizar un complejo H^+ -ATPasa –proteínas 14-3-3, además de que los filamentos de actina preformados cuando los estomas son estimulados por luz, para inducir la apertura, son desintegrados por esta toxina (7,9). Las 14-3-3 son un grupo de proteínas que forman complejos con diversas enzimas y reconocen residuos fosforilados de serina y/o treonina.

ACIDO ABSCÍSICO

El ABA es un fitoregulator implicado en el cierre estomatal, es sintetizado en raíz, células guarda y se distribuye de acuerdo con cambios en el pH; es más

eficaz cuando el pH externo es ácido, lo que sugiere que la forma activa es la protonada; el estoma del cloroplasto, debido a su pH alcalino, es uno de los sitios que captan ABA. Esta hormona provoca cierre de los estomas cuando es microinyectada, sugiriendo que hay un receptor interno, además de uno externo, respondiendo mejor las plantas que han sido previamente expuestas a calor y sequía. En *Vicia faba* y *Commelina communis* el cierre inducido por $1\mu M$ de ABA puede ser inhibido por bloqueadores de canales aniónicos. Los mutantes de Arabidopsis, ABI1 y ABI2 no tienen cierre estomatal inducido por ABA y esta hormona tampoco activa los canales aniónicos lentos en estas mutantes; se propone que esta hormona mantiene fosforilados los canales aniónicos y por lo tanto activos. Una de las primeras respuestas al ABA es el aumento de la actividad de fosfolipasa D (PLD), cuya activación se daría a través de proteínas G. El ácido fosfatídico, liberado por la PLD, mimetiza los efectos del ABA cuando es inyectado en las células guarda, elevando el calcio intracelular, que inhibe a la H^+ -ATPasa al ser fosforilada por una cinasa dependiente de calcio, y activa canales aniónicos, despolarizando la membrana y llevando a una mayor salida de aniones, que lleva a la activación de canales rectificadores de la salida de potasio.

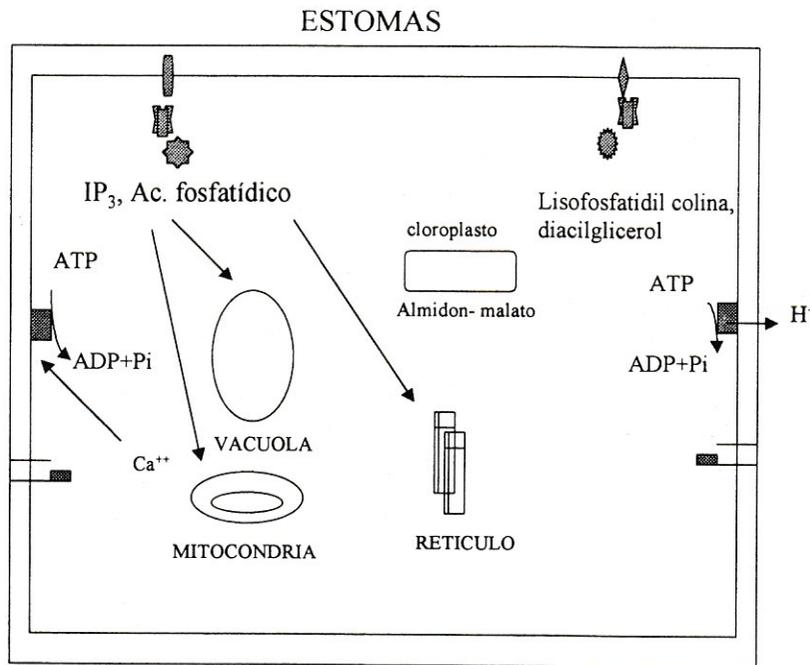
Cuando se incuban células guarda con ABA se activa una cinasa de 48 kDa, pero esta no se activa cuando se usan extractos celulares, lo que indica que el efecto del ABA sobre la cinasa no es directo y probablemente necesite de calcio; otras cinasas activadas en respuesta al ABA incluyen CDPKs, cinasas dependientes de calcio que podrían tener como blancos a los canales de potasio, de cloro, además de la CDPK que fosforila a la H^+ -ATPasa. El ABA también activa una fosfolipasa C (PLC), que produce IP_3 (inositol trifosfato) y diacilglicerol. El diacilglicerol puede ser rápidamente fosforilado para dar ácido fosfatídico (uno de los productos de la PLD) y ambos, el IP_3 y/o el ácido fosfatídico, inducen un incremento en el calcio intracelular, alcalinización del pH citosólico y provocan cierre estomatal; la activación de las bombas de protones del tonoplasto, la salida de K^+ de la propia vacuola y la liberación del calcio pueden explicar esta alcalinización. El calcio inhibe la entrada de K^+ y estimula la salida de Cl^- despolarizando la membrana y activando los canales de salida de K^+ en interacción con calmodulina; el ABA disminuye además la actividad de la H^+ -ATPasa; para esta

enzima también se ha encontrado que hay isoformas que son utilizadas por la planta para aspectos específicos, por ejemplo, la cosupresión del gen PMA4 en *Nicotiana plumbaginifolia* impide la traslocación de azúcares desde las hojas maduras así como la apertura estomatal y provoca infertilidad masculina. Canales activados por ADP ribosa cíclica y el ácido nicotínico adenin dinucleótido fosfato son intermediarios en la(s) vía(s) de transducción de señales del ABA, en un proceso donde se involucra al tonoplasto y la apertura y cierre, así como modulación, de canales iónicos (5,12,14). Para la apertura se ha implicado a una fosfolipasa A (PLA₂), que produce lisofosfatidilcolina y un ácido graso libre; la lisofosfatidilcolina se uniría a una cinasa que, a su vez, activaría a la H⁺ATPasa (ver figura 3). Un cDNA que codifica

para PLA₂ se clonó de *Ricinus communis*; una PLA₂ se purificó a partir de tejido de olmo y se han encontrado al menos ocho genes que codifican para PLC en arabidopsis. Los genes que codifican para proteínas G también se han clonado de arroz, soya y arabidopsis, lo mismo que algunos que codifican para canales, lo cual permitirá caracterizarlos y determinar con mayor precisión la función que tienen en la fisiología estomatal.

En *Samanea saman* existe un sistema muy semejante al de los estomas que se utiliza en la apertura y cierre de hojas; durante la apertura las células extensoras absorben iones y agua, mientras que las extensoras los pierden. Para el cierre de las hojas ocurre el proceso inverso. La luz azul activa la bomba de protones y los canales de entrada de K⁺, habiendo además participación de muchos de los componentes que participan en las células guarda, incluido un fotoreceptor a luz azul(15).

La respuesta de los estomas a los diferentes estímulos se ha llevado a cabo sobre todo en relación con el estudio de la resistencia al estrés hídrico por parte de las plantas. Con relación a esto se ha observado que en las plantas sometidas a sequía la fotosíntesis llega a un valor máximo durante la mañana y luego declina, a medida que las plantas pierden agua; sin embargo, durante la tarde las plantas se recuperan de esta pérdida, pero no hay una recuperación concomitante de la fotosíntesis, y la conductancia estomatal sigue un patrón muy semejante al de esta. Al parecer, en la mayoría de las especies la capacidad fotosintética se mantiene hasta que el estrés hídrico



- RECEPTOR
- PROTEINA G
- PLC/D
- RECEPTOR DE LUZ
- PLA

Figura 3. Cuando hay pérdida de agua (al mediodía o por déficit hídrico) la planta cierra los estomas; el ABA, se supone, activa algún receptor a través de proteínas G, las que activan una fosfolipasa y el producto de esta (ácido fosfatídico o inositol trifosfato) permiten la entrada de calcio así como su liberación de los almacenes internos; la bomba de protones es inhibida y se activan canales aniónicos (algunos por strecht), se inhiben las fosfatasas (probablemente ABI1 y ABI2), hay alcalinización del medio y el malato se reconvierte a almidón. Cuando el status hídrico de la planta es bueno y la fotosíntesis está activa se da la apertura activando la bomba de protones, activando canales para la entrada de potasio y hay síntesis de malato.

es ya considerable, pero el declive en esta actividad se explica por el cierre estomático, que evita la pérdida de agua. Midiendo con un porómetro, o con un analizador de gases infrarrojo (IRGA), se puede ver que una planta en buenas condiciones pierde agua sólo a través de los estomas, de allí que el control sobre su cierre y apertura sea tan importante. En plantas sujetas a sequía se registra una "consunción" de los azúcares solubles y del almidón, indicando el impacto de esta en la asimilación y traslocación de fotoasimilados.

La participación concertada y coordinada de todos estos elementos y vías de transducción de señales les permiten a las plantas adaptarse de manera rápida a las condiciones ambientales para regular o impedir la pérdida de agua, permitir la entrada de CO₂ y ajustar la fotosíntesis a las fluctuaciones de agua, viento, luz, etc.; además, tienen la posibilidad de hacer ajustes a más largo plazo aumentando o disminuyendo la densidad y el índice estomatal, así como el tamaño de la hoja, dependiendo de la disponibilidad de agua, luz y CO₂, principalmente.

REFERENCIAS

1. Claussen M, Lüthen H, Blatt M, Böttger M, Böttger (1997) Auxin-induced growth and its linkage to potassium channels. *Planta* 201:227-234.
2. Mc Elwain J C y Chaloner W G (1995) Stomatal density and index of fossil plants track atmospheric carbon dioxide in the paleozoic. *Annals Bot* 76:389-395.
3. Kubitscheck U, Homann W, Thiel G (2000) Osmotically evoked shrinking of guard-cell protoplasts causes vesicular retrieval of plasma membrane into the cytoplasm. *Planta* 210:423-431.
4. Leng Q, Mercier R W, Yao W, Berkowitz G A (1999) Cloning and first functional characterization of a plant cyclic nucleotide-gated cation channel. *Plant Physiol* 121:753-761.
5. Barbier-Brygoo H, Frachisse J M, Colcombet J, Thomine S (1999) Anion channels and hormone signaling in plant cells. *Plant Physiol Biochem.* 37:381-392.
6. Pei Z.M., Ward J M, Schroeder J I (1999) Magnesium sensitizes slow vacuolar channels to physiological cytosolic calcium and inhibits fast vacuolar channels in fava bean guard cell vacuoles. *Plant Physiol* 121: 977-986.
7. Parvathi K y Raghavendra A S (1995) Bioenergetic processes in guard cells related to stomatal function. *Physiol Plant* 93:146-154.
8. Elsinger W, Swartz T E, Bogomolni R A, Taiz L (2000) The ultraviolet action spectrum for stomatal opening in broad bean. *Plant Physiol* 122: 99-105.
9. Eun Soon-ok y Youngsook Lee (2000) Stomatal opening by fusicoccin is accompanied by depolymerization of actin filaments in guard cells. *Planta* 210:1014-1017.
10. Assmann S M y Shimazaki K I (1999) The multisensory guard cell. Stomatal responses to blue light and abscisic acid. *Plant Physiol.* 119:809-815.
11. Mori I C y Muto S (1997) Abscisic Acid Activates a 48 Kilodalton protein kinase in guard cell protoplasts. *Plant Physiol.* 113:833-839.
12. Schroeder J I y Hedrich R (1989) Involvement of ion channels and active transport in osmoregulation and signaling of higher plant cells. *Tibs* 14:86-92.
13. Sanders D, Brown Lee C, Harper J F (1999) Communicating with calcium. *Plant Cell* 11:691-706.
14. Ward J M, Zheng-Ming P, Schroeder J I (1995) Roles of ion channels in initiation of signal transduction in higher plants. *Plant Cell* 7:833-844.
15. Suh S, Moran N, Lee Y (2000) Blue light activates potassium-efflux channels in flexor cells from *Samanea saman* motor organs via two mechanisms. *Plant Physiol* 123:833-843.

LA MAPK-p38, SU ESTRUCTURA, CINÉTICA Y FUNCIÓN

M. Eugenia Torres-Márquez*, Rodrigo Franco** y Lenin D. Ochoa de la Paz**. *Departamento de Bioquímica de la Fac. de Medicina, UNAM, Apdo. Postal 70-159, México 04510 DF. E-mail: metorres@servidor.unam.mx. **Departamento de Neurociencias del Instituto de Fisiología Celular, UNAM.

Recibido: 6 de junio de 2000. Aceptado: 13 de febrero de 2001.

RESUMEN

La MAPK-p38 es un grupo de cuatro isoformas de cinasas de serina y treonina, involucradas en respuestas a diferentes tipos de estrés, en una gran cantidad de tipos celulares. En la cascada de transducción que media la MAPK-p38, justo río arriba existen dos cinasas que median la activación de la MAPK-p38 en respuesta al estrés; las cinasas de la MAPK o MKK o MEK y las cinasas de la cinasas de la MKK o MKKK. Una vez activada la MAPK-p38 ésta es capaz de inducir factores de transcripción o estimular otras cinasas, como la proteína activada por MAPK o MAPKAP. Por la fosforilación sobre estos elementos, la MAPK-p38 es capaz de participar en procesos celulares como la diferenciación, re-arreglos del citoesqueleto, apoptosis, etc. Algunos aspectos de la estructura, cascada de transducción y su función se revisan en este manuscrito.

PALABRAS CLAVE: MAPK, cinasas de serina y treonina, transducción de señales.

ABSTRACT

MAPK-p38 is a group of four isoforms of Serine/Threonine kinases involved in the stress responses, in a variety of cell types. In the signaling cascade upstream of MAPK-p38 there are two kinases, the kinase of the MAPK or MEK and the kinase of the MAPK kinase or MKKK. Once that MAPK-p38 is activated, it is able to induce transcription factors or to stimulate other type of kinases as the protein activated by MAPK or MAPKAP. The phosphorylation of these elements by the MAPK-p38, explains its participation in differentiation, cytoskeleton re-arrangements, apoptosis, etc. Some aspects of the protein, the signaling cascade and its function are reviewed here.

KEY WORDS: MAPK, Ser/Thr kinases, Signal transduction.

ABREVIATURAS

aa, Aminoácido (s); Ask1, Cinasa regulatoria de la apoptosis-1; ATF-2, Factor activador de transcripción 2; CHOP, Factor de transcripción de la familia C/EBP; Elk-1, Factor de transcripción del complejo ternario, formado entre otros por los factores de respuesta al suero y elementos de respuesta al suero; ERK1/2, Cinasas reguladas por señales extracelulares; Hsp-27, -70, Proteínas de choque térmico 27, 70; IL-1, -2, -7, Interleucinas 1,2,7; MAPK, Proteína cinasa activada por mitógenos; MAPKAPK-2, Proteína cinasa activada por MAPK; MBP, Proteína básica de mielina; MKK o MEK, Cinasas de las MAPK; MKKK, Cinasas de las MKK; Pak, Cinasa activada por p-21; SAPK/JNK, Proteínas cinasas activadas por estrés que fosforilan el N-terminal de c-Jun; Sprk, Cinasa miembro de la subfamilia las cinasas de linaje mixto; TAK1, Cinasa asociada al factor de crecimiento de transformante-b; TNF, Factor de necrosis tumoral.

INTRODUCCIÓN

Las proteínas cinasas activadas por mitógenos (MAPK) forman una familia de cinasas específicas de serina/treonina, altamente conservadas entre los organismos eucarióticos, tienen una masa molecular de 38-55 kDa y una homología entre las distintas subfamilias, mayor al 40%. Son activadas por diferentes cinasas de la MAPK al ser fosforiladas en regiones consenso de treonina-Xaa-tirosina, en un asa de activación cercana al sitio de unión para los sustratos (la proteína y el ATP); la identidad del aminoácido Xaa varía dentro de las diferentes subfamilias. Las cascadas de señalización de las cuales forman parte, consisten básicamente en módulos de tres cinasas que incluyen: a las MAPK, a las cinasas de las MAPK (MKK o MEK) y a las cinasas de las MKK (MAPKKK). Las MAPK se agrupan sobre la base de la similitud de su secuencia primaria, a sus mecanismos de regulación y

a su sensibilidad para ser activadas por diferentes MAPKK (1). Las tres diferentes familias son: las cinasas reguladas por señales extracelulares (ERK1/2) que están involucradas en procesos de proliferación, las proteínas cinasas activadas por estrés que fosforilan el N-terminal de c-Jun (SAPK/JNK) y las MAPK-p38; las cuales participan en fenómenos de estrés celular. Es a la familia de las MAPK-p38 a la que se abocará esta revisión.

MAPK-p38 Y SU CLASIFICACIÓN

La MAPK-p38 es una subfamilia de MAPK, tiene una masa molecular de 38 kDa y su región consenso de fosforilación es: treonina-glicina-tirosina. Estas cinasas son blanco de las MKK3 y MKK6, las cuales son específicas para esta familia MAPK-p38 (2), aunque algunas de las isoformas de esta familia son también blanco de las cinasas MTK1 (cinasa 1 de las MAP tres), de la TAK1 (cinasa 1 activada por el factor de crecimiento tumoral- β) y la MKK4 que tienen entre otros blancos a las proteínas SAPK/JNK (1) o de las MKK4.

La MAPK-p38 es una proteína homóloga a la HOG-1 (proteína-1 de respuesta a la alta hiperosmolaridad del glicerol) de *Sacharomyces*, y se piensa que las diferentes MAPK-p38 evolucionaron a partir del gen ancestral de esta proteína muy semejante al de las levaduras actuales.

Hasta la fecha se han identificado cuatro isoformas: MAPK-p38a (3), -p38b (4), -p38g (5) y -p38d (6), cuyas características generales se muestran en la Tabla I.

En general, estas enzimas pueden usar, tanto *in vitro* como *in vivo*, a las siguientes proteínas como sustratos: proteína básica de mielina (MBP), factor activador de transcripción-2 (ATF-2), proteína cinasa-2 activada por MAPK (MAPKAPK-2), y el factor de transcripción del grupo ternario denominado Elk1. *In vitro*, algunas de las isoformas son más eficientes que otras para fosforilar a algunos de los sustratos, al grado de no fosforilarlos; sin embargo, ésta comparación que podría ser interesante por sus implicaciones en la determinación de funciones específicas para las isoformas de la cinasa no se ha explorado *in vivo*.

La isoforma MAPK-p38a. Esta proteína es susceptible de fosforilación por la MKK3, MKK4 y MKK6/6b y está constituida de 360 aminoácidos (aa). Sus sustratos y distribución celular se enumeran en la tabla I. Un inhibidor relativamente específico para esta familia de enzimas es el compuesto SB 202190, cuya concentración inhibitoria del 50% de la actividad (IC 50) en la isoforma MAPK-p38a en presencia de ATF-2 y MBP es de 0.28 mM.

TABLA I

LA MAPK-P38: ISOFORMAS, DISTRIBUCIÓN, SUBSTRATOS Y ACTIVADORES

ISOFORMA	DISTRIBUCIÓN	SUBSTRATOS	ACTIVADORES
p38a	Ubicua MAPKAPK-2, Elk1	MBP, ATF-2,	Endotoxinas bacterianas, citocinas pro-inflamatorias**, y estímulos fisicoquímicos (luz UV, arsenito, incremento en la osmolaridad)
p38b	Ubicua MAPKAPK-2	MBP, ATF-2*,	Endotoxinas bacterianas, citocinas pro-inflamatorias, y estímulos fisicoquímicos (luz UV, arsenito, incremento en la osmolaridad)
p38g	Músculo	MBP	Endotoxinas bacterianas, citocinas pro-inflamatorias, y estímulos fisicoquímicos (luz UV, arsenito, incremento en la osmolaridad)
p38d	Abundante en pulmón y riñones	ATF-2***, Elk1, MBP	Endotoxinas bacterianas, citocinas pro-inflamatorias, y estímulos fisicoquímicos (luz UV, arsenito, incremento en la osmolaridad)

* La fosforilación de este sustrato es 5 veces mayor con respecto a la isoforma MAPK-p38a. ** Estimulada 4 veces más que la isoforma MAPK-p38b por IL-1 β . *** La fosforilación de éste sustrato es 3 veces menor que con MAPK-p38a.

La isoforma MAPK-p38b es un polipéptido de 372 aa, con una homología del 74% en relación con MAPK-p38a. Se ha demostrado por la detección de su RNAm que se encuentra en cerebro, corazón, pulmón, hígado, placenta, riñón y páncreas. La IC 50 para el SB 202190 para el ATF-2 y la MBP es de 0.35 mM. La cinética de activación por el factor de necrosis tumoral a (TNF α) es diferente a la de la isoforma MAPK-p38a, pues ésta tiene un pico de actividad menos intenso, pero más sostenido (4).

La MAPK-p38g está compuesta de 367 aa. Esta isoforma tiene un porcentaje de homología del 63 y 62% con p38a y p38b, respectivamente. El peso molecular aparente, en geles de poli(acrilamida)-SDS, es de 45 kDa. La inhibición que presenta con SB 202190 tiene una IC₅₀ de 0.39 mM, similar a la reportada para la MAPK-p38a y la -p38b (5).

La MAPK-p38d tiene una homología del 60% con relación a las otras isoformas de MAPK-p38, esto es 61, 59 y 65% con respecto a MAPK-p38a, -p38b y -p38g, respectivamente. La actividad de esta isoforma de MAPK-p38 no se bloquea por el SB202190, como sucede con las otras tres isoformas. Además de ser activada por MKK3 y MKK6, p38d es activada por una cinasa de 39 kDa, no caracterizada aún. Los residuos Thr¹⁸⁰ y Tyr¹⁸² son los sitios reguladores de la fosforilación en esta proteína (6).

ESTRUCTURA

Las enzimas de esta familia se caracterizan por tener dos dominios separados por un canal central profundo donde se unen los sustratos potenciales, ver Figura 1 A y B. El dominio amino-terminal (aproximadamente 135 residuos de aminoácidos) crea la bolsa de enlazamiento para la adenina del ATP, y el dominio carboxilo-terminal (aproximadamente 225 residuos) contiene el dominio catalítico, los sitios de enlace con magnesio y el asa cercana al sitio donde son fosforiladas las MAPK, éste es referido como “pliegue de fosforilación” (7). El dominio amino-terminal está compuesto principalmente por laminas b-plegadas, mientras que el dominio carboxilo-terminal está compuesto básicamente de α -hélices. El sitio catalítico se encuentra en la unión de estas dos regiones (8).

El pliegue de fosforilación de las MAPK-p38 corresponde a los residuos Gly¹⁷⁰-Thr¹⁸⁵, éste tiene una secuencia y conformación únicas, lo cual permite su reconocimiento por el sitio activo de las MEK (8). La estructura que se puede observar en la enzima no fosforilada (Fig 1A), sugiere que la región del polipéptido, formada por los aminoácidos 170-174 y 175-178, ocupa el canal donde se enlazan los sustratos de la MAPK-p38 y de esta manera se explica la baja actividad enzimática de esta forma de la proteína. Uno de los residuos involucrados en la regulación de la MAPK-p38 es la Tyr¹⁸², los estudios estructu-

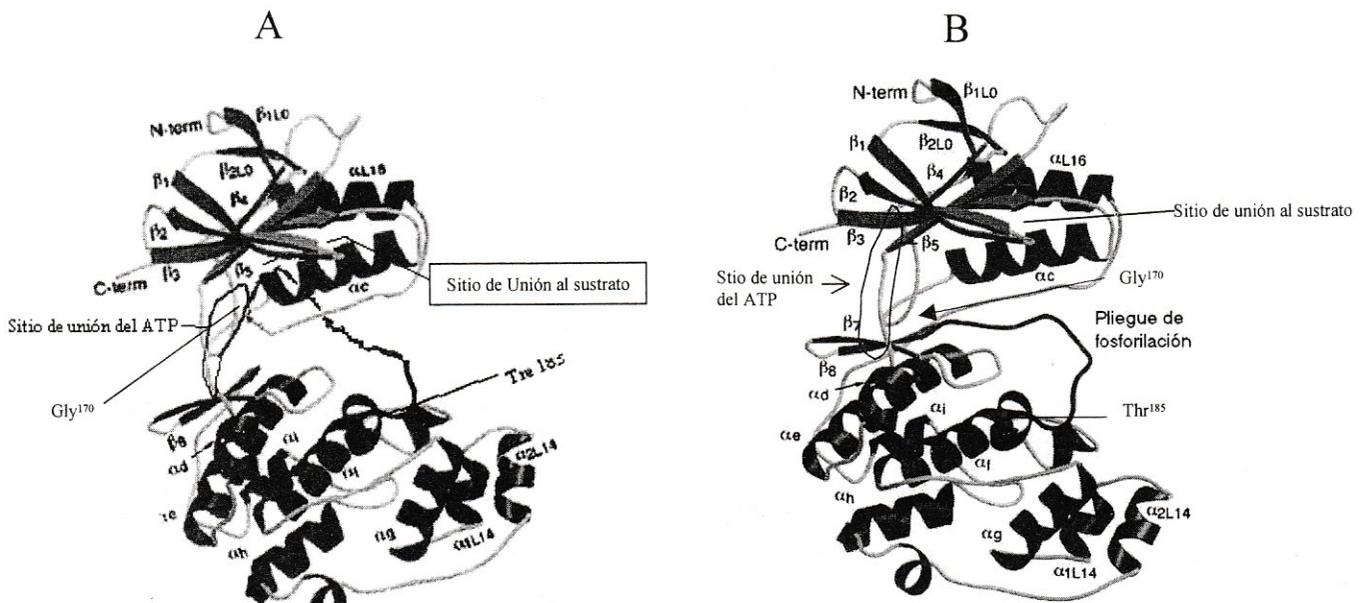


Figura 1. Estructura en modelo de listones de la MAPK-p38. A) corresponde a la forma no fosforilada y B) a la forma fosforilada de la enzima. El símbolo a-a,b,etc indica estructura de α -hélice con su número identificador correspondiente, el símbolo b-1,2, etc indica la estructura de hojas b con su número identificador correspondiente.

TABLA II

PARÁMETROS CINÉTICOS DE LA MAPK-p38			
SUSTRATO	K_m (mM)	K_{cat} (mM)	K_i (mM), SB203580
GST-ATF-2	6.2 ± 0.6	4.8 ± 0.2	0.084 ± 0.006 (incompetitivo)
MgATP	23 ± 2		0.034 ± 0.002 (competitivo)

rales sugieren que la fosforilación en este residuo produciría su movilización hacia la Met¹⁷⁹, sitio de unión del fosfato unido a la P-Tyr, y esto provocaría el desplazamiento del pliegue de fosforilación (Fig 1B), este movimiento influiría en la localización de otros residuos del asa de fosforilación y ayudarían a desbloquear el sitio activo (7). Otro sitio de importancia dentro de la MAPK-p38 es el asa 12, pues su longitud y el sitio consenso de fosforilación influyen en la especificidad del sustrato; al mismo tiempo, la longitud del asa influye sobre la autofosforilación.

CINÉTICA

Cuando LoGrasso y col (9) estudiaron la cinética de la MAPK-p38, utilizando como sustratos al ATP y a la proteína de fusión GST-ATF-2, encontraron que el mecanismo de reacción para esta enzima es de tipo secuencial ordenado, en equilibrio rápido. El primero en enlazarse fue el péptido y después el ATP, el ATP se une pobremente en ausencia del sustrato peptídico.

Los parámetros cinéticos se muestran en la Tabla II. También, en esa tabla, se puede encontrar el valor de la K_i para un inhibidor específico, ampliamente

utilizado cuando se estudia la participación de esta enzima.

Muchos inhibidores de las cinasas se unen al sitio de unión del ATP compitiendo con él. Recientemente, se ha descrito que los imidazoles piridinilos son inhibidores específicos para la MAPK-p38, entre ellos se encuentran el 4-(4-Fluorofenil)-2-(4-metilsulfonilfenil)-5-(4-piridil)1H-imidazol (SB203580) y el 4-(4-Fluorofenil)-2-(4-hidroxifenil)-5-(4-piridil)1H-imidazol (SB202190) (ver Fig. 2A y 2B) y sus análogos, como el L-167307, L-167782, L-786134 y el L-799543. La forma de actuar de estos inhibidores es la siguiente: el anillo piridinilo, en la posición 5 del imidazol, forma un puente de hidrógeno con el protón posterior de la Met¹⁰⁹. Además, el anillo piridinilo se une a la cadena de la Met¹⁰⁹ por fuerzas de Van der Waals. El 4-fluorofenil en el imidazol ocupa el saco hidrofóbico cerrado del sitio de unión del ATP (10).

El SB203580 solo inhibe a las isoformas MAPK-p38a y -p38b lo que nos indica el alto grado de especificidad de estos compuestos. La especificidad y sensibilidad al SB203580 son conferidas por los re-

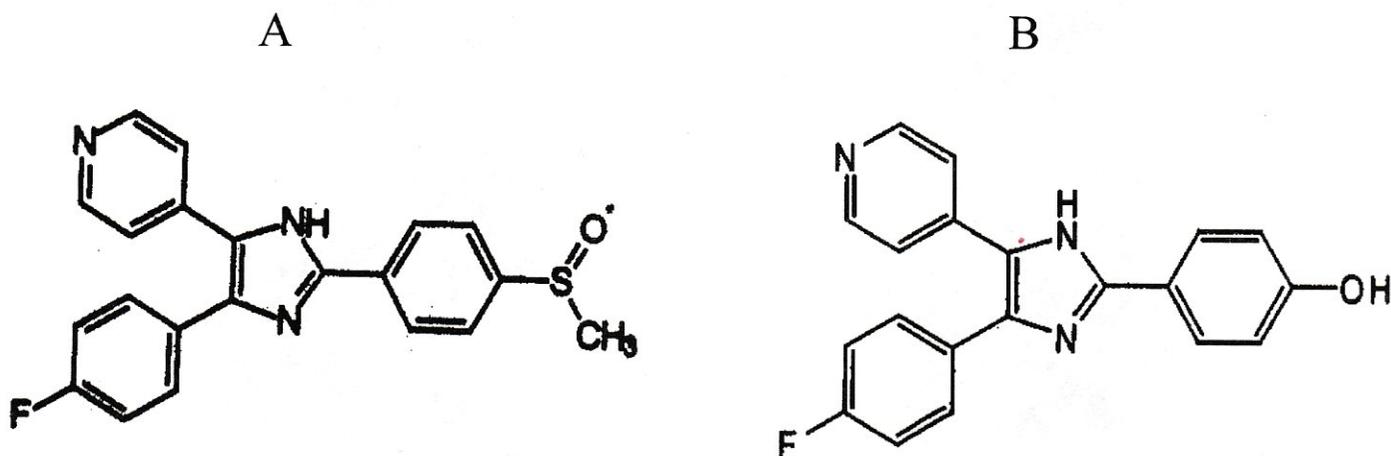


Figura 2. Estructura del SB-203580 y del SB-202190, inhibidores de la MAPK-p38. A) 4-(4-Fluorofenil)-2-(4-metilsulfonilfenil)-5-(4-piridil)1H-imidazole; B) 4-(4-Fluorofenil)-2-(4-hidroxifenil)-5-(4-piridil)1H-imidazole.

siduos Thr¹⁰⁶, His¹⁰⁷ y Leu¹⁰⁸ que se ubican en la parte posterior a la bolsa de unión a ATP y forman la unión entre los dos dominios que flanquean el sitio activo. Los residuos Leu⁵³, Leu¹⁵² y Asn¹⁶⁸ son residuos catalíticos importantes, conservados en todas las cinasas de residuos de serina/treonina. Los residuos Val³⁸, Ile⁸⁴ y Leu¹⁷¹, son residuos localizados dentro de la bolsa de unión a ATP, altamente conservados. Al parecer, estos inhibidores interactúan con combinaciones de residuos tanto conservados como no conservados, algunos de los cuales solo interactúan con el inhibidor y otros son utilizados en la unión a ATP también (10).

Existe otro inhibidor de la clase de los imidazoles, el VK-19911, este inhibidor bloquea la entrada del ATP al sitio activo de la enzima. En el complejo MAPK-p38-ATP, la Met¹⁰⁹ forma un puente de hidrógeno con el N4 del anillo de piridina del VK-19911. Además el anillo de p-fluorofenilo del inhibidor, que queda protegido del solvente, se ubica dentro de una distancia favorable para formar interacciones de Van der Waals con 10 residuos hidrofóbicos de la MAPK-p38. Otro inhibidor de la MAPK-p38, es un péptido que consta de 15 aa, los cuales conforman la hélice a de ERK1. Este péptido también compete con MAPK-p38 o ERK1 por la unión con MEK o MKK3, por lo que inhibe su fosforilación. Por último, se encuentran las drogas anti-inflamatorias supresoras de citocininas (CSAID) que inhiben a la MAPK-p38 con eficiencia. Una de estas, la droga que enlaza proteínas anti-inflamatorias participantes en la síntesis de citocininas 1 (CSBP1) se une al sitio de unión del ATP, mientras que la CSBP2 se une a la secuencia consenso del carboxilo-terminal. Una parte de este inhibidor se une al Trp¹⁹⁷ del asa L12 por medio de uno de sus benzenos con un enlace tipo p e interactúa con el Glu¹⁹² y la Arg²⁹⁶, que son los residuos más conservados de las MAPK. La otra parte del inhibidor interactúa con los residuos 249-252.

FUNCIÓN

La función de las MAPK-p38 está definida por su participación en la siguiente cascada de señalización, ver Figura 3.

En primer lugar llega un estímulo externo como: rayos UV, incremento en la osmolaridad extracelular, citocinas proinflamatorias o productos de microbios patógenos. Estos estímulos producen la activación de

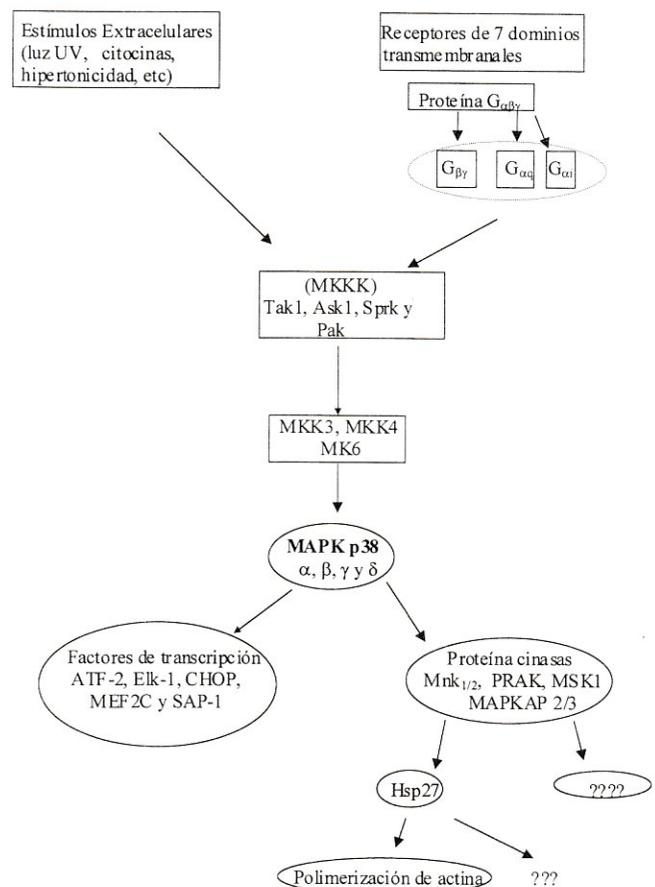


Figura 3. Esquema de la cascada de señalización en la que participa la MAPK-p38. Ask1, cinasa reguladora de la apoptosis-1; ATF-2, factor activador de transcripción 2; CHOP, factor de transcripción de la familia C/EBP; Elk-1, factor de transcripción del complejo ternario, formado entre otros por los factores de respuesta al suero y elementos de respuesta al suero; MAPKAP, proteína cinasa activada por MAPK; MKK, cinasas de las MAPK; (M)KKK, cinasas de las (M)KK; Pak, cinasa activada por p-21; Sprk, cinasa miembro de la subfamilia las cinasas de linaje mixto; TAK1, cinasa asociada al factor de crecimiento transformante-b.

las (M)KKK, particularmente: Tak1, Ask1, Sprk y Pak. A su vez, estas cinasas fosforilan y activan a las MKK3, MKK4 y MKK6, las cuales catalizan la fosforilación dual del sitio consenso “treonina-glicina-tirosina” de las MAPK-p38. Una vez activada, la MAPK-p38 puede fosforilar y activar diferentes sustratos como los que se muestran en la Tabla III.

Otro mecanismo que actualmente está siendo explorado es por el cual se estimulan con agonistas para receptores de siete dominios transmembranales, entre éstos se conoce que la colecistocinina puede activar a la MAPK-p38 en páncreas (11), los receptores muscarínicos M1 y M2, en células modelo para la expre-

TABLA III

SUSTRATOS FISIOLÓGICOS Y FUNCIONES DE LA MAPK-p38

SUSTRATO	SITIO DE ACCIÓN	EFEECTO
MAPKAPK-2		Fosforila a su vez a la proteína de choque térmico Hsp27.
Factores de transcripción: ATF-2	Treonina 69 y 71 en el extremo amino	Incremento en la actividad transcripcional, particularmente de moléculas pro-inflamatorias.
Elk-1	Extremo amino	
CHOP (GADD153)	Serina 78 y 81	Aumenta la capacidad de funcionar como activador transcripcional.
Otras Funciones		Producción de IL-2 en células T. Producción de IL-1 y TNF en monocitos estimulados. Estimulación de la división celular por IL-2 y IL-7. Apoptosis o su inhibición. Diferenciación o su inhibición.

sión de estos receptores como son las HEK293, también activan a la cinasa por medio de las proteínas G_q / G_{11} y G_i , respectivamente. También en plaquetas las MAPK-p38 se estimulan por la acción de la trombina.

Se ha establecido, en algunos sistemas, una correlación entre la activación de la transcripción por MAPK-p38 y algunas respuestas celulares. Por ejemplo, la activación del factor de transcripción de la familia C/EBP (CHOP), mediada por la MAPK-p38, parece ser un factor importante en la inducción, de la diferenciación de eritrocitos, por eritropoyetina (12). También se estableció que la activación de CHOP por la acción de la MAPK-p38 lleva a la inhibición de la diferenciación adipocítica (13).

La regulación de la expresión de algunas proteínas por MAPK-p38, parece ir mas allá de la regulación en la transcripción de las mismas; por ejemplo, puede participar en la traducción y/o estabilidad del RNAm. Dentro de estos ejemplos está, la regulación por la MAPK-p38, de la expresión y estabilidad del mensajero de la ciclooxygenasa 2, inducida por lipopolisacárido en monocitos humanos (14).

La participación de la MAPK-p38 en fenómenos de estrés es, además de su papel en la activación de factores de transcripción, por activación de las

MAPKAP 2/3. Esta activación por ejemplo, induce la fosforilación de la proteína de choque térmico 27 (Hsp 27), la cual *in vitro* inhibe la polimerización de actina y presumiblemente *in vivo* regula la reorganización de actina, como respuesta al estrés oxidativo en células endoteliales de vena umbilical (15) y en el páncreas (11). En células de tumor de cerebro 9L, participa en la expresión de la proteína de choque térmico Hsp-70, al fosforilar al factor transcripcional asociado al choque térmico (HSF1) y así inducir la interacción de HSF1 con el elemento de choque térmico (HSE) presente en el promotor de Hsp-70, lo que conlleva a la expresión génica de la proteína (16).

La MAPK-p38 también participa en la apoptosis, su participación es específica del tipo de inducción y del tipo celular. En la apoptosis inducida por Fas o ceramida en células Jurkat, se ha observado que la activación de MAPK-p38 lleva a la apoptosis por una señal mediada por Ras y Rac-1 hasta llegar al factor de transcripción GADD153 (17). Su participación es selectiva, incluso entre un mismo tipo celular, esto es participa en la apoptosis de los linfocitos CD8 pero no en la de los CD4. La inducción de la apoptosis es mediada por una pérdida en la proteína antiapoptótica Bcl-2. En las células CD4 induce la producción de IFNg. Este papel en la regulación apoptótica diferencial entre las poblaciones de linfo-

citosis se ha considerado como fundamental en la homeostasis de las células T en el sistema periférico inmune, pues ésta es modulada en principio, por factores ambientales (18).

CONCLUSIÓN

La MAPK-p38 tiene una participación importante en las respuestas al estrés, algunas de ellas exclusivamente mediadas por ésta, induciendo factores de transcripción y otras cinasas cascada abajo. Entre las respuestas en las que participa están, la diferenciación, la apoptosis y la secreción de citocinas. Las vías que conducen a su estimulación, así como los elementos posteriores a ésta, son de interés y abundantemente estudiadas en la actualidad, pues permitirán entender los mecanismos participantes en tan complejos procesos. El conocimiento de la estructura de la MAPK-p38 ha reflejado sus semejanzas con otros elementos de las MAPK, así también ha ilustrado el porqué regiones no conservadas de la proteína son esenciales para su estimulación selectiva, por algunas cinasas que traen el mensaje generado por los diferentes tipos de estrés. Los estudios de su cinética han ilustrado: un mecanismo de reacción secuencial ordenado y que la acción del inhibidor clásico de la MAPK-p38 (SB203580), es por competencia con el sitio de unión al ATP.

REFERENCIAS

1. Schenk PW y Snaar-Jugalska BE (1999) Signal perception and transduction: the role of protein kinases, *Biochim Biophys Acta* 1449: 1-24.
2. Derijard B, Raingeaud J, Barrett T, Wu IH, Han J, Ulevitch RJ y Davis RJ (1995) Independent human MAP-kinase signal transduction pathways defined by MEK and MKK isoforms, *Science* 267:682-685.
3. Jahn R, Schiebler W, Ouimet C y Greengard P (1985) A 38,000-dalton membrane protein (p38) present in synaptic vesicles, *Proc Natl Acad Sci (USA)* 82:4137-4141.
4. Jiang Y, Chen C, Li Z, Guo W, Gegner JA, Lin S y Han J (1996) Characterization of the structure and function of a new mitogen-activated protein kinase (p38beta), *J Biol Chem* 271: 17920-17926.
5. Li Z, Jiang Y, Ulevitch R J y Han J (1996) The primary structure of p38g: a new member of p38 group of MAP kinases, *Biochem Biophys Res Commun* 228: 334-340.
6. Jiang Y, Gram H, Zhao M, New L, Gu J, Feng L, Di Padova F, Ulevitch R.J y Han J, (1997) Characterization of the structure and function of the fourth member of p38 group mitogen-activated protein kinases, p38d, *J Biol Chem* 272:30122-30128.
7. Wilson KP, Fitzgibbon MJ, Caron PR, Griffith JP, Chen W, McCaffrey PG, Chambers SP y Su MSS (1996) Crystal structure of p38 mitogen-activated protein kinase, *J Biol Chem* 271: 27696-27700.
8. Wang Z, Harkins PC, Ulevitch RJ, Han J, Cobb MH y Goldsmith EJ (1997) The structure of mitogen-activated protein kinase p38 at 2.1-Å resolution, *Proc Natl Acad Sci (USA)* 94:2327-32.
9. LoGrasso P V, Frantz B, Rolando AM, O'Keefe SJ, Hermes JD, O'Neill EA, (1997) Kinetic mechanism for p38MAP kinase, *Biochem* 36: 10422-10427.
10. Gum R J, McLaughlin MM, Kumar S, Wang Z, Bower M.J, Lee JC, Adams JL, Livi GP, Goldsmith EJ y Youn PR (1998) Acquisition of sensitivity of stress-activated protein kinases to the p38 inhibitor, SB 203580, by alteration of one or more amino acids within the ATP binding pocket, *J Biol Chem* 273:15605-15610.
11. Schäfer C, Ross SE, Bragado MJ, Groblewski GE, Ernst SA y Williams JA (1998) A role for the p38 mitogen-activated protein kinase/Hsp 27 pathway in cholecystokinin-induced changes in the actin cytoskeleton in rat pancreatic acini, *J Biol Chem* 273: 24173-24180.
12. Coutts M, Cui K, Davis KL, Keutzer JC, Sytkowski A J (1999) Regulated expression and functional role of the transcription factor CHOP (GADD153) in erythroid growth and differentiation, *Blood* 93: 3369-3378.
13. Wang XZ y Ron D (1996) Stress-induced phosphorylation and activation of the transcription factor CHOP (GADD153) by p38 MAP kinase, *Science* 272: 1347-1349.
14. Dean JLE, Brook M, Clark AR y Saklatvala J (1999) p38 mitogen-activated protein kinase regulates cyclooxygenase-2 mRNA stability and transcription in lipopolysaccharide-treated human monocytes, *J Biol Chem* 274: 264-269.
15. Huot J, Houle F, Marceau F y Landry J (1997) Oxidative stress-induced actin reorganization mediated by the p38 mitogen-activated protein kinase/heat shock protein 27 pathway in vascular endothelial cells, *Circ Res* 80: 383-392.
16. Hung JJ, Cheng TJ, Lai YK y Chang MDT (1998) Differential activation of p38 mitogen-activated protein

- kinase and extracellular signal-regulated protein kinases confers cadmium-induced HSP70 expression in 9L rat brain tumor cells, *J Biol Chem* 273: 31924-31931.
17. Brenner B, Koppenhoefer U, Weinstock C, Linderkamp O, Lang F y Gulbins E (1997) Fas- or ceramide-induced apoptosis is mediated by a Rac1-regulated activation of Jun N-terminal kinase/p38 kinases and GADD153, *J Biol Chem* 272: 22173-22181.
 18. Merritt C, Enslen H, Diehl N, Conze D, Davis RJ, Rincón M (2000) Activation of p38 mitogen-activated protein kinase *in vivo* selectively induces apoptosis of CD8+ but not CD4+ T cells, *Mol Cell Biol* 20: 936-946.

MECANISMOS QUE REGULAN LA DINÁMICA DEL CITOESQUELETO DE ACTINA

Merit Reyes-Reyes¹, Carlos Rosales¹, Roberto Hernández² e Imelda López-Villaseñor³. ¹Departamento de Inmunología, ²Departamento de Biología Molecular y ³Departamento de Biotecnología del Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México. Apartado postal 70228, Ciudad Universitaria, 04510 México D.F. Fax: 5550-0048. Correo electrónico: ilopez@servidor.unam.mx

Recibido: 9 de noviembre de 2000. Aceptado: 13 de febrero de 2001.

RESUMEN

El citoesqueleto de actina regula varias funciones biológicas en las células eucariotas. La comprensión de los mecanismos bioquímicos que controlan la dinámica del citoesqueleto es actualmente uno de los principales temas de estudio en la biología celular. Los avances obtenidos en esta área han logrado la descripción de un panorama general de los mecanismos que regulan la dinámica del citoesqueleto de actina, exponiendo al complejo Arp2/3 como un regulador clave en la polimerización de actina y a cofilina/ADF como proteínas claves en la depolimerización de los filamentos de actina. La dinámica del citoesqueleto de actina es regulada por moléculas clave en vías de transducción de señales como las GTPasas pequeñas de la familia Rho. Estas GTPasas conectan al complejo Arp2/3 a través de las proteínas de la familia WASP y a cofilina/ADF a través de la cinasa LIM.

PALABRAS CLAVE: GTPasas Rho, complejo Arp/3, familia WASP y cofilina/ADF.

ABSTRACT

The actin cytoskeleton mediates a variety of biological functions in eucaryotic cells. Understanding the biochemical mechanisms that control actin dynamics is a major goal of contemporary cell biology. Recent studies propose a general scheme for the signals that regulate actin cytoskeleton dynamics. These studies have shown that Arp2/3 complex is a key regulator in actin polymerization and cofilin/ADF are key proteins in depolymerization of actin filaments. Actin cytoskeleton dynamic is regulated by signaling molecules such as the Rho GTPases. These GTPases connect to the Arp2/3 complex through WASP-family proteins and to cofilin/ADF through LIM-kinase.

KEY WORDS: Rho GTPases, Arp2/3 complex, WASP-family proteins and cofilin/ADF.

ABREVIATURAS

Arp, proteína relacionada a actina; WASP, proteína del síndrome de Wiskott-Aldrich; LIMK, cinasa de proteínas que contienen sitios ricos en cisteínas homólogos a la proteína LIM; ECM, matriz extracelular; ATP, adenosin trifosfato; ADP, adenosin difosfato; PAK, cinasa activada por p21^{Rac}; ROCK, cinasa asociada a Rho; VASP, fosfoproteína estimulada por vasodilatación; Cap Z, proteína cubridora insensible a calcio; LPA, ácido lisofosfatídico; PDGF, factor de crecimiento de plaquetas; GPCR, receptor acoplado a proteínas G; GEF, factor intercambiador de GDP a GTP; GPA, proteína activadora de GTPasas; PI 3-K, fosfoinositol 3-cinasa; SCAR, proteína relacionada a WASP; PIP₂, fosfoinositol 4,5-bifosfato.

INTRODUCCIÓN

Durante las dos últimas décadas el concepto del citoesqueleto ha evolucionado drásticamente. Originalmente el citoesqueleto era considerado como una simple estructura de filamentos estáticos que formaban un tipo de esqueleto celular, cuya única función era dar soporte mecánico a la célula. Ahora se sabe que el citoesqueleto es una estructura compleja y dinámica que se reorganiza en respuesta al medio que rodea a la célula. El citoesqueleto participa en la regulación de varias funciones celulares, incluyendo expresión génica, transporte proteico, ciclo celular, cambio en la morfología y movilidad de la célula y adhesión celular (1).

El citoesqueleto está formado principalmente de tres sistemas de filamentos: microfilamentos (7 a 9 nm de diámetro), filamentos intermediarios (10 nm de diámetro) y microtúbulos (24 nm de diámetro). Las

proteínas que conforman cada uno de los tres sistemas de filamentos son respectivamente actina, proteínas fibrosas (laminina, queratina, vimetina) y α y β tubulinas(1).

El citoesqueleto de actina en particular participa en varios procesos celulares tales como el cambio de morfología, el transporte intracelular, la fuerza mecánica y en las conexiones con las proteínas de matriz extracelular (ECM) o con otras células (2). Aunque recientemente ha habido varios descubrimientos importantes relacionados con el funcionamiento del citoesqueleto de actina, en este trabajo solamente nos enfocaremos en las vías de trasducción de señales que regulan la dinámica del citoesqueleto de actina y en las moléculas que participan en estas vías de transducción.

CITOESQUELETO DE ACTINA

El citoesqueleto de actina en células animales esta formado principalmente por actina polimerizada en forma de filamentos. La actina es la proteína intracelular más abundante, tiene un tamaño aproximado de 375 aminoácidos. Esta proteína es codificada por una familia de genes muy conservados. Esta variabilidad genética da lugar a varias isoformas de actina. Por ejemplo en vertebrados hay seis isoformas, cuatro isoformas de α -actina que se localizan en células de músculo y las isoformas β - y γ -actina que se localizan en células no-musculares (1).

En el citosol la actina puede encontrarse como monómero globular (G-actina) o como polímero en forma de filamento (F-actina). Los filamentos de actina estan formados por varias subunidades de actina unidas por enlaces no covalentes. Cada molécula de actina tiene un sitio de unión para un ion Mg^{2+} , el cual forma un complejo con una molécula de ATP ó ADP. En un filamento de actina cada subunidad esta rodeada por otras cuatro subunidades, una arriba, una abajo y dos a los lados. Los extremos del filamento son diferentes por tener velocidades de elongación distintas: el extremo (+) crece al menos cinco veces más rápido que el extremo (-). Esta diferencia de velocidad se debe a que las subunidades de actina siempre se acomodan en una misma manera: el sitio de unión al ATP esta expuesto al citosol, mientras que el sitio contrario esta en contacto con el filamento de actina (1).

Los filamentos de actina están generalmente organizados dentro de un número de estructuras discre-

tas. Las tres principales estructuras son: (1) Filopodia, que son protuberancias en forma de dedo formadas por una haz apretado de filamentos de actina en dirección de la protuberancia. Este tipo de estructuras son encontradas principalmente en células móviles o en los conos de las neuronas en crecimiento (2) Lamelipodia, que son protuberancias en forma de malla, se localizan en los bordes de los fibroblastos cultivados y en muchas células móviles. (3) Fibras de estrés de actina, que son haces de filamentos de actina que atraviesan a la célula y se unen a proteínas de matriz extracelular (ECM) a través de los receptores de integrinas (2 y 3).

MECANISMOS QUE REGULAN LA DINÁMICA DE ACTINA

La dinámica del citoesqueleto de actina esta dada principalmente por la capacidad que tiene la célula para polimerizar y despolimerizar sus filamentos de actina, como respuesta a estímulos extracelulares. Estos estímulos extracelulares actúan a través de varios receptores membranales tales como receptores de cinasa de tirosina (activados por mitógenos), receptores de siete hélices (receptores serpentín que cruzan siete veces la membrana) e integrinas. Los detalles acerca de cómo estos receptores actúan o cuales son los mecanismos bioquímicos que encienden para regular la dinámica del citoesqueleto de actina no es clara. Actualmente se han propuesto varios modelos que explican de una manera general y separada las vías de transducción de señales que regulan los procesos de polimerización y despolimerización de los filamentos de actina (4).

Polimerización

El proceso de polimerización de actina *in vivo* sucede en dos fases: en la primera fase se produce un núcleo donde se inicia la unión de los monómeros de actina, mientras que la segunda fase es marcada por la elongación del filamento de actina.

El mecanismo de señalización más consistente que explica como procede la primera fase de la polimerización de actina propone que el primer paso es la localización y la activación de la maquinaria de nucleación. En este modelo una GTPasa de la familia Rho, activada por proteínas intercambiadoras de GDP por GTP como respuesta a estímulos extracelulares, es reclutada en la membrana plasmática. La GTPasa activada secuestra y activa a una proteína de

la familia WASP (proteína del síndrome de Wiskott-Aldrich). WASP activada secuestra al complejo Arp2/3 (proteínas relacionadas a actina 2 y 3) y estimula su capacidad de producir un núcleo proteico donde se inicia la polimerización de actina. El complejo Arp2/3 activado puede inducir la formación de filamentos de actina *de novo* ó ramificar filamentos a partir de un filamento de actina preexistente (figura 1) (5 y 6).

La segunda fase de la polimerización, la elongación de los filamentos de actina, genera la fuerza necesaria para deformar la membrana citoplásmica y producir las estructuras de lamelipodia o filopodia. *In vitro* la elongación es una simple reacción en donde los monómeros de actina se unen y se disocian solamente en los extremos del filamento. En el extremo (+) (definido como extremo de crecimiento rápido), los monómeros de ATP-actina se unen a una velocidad constante de $10 \mu\text{moles sec}^{-1}$ y se disocian con una velocidad constante de $1.5 \mu\text{moles sec}^{-1}$. En el extremo (-) (definido como extremo de crecimiento lento), la disociación ocurre a la misma velocidad pero la velocidad de unión del monómero de actina es diez veces mas baja que en el extremo (+) (1).

La fase de elongación del filamento de actina *in vivo* puede ser explicada por dos modelos. El modelo más simple propone que la elongación *in vivo* es similar a la elongación *in vitro*. Según este modelo, la elongación se debe a las grandes reservas de los monómeros de actina o a los complejos de actina-profilina que se unen directamente en los extremos libres expuestos del filamento de actina, ya que la concentración celular del monómero de actina es 1000 veces más alta que la concentración crítica para la polimerización de actina (4). La célula prevendría la polimerización espontanea de actina al secuestrar a esta proteína con timosina y profilina. Profilina es capaz de inhibir la nucleación espontanea de actina sin afectar a la elongación de los filamentos en el extremo (+) y recicla la formación de ATP-actina a partir de actina-ADP-cofilina (7). El segundo modelo propone que la elongación no consiste en la simple unión de los monómeros de actina en los extremos libres del filamento. Para que los monómeros de actina puedan ser añadidos al filamento, el complejo actina-profilina tiene que ser reclutado en un complejo proteico, el cual debe mantenerse asociado al filamento en crecimiento. Este complejo promueve la elongación del filamento y evita la unión de proteínas que inhiban la

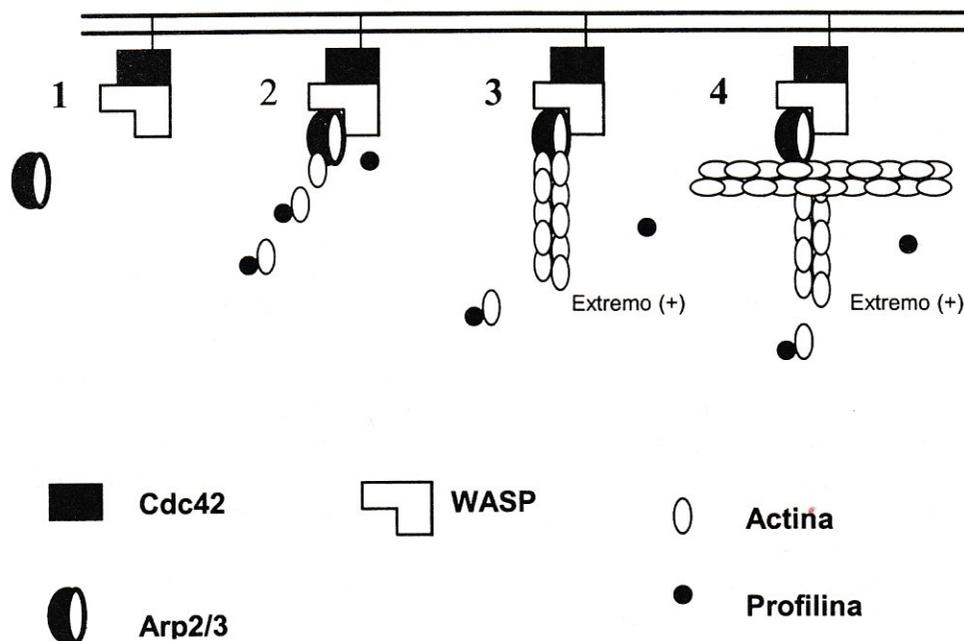


Figura 1. Modelo para la polimerización de actina. 1) Cdc42 activado secuestra y activa a WASP. 2) WASP activado secuestra y activa al complejo Arp2/3. 3) El complejo Arp2/3 forma un núcleo de polimerización para producir un filamento nuevo ó 4) se une a un filamento preexistente para producir una ramificación. En ambos casos el complejo actina-profilina se une al extremo (+) del filamento, la profilina es liberada y el filamento crece.

integración de los monómeros de actina en los extremos del filamento. Se ha propuesto que las proteínas de la familia WASP podrían participar en la formación de este complejo de elongación, ya que estas proteínas además de tener el dominio de unión para el complejo Arp2/3 tienen también dominios de unión para actina y profilina (figura 1) (4 y 6).

Despolimerización

La despolimerización de los filamentos de actina es un proceso altamente regulado. Este proceso consiste en disminuir la longitud de los filamentos de actina de dos maneras: mediante la ruptura de los filamentos o bien al incrementar la velocidad de disociación de las subunidades de actina en los extremos del filamento (4). Las proteínas de la familia ADF (factor despolimerizador de actina)/cofilina juegan un papel importante en la despolimerización de los filamentos de actina. Los miembros de esta familia son: ADF, cofilina, actoforina, depactina y destrina. Las proteínas ADF/cofilina tienen una gran actividad de ruptura sobre los filamentos de actina largos y muy poca actividad sobre filamentos cortos. Cada miembro de la familia de proteínas ADF/cofilina tiene distinta actividad de ruptura de los filamentos de actina, la cual depende de la fuerza iónica y del pH en que se encuentre (8).

Análisis estructurales muestran que las proteínas de la familia ADF/cofilina se unen cooperativamente a lo largo del filamento de actina; esta unión cambia la orientación de las subunidades de actina que conforman el filamento induciendo un cambio en la arquitectura del mismo. Este cambio debilita los enlaces entre las subunidades de actina provocando la ruptura del filamento o aumentando la velocidad de disociación de actina en los extremos del filamento (8).

El mecanismo de señalización que regula el proceso propuesto para la despolimerización de actina inicia con la activación de algún miembro de la familia de las GTPasas Rho para activar a LIMK (cinasa de treoninas/serinas de sitios ricos en cisteínas homólogos a la proteínas LIM) por diferentes vías. Rac activaría a LIMK a través de PAK1 (cinasa de treoninas/serinas activada por p21^{Rac}) y Rho activaría a LIMK a través de ROCK (cinasa asociada a Rho). LIMK activada es capaz de fosforilar a las proteínas ADF/cofilina e inhibir su actividad, evitando así la despolimerización de los filamentos de actina (4).

MOLÉCULAS QUE REGULAN LA DINÁMICA DEL CITOESQUELETO DE ACTINA

Como se puede observar la dinámica del citoesqueleto es regulada por moléculas clave, algunas de estas moléculas ya han sido ubicadas en una vía de transducción (las GTPasas de la familia Rho, WASP y Arp2/3). Sin embargo hay otras moléculas de igual importancia que no han sido ubicadas en una vía de transducción tales como Ena/VASP, Gelsolina/Cap Z, y fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato. En esta sección describiremos con más detalle cómo estas moléculas son reguladas y cómo participan en regular la dinámica del citoesqueleto de actina.

GTPasas de la familia Rho

Durante esta última década se ha descrito a la familia de las GTPasas Rho como moléculas clave para transducir estímulos extracelulares hacia el interior de la célula y de esta manera regular el ensamblaje y reorganización del citoesqueleto de actina. Las GTPasas Rho tienen un peso molecular entre 20 y 30 kDa y se caracterizan por unir e hidrolizar nucleótidos de guanina. El intercambio de GDP por GTP produce un cambio conformacional de las GTPasas que descubre dominios de unión para sus proteínas blanco. Este mecanismo de intercambio de nucleótido le permite a las GTPasas Rho cambiar entre su forma activada (GTP unido) y su forma inactiva (GDP unido) (figura 2)(9).

En células de mamífero se han identificado 14 GTPasas de la familia Rho (Rac1-3, Cdc42, TC10, RhoA-E, G, H y Rnd1 y 2). Las mejor caracterizadas son Cdc42, Rac1 y RhoA. El efecto de estas GTPasas sobre la organización del citoesqueleto de actina ha sido observado en diferentes sistemas celulares tales como fibroblastos, leucocitos y neuronas. Cdc42 participa en la formación de filopodia, Rac1 regula la formación de lamelipodia, y RhoA participa en el ensamblaje de contactos focales y fibras de estrés. También se ha visto que estas GTPasas pueden estar interconectadas jerárquicamente en una cascada, donde Cdc42 activa a Rac1 la cual a su vez activa a RhoA (9)(figura 2).

En fibroblastos y en otros sistemas celulares se ha demostrado que diferentes estímulos extracelulares activan a la cascada de las GTPasas Rho en diferentes puntos. Por ejemplo LPA (ácido lisofosfatídico) o la adhesión a proteínas ECM activan a Rho indu-

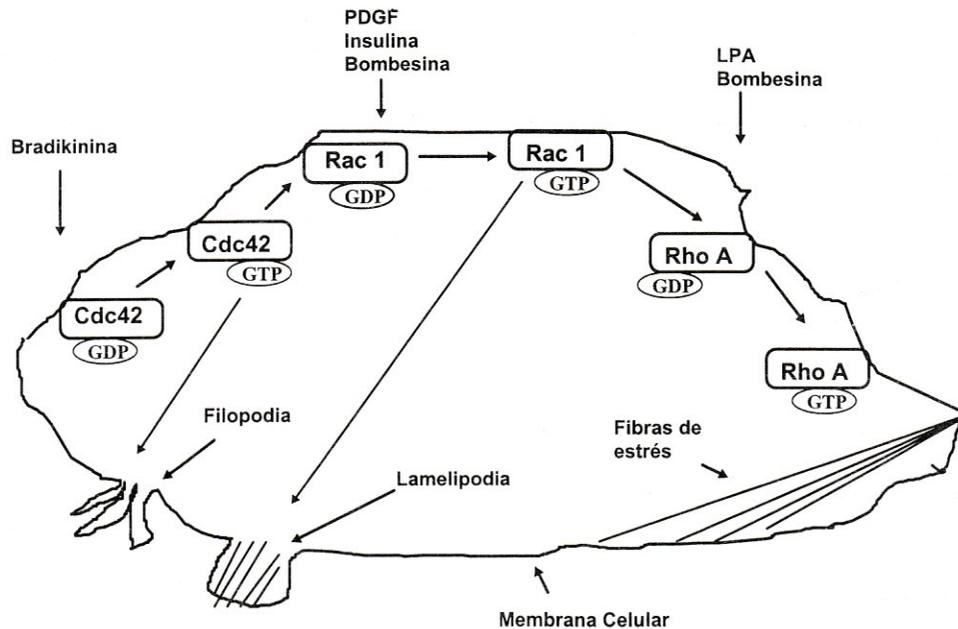


Figura 2. Las GTPasas de la familia Rho regulan la organización del citoesqueleto. Varios estímulos extracelulares inducen la activación de Cdc42, Rac y Rho las cuales responden en corto tiempo para conducir la formación de filopodia, lamelipodia y fibras de estrés respectivamente. Los miembros de esta familia pueden interconectarse: Cdc42 puede activar a Rac y Rac a su vez puede activar a Rho.

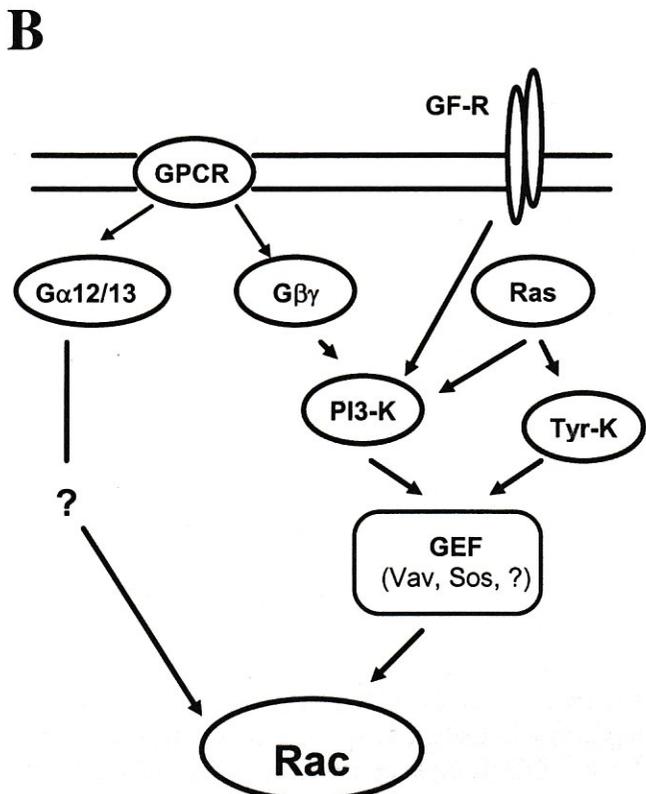
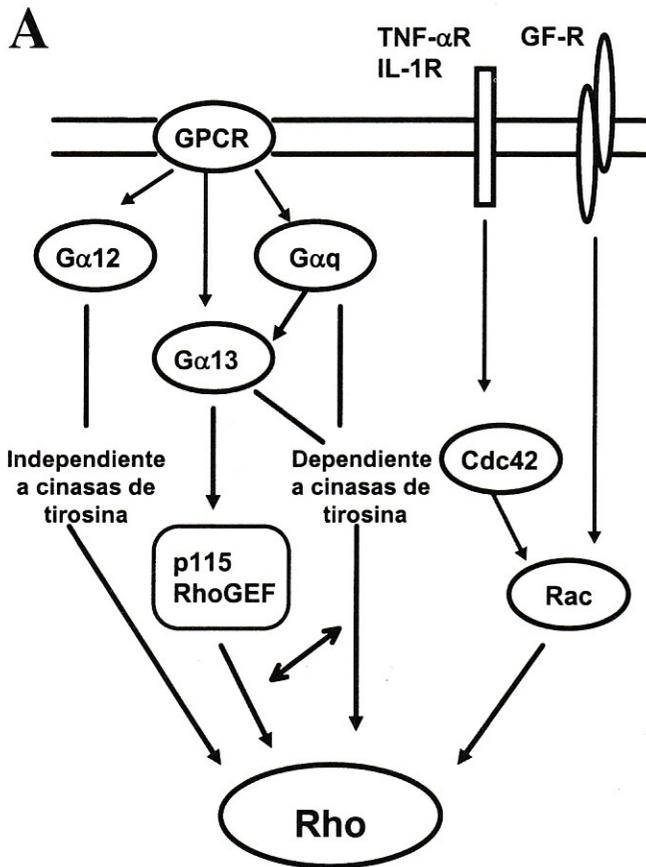
ciendo la formación de fibras de estrés. La estimulación con el factor de crecimiento de plaquetas (PDGF), insulina o bombesina activan a Rac provocando la polimerización de actina para producir lamelipodia y pequeñas ondulaciones en la membrana plasmática. La estimulación con bradicinina resulta en la activación de Cdc42 provocando la formación de filopodia y la subsecuente formación de lamelipodia (figura 2) (10).

Las moléculas que conectan a las GTPasas Rho con los receptores de la membrana celular no han sido completamente caracterizadas. Se ha observado que las GTPasas Rho pueden unirse a una variedad de proteínas diferentes que regulan su actividad. Se sabe que los receptores de bradicinina, LPA y bombesina (receptores de siete hélices) activan a uno o varios miembros de la familia de las GTPasas de la familia Rho, a través de una proteína G heterotrimérica (formada de tres cadenas proteicas $\alpha\beta\gamma$) acoplada en la región citoplásmica de estos receptores, por tal motivo estos receptores también son llamados receptores acoplados a proteínas G (GPCRs). La transducción de señales a través de los receptores GPCRs, una vez que reconocen a su agonista, es iniciada por la disociación de la proteína G heterotri-

mérica en sus subunidades $G\alpha$ y $G\beta\gamma$. Hasta la fecha han sido identificadas cuatro familias de subunidades α : $G\alpha_{i/o}$, $G\alpha_s$, $G\alpha_{q/11}$, $G\alpha_{12/13}$ (11).

Los receptores GPCRs pueden activar a Rho a través de las subunidades $G\alpha_{13}$, $G\alpha_q$ y $G\alpha_{12}$. Se ha observado que la activación de Rho por $G\alpha_{13}$ puede ser a través de Se de la proteína p115RhoGEF (factor intercambiador de GDP por GTP) de una manera dependiente o independiente a proteínas cinasas tirosina (figura 3A). Los receptores GPCRs activan a Rac a través de las subunidades $G\alpha_{12/13}$ y $G\beta\gamma$ de la proteína G. Se ha observado que la activación de Rac por $G\beta\gamma$ es conducida por fosfoinositol 3-cinasa (PI 3-K) (figura 3B) (11).

Rho y Rac también pueden ser activadas por receptores de citosina ó receptores de factores de crecimiento (receptores cinasa de tirosina). Todavía no se conocen las moléculas involucradas en la activación de Rho por estos receptores. Se ha propuesto que el mecanismo utilizado involucra uno o mas pasos de la cascada Cdc42/Rac/Rho. Por otro lado hay varias evidencias experimentales en donde se implica a PI 3-K en la activación de Rac inducida por estos receptores de factores de crecimiento (11).



Otras proteínas que juegan un papel clave en la regulación de la actividad de las GTPasas en respuesta a la activación de los receptores de la membrana son la gran familia de factores intercambiadores de nucleótido de guanina (GEFs, hasta el momento se han descubierto 15) y las proteínas activadoras de las GTPasa (GAPs, identificadas 10 a la fecha). Sin embargo actualmente se sabe muy poco acerca de cuáles son las proteínas GEFs y GAPs que participan en la regulación de la dinámica del citoesqueleto de actina (12 y 13). A pesar de los avances obtenidos sobre la forma de cómo son reguladas las GTPasas de la familia Rho, aun no se sabe cuáles son las moléculas involucradas en la activación de Cdc42 (9).

La familia de las proteínas WASP

La familia de las proteínas WASP consta de tres miembros: WASP, N-WASP y SCAR (proteína relacionada a WASP). WASP fue originalmente identificada como una proteína que estaba alterada en pacientes con síndrome Wiskott-Aldrich, una enfermedad de inmunodeficiencia genética caracterizada por la reducción en la movilidad de los linfocitos. La sobreexpresión de cualquier miembro de la familia WASP induce la polimerización *de novo* de actina. Los datos disponibles acerca de la regulación de esta familia de proteínas sugiere que WASP y N-WASP son activadas a través de Cdc42 y SCAR se activa mediante Rac (4).

La activación de las proteínas WASP se produce por un cambio en su conformación que descubre varios sitios de unión para proteínas que juegan un papel importante en la polimerización de actina. El cam-

Figura 3. Activación de las GTPasas Rho. A) Esquema de las vías conocidas para activar a Rho. Los receptores acoplados a las proteínas G heterotrómicas (GPCR) pueden activar a Rho a través de al menos tres subunidades $G\alpha$. La activación de Rho regulada por $G\alpha$, puede ser dependiente ó independiente de cinasas de tirosina ó de factores intercambiadores de GDP a GTP (GEF) por ejemplo p115Rho GEF. Rho también puede ser activada por receptores de citosina como el receptor de interlucina 1 (IL-1R) ó el receptor del factor de necrosis tumoral- α (TNF- α R) o receptores de factores de crecimiento (GF-R) a través de diferentes puntos de la cascada Cdc42/Rac/Rho. B) Esquemas de las vías conocidas para activar a Rac. Receptores de factores de crecimiento (GF-R) pueden activar a Rac a través de un mecanismo que requiera la activación de GEFs regulada por la cinasa de fosfatidilinositol 3-fosfato (PI 3-K) ó cinasas de tirosinas (Tyr-K). En este mismo contexto PI 3-K puede ser activado por la subunidades $G\beta\gamma$ de la de la proteína G heterotrómica.

bio de conformación sería inducido por ejemplo en el caso de WASP o de N-WASP por la unión directa de la forma activada de Cdc42 destruyendo con esto la interacción inhibitoria entre la región amino y carboxi terminal de WASP ó N-WASP. La región carboxi-terminal tiene una región ácida capaz de unir al complejo Arp2/3, dos regiones de unión para actina monomérica, una región rica en prolina que une profilina y un sitio de unión a SH3 (reconoce regiones ricas en prolina) (6) (figura 4).

Complejo Arp2/3

Las proteínas relacionadas a actina (Arps) constituyen una familia de proteínas recientemente descritas. Dos miembros de esta familia, Arp2 y Arp3, actúan como un organizador multifuncional de los filamentos de actina en todos los eucariotos. El complejo Arp2/3 tiene siete subunidades (Arp3, Arp2, p41-Arc, p34-Arc, p21-Arc, p20-Arc y p16-Arc) en una estequiometría aparente de 1:1 cada una. El contacto directo entre Arp2 y Arp3 en

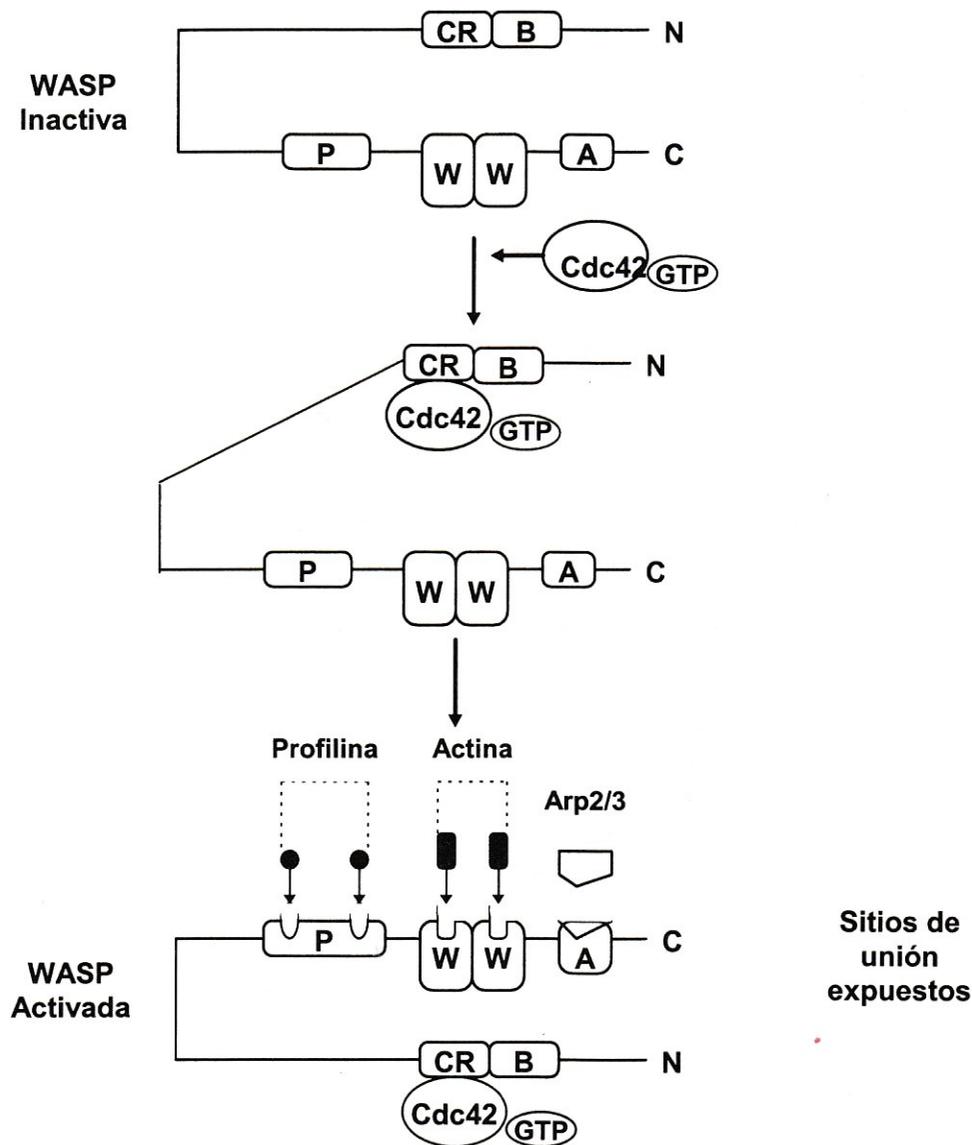


Figura 4. Modelo para la activación de las proteínas de la familia WASP. Se ha propuesto que la activación de las proteínas WASP se debe a la unión de una GTPasa de la familia Rho (ejemplo Cdc42) en su sitio de unión (CR), cambiando así la conformación de WASP. De esta manera se expondrían sitios de unión para proteínas relacionadas con la polimerización de actina. Dominios de WASP: ácido (A), básico (B), carboxi-terminal (C), amino-terminal (N), rico en prolina (P), homólogo 2 de WASP (W).

el complejo, mimetiza a un dímero de actina. Sin embargo Arp2 y Arp3 no son capaces de ensamblarse dentro de un filamento de actina o producir filamentos por sí mismos (12).

Las funciones del complejo Arp2/3 en la polimerización de actina son: aumentar la velocidad para formar el núcleo donde se inicia la unión de los monómeros de actina, promover el entrecruzamiento e inducir la ramificación de los filamentos de actina (9). Por otro lado se ha demostrado que el complejo Arp2/3 se une con alta afinidad al extremo de crecimiento lento (extremo -) del filamento de actina, lo que permite comprender mejor el evento de despolimerización de los filamentos de actina. Previamente se había pensado que el extremo (-) no se unía a ninguna proteína y que las proteínas despolimerizadoras tal como la cofilina podrían desensamblar rápidamente y espontáneamente monómeros de actina-ADP. Ahora se ha postulado que la despolimerización del filamento de actina debe ser un evento altamente regulado y que la disociación del complejo Arp2/3 es un requisito para su despolimerización (4).

Ena/VASP

Las proteínas Ena/VASP (Mena y VASP (fosfoproteína estimulada por vasodilatación)) promueven el ensamblaje de los filamentos de actina. Estas proteínas están relacionadas con las proteínas de la familia WASP, ya que los miembros de ambas familias contienen secuencias ricas en prolina que unen profilina y también contienen una región carboxi-terminal conservada. Se ha propuesto que las proteínas Ena/VASP catalizan la elongación del filamento por su capacidad de secuestrar a los monómeros de actina a través de su interacción con profilina y por su capacidad de unirse directamente a los filamentos de actina (7).

Gelsolina y Cap Z

Gelsolina y la proteína cubridora insensible a calcio (Cap Z) son proteínas que se unen al extremo (+) del filamento de actina y bloquean su elongación. *In vivo*, casi todos los extremos (+) de los filamentos parecen estar bloqueados por Cap Z, la cual es removida como respuesta a señales extracelulares que disparan rápidamente la polimerización extensiva de actina. La actividad de esta proteína parece estar regulada a través de fosfoinosítidos y pequeñas GTPasas, ya que *in vitro*, Cap Z se desprende de los extremos (+)

en presencia de fosfoinositol 4,5-bifosfato (PIP₂) o Cdc42. Hasta el momento poco se sabe acerca de los estímulos extracelulares que afectan la actividad de Cap Z (4).

Gelsolina y las proteínas relacionadas a ésta (vilina, advilina y supervilina) al parecer juegan un papel importante en la regulación de la dinámica de actina. *In vitro*, estas proteínas además de bloquear la elongación del filamento de actina por unirse al extremo (+), también pueden desestabilizar al filamento y provocar el rompimiento del mismo. Hasta el momento no se ha establecido el papel que juegan *in vivo* las proteínas relacionadas a gelsolina. Sin embargo en muchos sistemas celulares en reposo la gelsolina esta disociada del filamento de actina y se une al extremo del filamento solo cuando estímulos extracelulares inducen un aumento en la concentración intracelular de Ca²⁺ ó H⁺. Por otro lado la activación de proteínas G heterotriméricas o pequeñas proteínas G inducen la disociación de la gelsolina de los extremos (+) del filamento (4).

Fosfatidilinositol 4,5-bifosfato

Varios trabajos han establecido claramente que el fosfatidilinositol 4,5-bifosfato (PIP₂) es un segundo mensajero importante en la regulación de la dinámica del citoesqueleto de actina, ya que regula la función de un gran número de proteínas que se unen a actina. La unión de PIP₂ a profilina inhibe la formación del complejo de profilina y G-actina (12). PIP₂ participa en el reclutamiento de las proteínas de la familia WASP en la membrana plásmica y posiblemente ayuda a la activación de las mismas. PIP₂ también se une a gelsolina ó cofilina, unión que inhibe la adhesión de estas proteínas con los filamentos de actina. Sin embargo los estímulos extracelulares que actúan en la formación de PIP₂ para regular la dinámica del citoesqueleto todavía no se conocen con detalle (13).

CONCLUSIÓN

Los modelos propuestos para explicar las vías de transducción de señales que conducen a la polimerización y despolimerización de los filamentos de actina aún son muy generales debido a que varias moléculas que participan en la dinámica del citoesqueleto también participan en otros procesos celulares (apoptosis, división celular, diferenciación etc.) y aún no se ha elucidado la manera en que estas moléculas son

reguladas para participar en un proceso celular específico. Los mecanismos que regulan la dinámica del citoesqueleto de actina convergen principalmente en la activación de los diferentes miembros de la familia de las GTPasas Rho. La activación de los diferentes miembros de esta familia es regulada por varias proteínas que dependen del estímulo extracelular recibido para inducir diferentes efectos sobre el citoesqueleto de actina (reorganización de los microfilamentos de actina, polimerización y despolimerización de actina). Sin embargo la familia de las GTPasas Rho no son las únicas moléculas que juegan un papel importante en regular la dinámica del citoesqueleto de actina; como se mencionó anteriormente las proteínas WASP, Arp2/3, profilina, Ena/VASP, CapZ, Gelsolina, ADF/cofilina y la molécula fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato también participan en regular la dinámica de actina.

REFERENCIAS

1. Lodish H, Berk A, Zipursky SL, Matsudaira P, Baltimore D y Darnell J (2000) *Molecular Cell Biology*. Freeman and Company, New York, NY, USA, pp 752-768.
2. Small JV, Rottner K y Kaverina I (1999) Functional design in actin cytoskeleton. *Curr Opin Cell Biol* 11:54-60.
3. Small JV, Rottner K, Kaverina I y Anderson K (1998) Assembling an acting cytoskeleton for cell attachment and movement. *Biochim Biophys Acta* 1404:271-281.
4. Cooper JA y Schafer DA (2000) Control of actin assembly and disassembly at filament end. *Curr Opin Cell Biol* 12:97-103.
5. Higgs HN y Pollard TD (1999) Regulation of actin polymerization by Arp2/3 Complex and WASP/SCAR proteins. *J Biol Chem* 274:32531-32534.
6. Mullins RD (2000) How WASP-family proteins and Arp2/3 complex convert intracellular signals into cytoskeletal structures. *Current Opin Cell Biol* 12:91-96.
7. Schluter K, Jockusch BM y Rothkegel M (1997) Profilins as regulators of actin dynamics. *Biochim Biophys Acta* 1359:97-109.
8. Bamburg JR, McGough y Shoichiro O (1999) Putting a new twist on actin: ADF/cofilins modulate actin dynamics. *Trends Cell Biol* 9:364-370.
9. Hall A (1998) Rho GTPases and actin cytoskeleton. *Science* 279:509-514.
10. Van Aelst L y D'Souza-Schorey C (1997) Rho GTPase and signaling networks. *Gene Dev* 11:2295-2322.
11. Kjoller L y Hall A (1999) Signaling to Rho GTPases. *Exp Cell Res* 253:166-179.
12. Welch MD (1999) The world according to Arp: regulation of actin nucleation by Arp2/3 complex. *Trends Cell Biol* 9:423-427.
13. Toker A (1998) The synthesis and cellular roles of phosphatidylinositol 4-5-bisphosphate. *Curr Opin Cell Biol* 10:254-261.

Las siguientes dos notas que presentamos en este número del BEB representan una interesante discusión que se llevo a cabo durante la revisión editorial del artículo “El Complejo III: El Citocromo bc_1 de la Cadena Respiratoria” publicado en este mismo número, estamos seguro que será de utilidad para ofrecer dos puntos de vista que nos permitirán mejorar el manejo y empleo operacional de algunos conceptos y definiciones, que enriquecerán nuestros criterios para la mejor comprensión de conocimientos que están actualmente revisándose y actualizándose: Conceptos en los cuales los autores de ambas contribuciones son expertos nacionales en el campo.

SOBRE EL BOMBEO DE PROTONES POR EL CITOCROMO bc_1 .

Juan Pablo Pardo, Federico Martínez, Juan Luis Rendón y Oscar Flores. Departamento de Bioquímica, Facultad de medicina, UNAM.

Una de las críticas que se le hizo al artículo consistió en que el término de bombeo de protones no se puede aplicar al citocromo bc_1 . Algunos revisores sugirieron que esta palabra se debía reemplazar por la de translocación, ya que este complejo no es una bomba de protones y por lo tanto no bombea protones, sino los transloca. Consideramos que el problema es semántico y tiene su origen en las dos posibles definiciones que se pueden dar de una bomba de iones en general y de protones en particular. A continuación se muestra que si la definición se basa en consideraciones termodinámicas, entonces el complejo bc_1 es una bomba de protones. Por el contrario, si en la definición se toma en cuenta el mecanismo por medio del cual la proteína lleva a cabo la translocación de protones, entonces la conclusión es que el complejo III no es una bomba.

Una de las características del transporte activo, en contraposición con el pasivo, es que el movimiento de iones a través de la membrana se lleva a cabo en contra de un gradiente de potencial electroquímico (1). A su vez, el transporte activo puede agruparse en dos clases, el secundario y el primario. En el primero, el movimiento de un ión en contra de su gradiente de potencial electroquímico se acopla al flujo de otro ión a favor de su potencial, de tal manera que el cambio total de energía libre es negativo. Dos ejemplos que caen en esta categoría son los antiportadores y los simportadores (1).

En el caso del transporte primario, la energía que se usa para mover a los iones en contra de su gradiente de potencial electroquímico proviene de la luz, una reacción redox o una reacción química como la hidrólisis del ATP (2) o la descarboxilación del piruvato (3). Debido a que en este tipo de sistemas de transporte activo se utiliza a) una fuente de energía primaria y b) se mueve el catión en contra de un gradiente, a estos sistemas también se les llama bombas (1). En resumen, desde un punto de vista termodinámico, una bomba acopla una reacción química (la hidrólisis de ATP en el caso de la ATPasa de Na^+/K^+), una reacción redox (los complejos respiratorios de la cadena respiratoria) o la absorción de un cuanto de luz (la bacteriorrodopsina) al transporte de iones a través de la membrana y en contra de un gradiente de potencial electroquímico. Queda claro que en esta definición termodinámica no se incluye el mecanismo de acción del transportador. Como puede verse, el complejo bc_1 cumple con los requisitos para ser considerado una bomba de protones: acopla una reacción de oxidorreducción (transferencia de los electrones del quinol al citocromo c) con el movimiento neto de protones a través de la membrana, de una región de bajo potencial electroquímico a otra de alto potencial. Es con base en esta definición que Nicholls escribe, en la segunda edición de su libro, lo siguiente: “Three of these complexes (I, III and IV) act as oxidation-reduction driven **proton pumps**.”(4) Y a continua-

ción menciona que existen dos **mecanismos** por medio de los cuales estos complejos catalizan la translocación de protones a través de la membrana: el del asa redox y el de la bomba conformacional (véase las páginas 123-125) Asimismo, es con base en esta definición que Crofts escribe, casi textualmente, el **bombeo** de protones por el complejo bc1 (véase la referencia 5 y su página Web: xxxx).

Por otro lado, si se toma en cuenta el aspecto mecanístico, el panorama es diferente. En este caso, en la definición de bomba se requiere que el protón viaje por el interior de la proteína, a través de canales que se forman dentro de la misma estructura proteica. Como menciona Covian y Moreno, el transporte de los protones se asocia a cambios en el pKa de ciertos residuos de aminoácidos. Queda claro que desde este punto de vista mecanístico, ni el complejo I ni el III son bombas de protones.

REFERENCIAS

1. Lauger, P. (1991) Electrogenic ion pumps. Editorial: Sinauer Associates, Inc. pp: 3-6.
2. Martonosi, A. N. (1996) Structure-function relationships in the Ca²⁺-ATPase of sarcoplasmic reticulum: facts, speculations and questions for the future. *Biochim. Biophys. Acta.* 1275: 111-117.
3. Dimroth, P. (1987) Sodium ion transport decarboxylases and other aspects of sodium ion cycling in bacteria. *Microbiol. Rev.* 51:320-340.
4. Nicholls, D y Ferguson, J (1992) *Bioenergetics 2*. Academic Press pp107-155.
5. Crofts, A.R., Barquera, B., Gennis, R.B., Kuras, R., Guergova-Kuras, M. y Berry, E.A. (1999) Mechanism of ubiquinol oxidation by the bc(1) complex: different domains of the quinol binding pocket and their role in the mechanism and binding of inhibitors. *Biochemistry* 38: 15807-15826.

EL MOVIMIENTO DE PROTONES A TRAVÉS DEL COMPLEJO bc_1 : ¿BOMBEO O TRANSLOCACIÓN NETA?

Raúl Covián y Rafael Moreno Sánchez. Departamento de Bioquímica, Instituto Nacional de Cardiología.

El complejo respiratorio del citocromo bc_1 utiliza la energía derivada de la transferencia de electrones del ubiquinol al citocromo c para transportar protones del lado negativo al positivo de la membrana. La existencia de este movimiento vectorial de protones ha resultado en que ocasionalmente se utilice la expresión “bombeo” para describirlo (ver, por ejemplo, el trabajo que aparece en este número del BEB por Pardo y cols.). Para comprender cabalmente la forma como los complejos de las cadenas transportadoras de electrones translocan protones, a continuación analizamos los modelos propuestos (1).

En el modelo de la “asa redox”, propuesto por Mitchell (2), se considera a las proteínas como armazones rígidos que tienen centros redox en lados opuestos de la membrana. Según este modelo, la transferencia de electrones entre una molécula donadora protonable (como el ubiquinol y un grupo redox no protonable (como un hemo) en el lado positivo de la membrana, resulta en la liberación de los protones del donador al medio acuoso. Lo opuesto ocurre en el lado negativo, donde el electrón es donado por un grupo redox no protonable a una molécula que en estado reducido es estable sólo si toma protones de la fase acuosa (ubiquinona). El resultado es una translocación vectorial neta de protones debida al movimiento de electrones dentro de la proteína del lado positivo al negativo de la membrana, sin involucrar algún canal dentro de la proteína. La estequiometría en una asa redox está limitada por lo tanto a $1H^+/e^-$.

En el caso de una “bomba conformacional” (1), la flexibilidad de la proteína permite que la reducción de un grupo redox induzca un cambio conformacional que expone a algún residuo protonable con valor básico de pK hacia el lado negativo de la membrana, permitiendo su protonación. La oxidación del grupo redox favorece una conformación en la que algún residuo con pK ácido esté accesible a la fase acuosa del lado positivo de la membrana, liberando su pro-

tón. Para completar un ciclo y regresar al estado inicial, donde el residuo del lado negativo está desprotonado y el del lado positivo protonado, el modelo requiere además que haya comunicación entre los residuos de cada lado de la membrana a través de un canal que incluye varios residuos que experimentan cambios en su pK acoplados al estado redox que permitan el transporte intraproteico de protones de un residuo básico a uno ácido. Además, la estequiometría de translocación podría ser mayor a $1H^+/e^-$, dependiendo del número de residuos protonables en los extremos de cada canal y del número de canales que existan por molécula proteica.

El “ciclo Q” (3), propuesto originalmente por Mitchell (2), es el modelo que explica de mejor manera el camino que siguen los electrones dentro del complejo bc_1 . La existencia de dos sitios de unión a ubiquinol y ubiquinona (moléculas que donan y reciben electrones acompañados de protones) cercanos a los hemos (grupos redox no protonables) del citocromo b en lados opuestos de la membrana, junto con la ausencia en esta subunidad de cambios conformacionales importantes y de canales de protones (4), indican que el complejo bc_1 es un ejemplo típico de una asa redox. La oxidación de una molécula de ubiquinol en el sitio del lado positivo resulta en la liberación de dos protones a la fase acuosa. Uno de los electrones del ubiquinol es transferido al citocromo c , mientras que el segundo pasa al hemo b_L (de bajo potencial redox), el cual lo transfiere en contra del potencial eléctrico de la membrana al hemo b_H (de alto potencial redox). El hemo b_H está situado cerca de la interfase con el lado negativo de la membrana, donde existe un sitio de unión para una molécula de ubiquinona que recibe el electrón quedando como semiubiquinona. La oxidación subsecuente de una segunda molécula de ubiquinol en el sitio cercano al hemo b_L libera otros dos protones al lado positivo de la membrana. De nuevo, uno de sus electrones es transferido al hemo b_H para completar la reducción de la semiubiquinona ahí presente, la cual acepta dos

protones de la fase acuosa del lado negativo para quedar como ubiquinol y desocupar el sitio. De modo que el resultado neto es la aparición de 4 H^+ en el lado positivo de la membrana (liberados por las dos moléculas de ubiquinol oxidadas), la desaparición de 2 H^+ del lado positivo (tomados por la ubiquinona al ser reducida), y la transformación neta de una molécula de ubiquinol a ubiquinona por cada par de electrones transferidos al citocromo *c*.

Por lo tanto, el complejo bc_1 efectúa una *translocación neta* de $2\text{H}^+/2e^-$, que de ninguna manera pudiera llamarse un bombeo, pues esta enzima no es una bomba conformacional. En contraste, la citocromo oxidasa sí *bombea* protones, ya que se han localizado al menos dos posibles canales de protones delimitados por residuos protonables, además de que existen distintas conformaciones dependientes del estado redox de la enzima que involucran la exposición de residuos en uno u otro extremo de estos canales (5).

Originalmente (1), se clasificó a todos los transportadores de iones como “bombas”, pues se suponía que poseían canales a través de los cuales fluían los iones, sin tener una descripción clara del mecanismo de transporte. Tal vez por esta razón, se llega a aplicar el término “bomba” a cualquier transportador iónico (1), sin reparar en su mecanismo de acción. Sin embargo, el lector debe estar alerta respecto al hecho de que aún algunos expertos del campo pueden utilizar erróneamente los conceptos, o bien, que en algunos libros de bioquímica profusamente empleados pueden aparecer también errores conceptuales. Por esta razón, siempre es conveniente mantenerse actualizado revisando artículos científicos pu-

blicados en revistas de prestigio, donde la información contenida es revisada cuidadosamente por varios expertos. También es necesario señalar que pueden existir errores en la traducción del inglés al español. Por ejemplo, términos como “electrogenic translocation”, “coupled transfer of protons”, “proton release”, etc. se han llegado a traducir incorrectamente como “bombeo”.

El cuidado en la selección de palabras al referirse a los distintos mecanismos por los que los complejos respiratorios participan en la formación del gradiente electroquímico de protones ayuda en gran manera a comprender el funcionamiento de estas enzimas transductoras de energía.

REFERENCIAS

1. Nicholls D y Ferguson J (1992): Respiratory Chains. En: Bioenergetics 2. Editor: Nicholls D. Academic Press pp107-155.
2. Mitchell, P (1976) Possible molecular mechanisms of the protonmotive function of cytochrome systems. J Theor Biol 62: 327-367.
3. Brandt U y Trumpower B L (1994) The protonmotive Q cycle in mitochondria and bacteria. CRC Crit. Rev. Biochem. 29: 165-197.
4. Iwata S, Lee J W, Okada K, Lee J K, Iwata M, Rasmussen B, Link T A, Ramaswamy S y Jap B K (1998) Complete structure of the 11-subunit bovine mitochondrial cytochrome bc_1 complex. Science 281: 64-71.
5. Yoshikawa S, Shinzawa-Itoh K, Nakashima R, Yaono R, Yamashita E, Inoue N, Yao M, Fei M J, Libeu C P, Mizushima T, Yamaguchi H, Tomizaki T y Tsukihara T (1998) Redox-coupled crystal structural changes in bovine heart cytochrome c oxidase. Science 280: 1723-1729.

PROBLEMA BIOQUÍMICO

Sara Rodríguez Enríquez y Rafael Moreno Sánchez

Tema: Control metabólico.

El coeficiente de control de flujo, C_i , describe cuantitativamente el grado de control que una enzima ejerce sobre el flujo de una vía. Una manera de determinar C_i consiste en variar el flujo metabólico con diferentes concentraciones de un inhibidor específico. La pendiente inicial de la curva de inhibición $\left(\frac{dF}{dI}\right)_{I \rightarrow 0}$ obtenida mediante análisis de regresión lineal, permite estimar C_i ; para obtener un número sin dimensiones, la pendiente se relaciona con los valores escalares del flujo inicial (F_0) y la concentración de

inhibidor requerida para inhibir al máximo el flujo (I_{max}), lo cual es una medida aproximada de la cantidad de enzima presente, si el inhibidor es irreversible o del tipo fuertemente pegado. Este tipo de análisis se ha empleado para determinar la distribución de control de las enzimas de la fosforilación oxidativa, debido a que existen inhibidores selectivos para cada una de ellas.

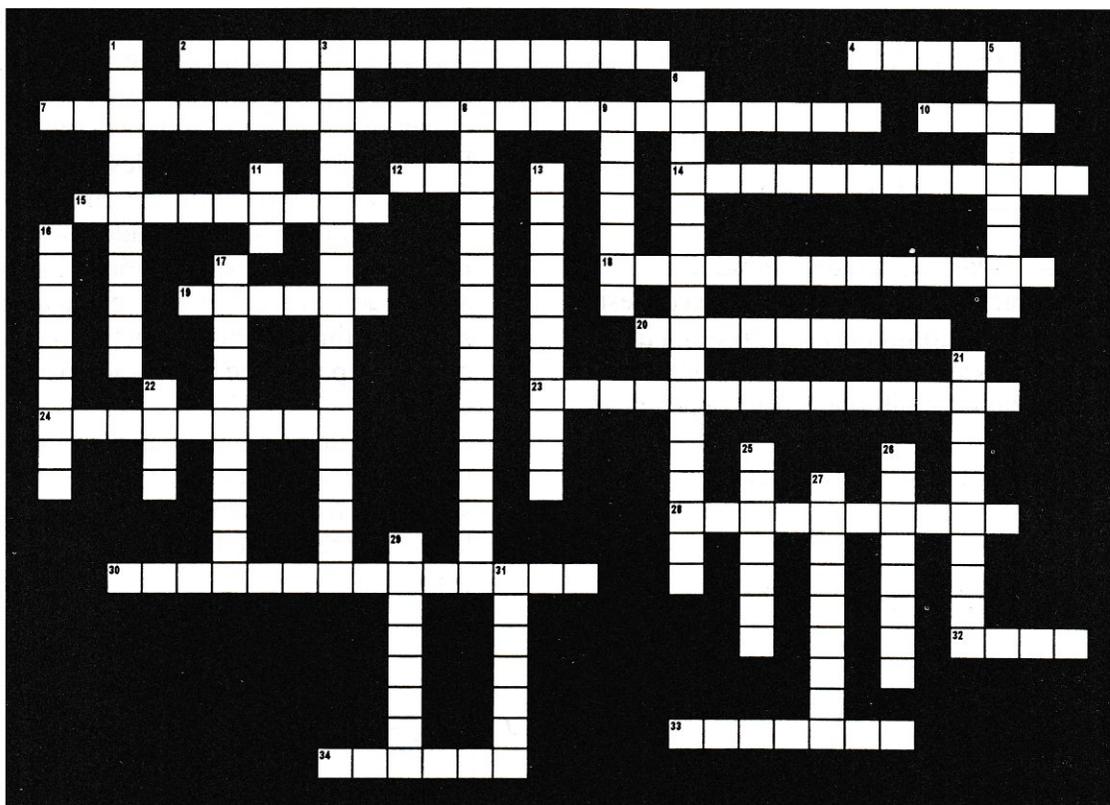
Calcule por el método de regresión lineal, el grado de control que ejerce la ATP sintetasa sobre el estado 3 de la respiración de mitocondrias tumorales, asumiendo que el inhibidor oligomicina pertenece al grupo de inhibidores de tipo irreversible.

Oligomicina (pmol/ mg proteína)	% Respiración en estado 3
0	100
15	100
37.5	92
75.5	92
113	92
151	77
180	45
226	0
302	0

CRUCIBIOQ

Yolanda Saldaña Balmori

CICLO DE KREBS



HORIZONTALES

2. Ácido que se forma por la condensación entre oxalacetato y acetil CoA.
4. Nombre del ciclo que es la vía común para la oxidación de las moléculas combustibles.
7. Aceptor de hidrógenos provenientes del succinato.
10. Número de ATP que en presencia de oxígeno se generan en una vuelta de ciclo de Krebs.
12. Número de moléculas de dióxido de carbono que se desprenden en ciclo de Krebs.
14. Reacción de acetil CoA con oxalacetato catalizada por la citrato sintasa.
15. Enzima que cataliza tanto la deshidratación del citrato como la hidratación del cis-aconitato.
18. Se oxida por un complejo multienzimático, una de sus unidades contiene lipoato.
19. Se produce por la hidratación del fumarato.
20. Condiciones en las que tiene que operar el ciclo de Krebs para utilizar NAD y FAD.

23. Tipo de enzima que permite que el succinato se oxide a fumarato.
24. Se produce al transaminar el oxalacetato.
28. Sustrato de una enzima reguladora que se activa con ADP y requiere Mn o Mg.
30. Enzima que transfiere un fosfato del GTP al ADP.
32. La velocidad del ciclo de Krebs disminuye cuando la célula tiene un nivel ___ de ATP:
33. Al salir de la mitocondria sirve como un modulador alostérico negativo de la fosfofructoquinasa.
34. Número de pares de hidrógenos que salen en el ciclo de Krebs.

VERTICALES

1. Producto de la piruvato carboxilasa, se condensa con acetil CoA para formar citrato.
3. La oxidación de los metabolitos del ciclo de Krebs conducen a la formación de la moneda energética.
5. Al oxidarse entrega hidrógenos que ingresan a la cadena respiratoria a nivel de la coenzima Q.

6. Presente en la coenzima A, su grupo SH forma un enlace tioéster con el acetato.
8. Reacción de pérdida de dióxido de carbono.
9. Nombre del ácido que designa al ciclo donde se oxidan carbohidratos, lípidos y proteínas.
11. Inhibidor alostérico de la citrato sintasa.
13. Compartimento celular en donde se lleva a cabo el ciclo del ácido cítrico.
16. Producto de la transaminación del alfa-cetoglutarato.
17. Vitamina presente en la coenzima A.
21. Nombre de la deshidrogenasa que cataliza la formación del oxalosuccinato.
22. Inhibidor de la isocitrato deshidrogenasa.
25. Vitamina necesaria en la carboxilación del piruvato para formar oxalacetato.
26. Molécula que al descarboxilarse irreversiblemente en la matriz mitocondrial forma acetil CoA.
27. Molécula que se une a la lisina para intercambiar hidrógenos en el complejo piruvato deshidrogenasa.
29. Enzima que cataliza la adición trans de H y OH al fumarato para producir malato.
31. Molécula que activada con coenzima A es el principal alimentador de la vía.

PROBLEMA BIOQUÍMICO

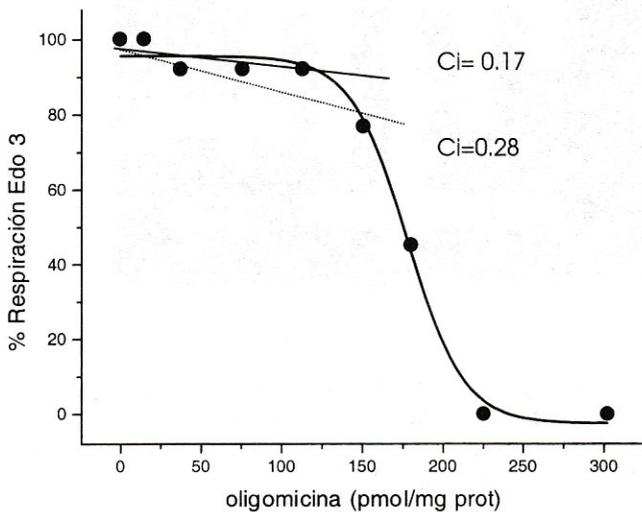
RESPUESTA:

Si se asume que el inhibidor empleado pertenece al grupo de inhibidores irreversibles, el C_i se calcula a partir de la fórmula:

$$C_i = \frac{-I_{max} \left(\frac{dF}{dI} \right)}{F_0} ; [I] \rightarrow 0$$

Donde I_{max} es la cantidad de inhibidor mínima requerida para obtener la inhibición máxima (en este caso, 225 pmol de oligomicina / mg proteína mitocondrial); (dF/dI) es la pendiente inicial (-0.076) del estado estacionario sin inhibidor F_0 que tiene un valor de 100%.

El gráfico que se obtiene es el siguiente:



Sustituyendo en la fórmula anterior:

$$C_i = \frac{-(225)(-0.076)}{100}$$

$$C_i = 0.17$$

Es decir, en mitocondrias tumorales, la ATP sintetasa controla 17 % el flujo total de la fosforilación oxidativa.

Objeciones al método de regresión lineal:

1. El cálculo de los C_i a partir de esta ecuación depende de la inspección visual de los puntos exper-

imentales (en este caso, se utilizaron los 5 primeros puntos, pero si se toman los 6 primeros puntos, el C_i es 0.28 porque la pendiente es igual a -0.127), por lo que no existe un criterio estricto para determinar cual de los puntos de la curva deben ser considerados para la regresión lineal. En ambas regresiones lineales los coeficientes de correlación fueron altos (0.8 en ambos casos)

2. Actualmente se ha dilucidado que varios de los inhibidores de la fosforilación oxidativa se enlazan pseudo-irreversiblemente a su respectiva enzima (inhibidores no competitivos fuertemente pegados), por lo que la ecuación para determinar C_i incluye un parámetro cinético más, la K_d , constante de disociación del complejo enzima-inhibidor (fórmulas 1 y 2). Con estas fórmulas, se toman en cuenta todos los puntos que integran la curva experimental (•-•-•).

$$J = \left[\frac{n(J_0 - J_i)^2 \times E^2}{C_i \times J_0 \times E_0^n + [(n - C_i) \times J_0 - (n \times J_i) \times E^n]} \right] + J_i \dots \text{fórmula 1}$$

$$E^n + (K_d + I - E_0) \times E - K_d \times E_0 = 0, \dots \text{fórmula 2}$$

donde J_0 y J_i son los flujos en los sistemas no-inhibido ($E=E_0$) y completamente inhibido ($E=0$), respectivamente; K_d es la constante de disociación del complejo enzima-inhibidor; y n es un exponente empírico que establece la relación entre la concentración de sustrato y la reacción catalizada por E (Cuando $n=1$, la reacción es una función lineal de la concentración de sustrato: $[S] < K_m$).

El gráfico que se obtiene se ilustra por la línea continua en la gráfica. Sin embargo, el valor de C_i es 0.1. Otros parámetros calculados con esta aproximación son E_0 (cantidad de enzima)=227.5 pmol/mg prot. y la $K_d=0.07$ pmol/mg prot.

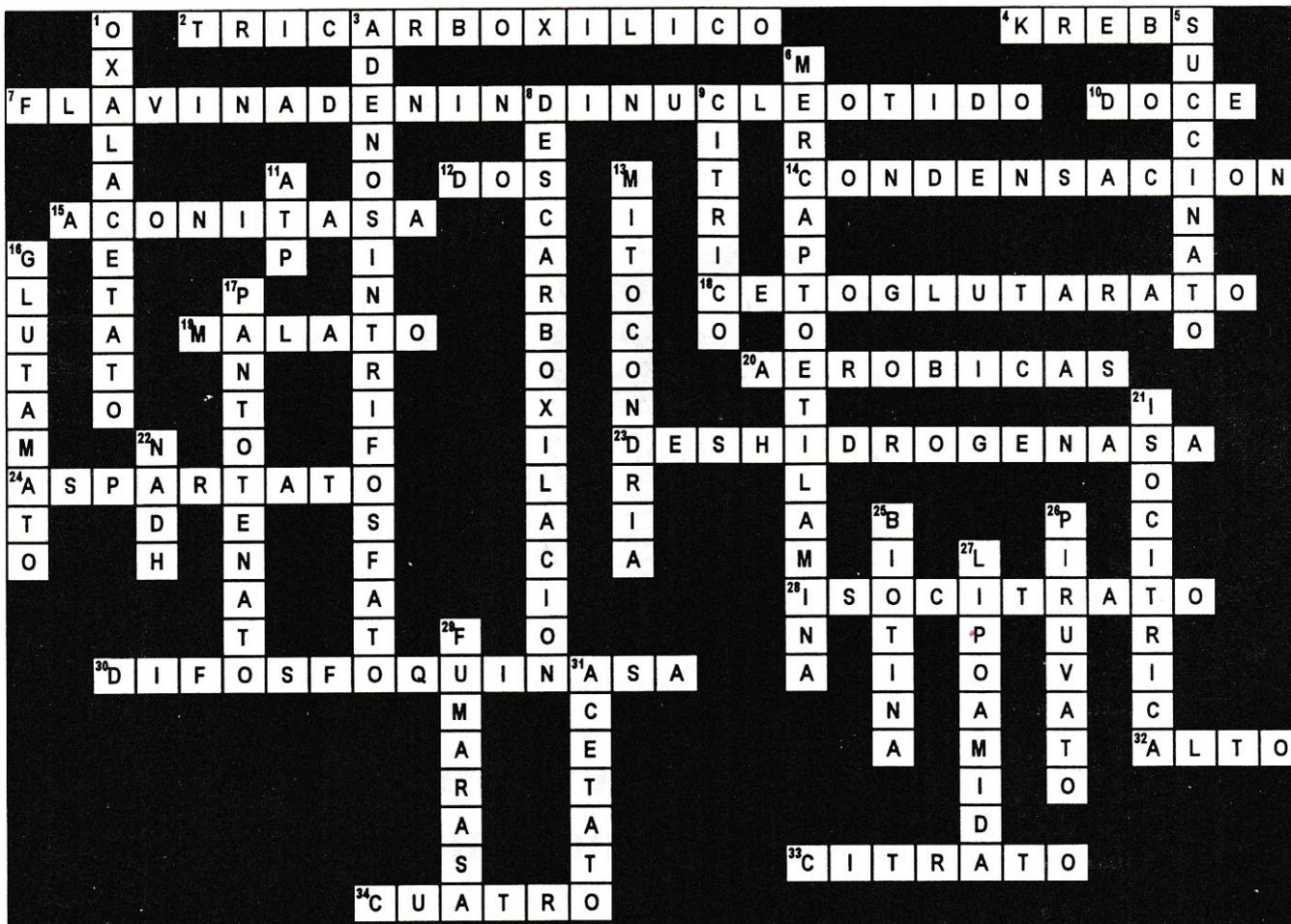
Sara Rodríguez Enríquez y Rafael Moreno Sánchez
Departamento de Bioquímica
Instituto Nal de Cardiología

FE DE ERRATAS

En el artículo de revisión: La ATP sintetasa, con cita BEB 20(2): 85-92, se omitieron involuntariamente los siguientes datos de los autores: Juan Pablo Pardo¹, Federico Martínez¹ y Guadalupe Guerra². ¹Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, UNAM. Apdo. Postal 70-159, 04510. México, D.F. Teléfono: 5623-25-10. Fax: 5616-24-19. Correo electrónico: pardo@servidor.unam.mx. ²Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, IPN; Departamento de Microbiología Laboratorio de Bioquímica Microbiana. Prolongación de Carpio y Plan de Ayala, Apdo. Postal 4-870. CP 06400, México, D.F. Tel.: 57-29-60-00. Correo electrónico: lupegs@hotmail.com

Asimismo, en el artículo: El complejo II: La succinato deshidrogenasa de la cadena respiratoria, con cita BEB 20(2): 103-107, debe decir: Juan Pablo Pardo¹, Federico Martínez¹, Guadalupe Guerra² e Isabel Velázquez¹. ¹Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, UNAM. Apdo. Postal 70-159, 04510. México, D.F. Teléfono: 5623-25-10. Fax: 5616-24-19. Correo electrónico: pardo@servidor.unam.mx. ²Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, IPN; Departamento de Microbiología Laboratorio de Bioquímica Microbiana. Prolongación de Carpio y Plan de Ayala, Apdo. Postal 4-870. CP 06400, México, D.F. Tel.: 57-29-60-00. Correo electrónico: lupegs@hotmail.com

SOLUCIÓN AL CRUCIBIOQ CICLO DE KREBS





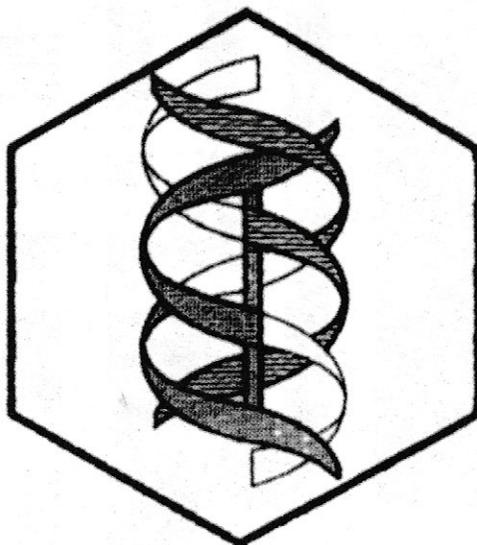
Departamento de Biología
Facultad de Química, UNAM
Ciudad Universitaria, México, D.F.
C. P. 04510
Tels.: 622 3740 y 622 3696
Fax: 622 3740

POSGRADO DE
ESPECIALIZACIÓN EN
Bioquímica
Clínica

CONVOCATORIA

La Facultad de Química en colaboración con la Secretaría de Salud, convoca al programa de posgrado de Especialización en Bioquímica Clínica para la formación de recursos humanos de alto nivel en el Laboratorio Clínico.

- **REQUISITOS DE INGRESO**
Título de Químico, Farmacéutico Biólogo, Químico Bacteriólogo y Parasitólogo, Médico, Biólogo o de Carreras afines.
- **ENTREVISTAS**
Jueves 22 y jueves 29 de noviembre de 2001 a las 16:00 hrs. Laboratorio 1/D, primer piso edificio "A", Facultad de Química, U.N.A.M.
- **EXAMEN:** 10 de Enero de 2002 a las 9:00 hrs.
- **INICIO DE CURSOS:** 4 de febrero de 2002.
- **INFORMES:** lastraa.servidor.unam.mx / fmontiel@correo.unam.mx
rom@correo.unam.mx / normacas@correo.unam.mx



**Asociación Mexicana de
Profesores de Bioquímica, AC**

SEMANA DE LA EDUCACIÓN BIOQUÍMICA 2001
XXVIII TALLER DE ACTUALIZACIÓN BIOQUÍMICA
IX CONGRESO DE LA ASOCIACIÓN MEXICANA DE PROFESORES DE BIOQUÍMICA, A.C.
Semana del 1 al 5 de octubre de 2001, programa.

HORA	LUNES 1	MARTES 2	MIÉRCOLES 3	JUEVES 4	VIERNES 5	
8:00	Inscripción					
9:00 a 10:30	Avances y retrocesos en el estudio del origen de la vida. Antonio Lazcano Facultad de Ciencias, UNAM.	Mitocondria y Apoptosis. Mauricio Montal Universidad de California La Jolla, Ca., USA.	Transporte intracelular de proteínas. José Moreno CMN Siglo XXI, IMSS.	<i>Escherichia coli</i> patógena. Alejandro Cravioto y Carlos Eszlava Facultad de Medicina, UNAM.	Estrategias de Docencia. Mónica Ramírez Facultad de Medicina, UNAM.	
RECESO						
10:45 a 12:15	Genes y genomas. Víctor Valdés Facultad de Ciencias, UNAM.	Fisiología celular y molecular de canales iónicos. Marcelino Cerejido Cinvestav, IPN.	Ruta secretoria de <i>Entamoeba histolytica</i> Alejandro Alagón Instituto de Biotecnología UNAM.	Metaloproteinasas de matriz extracelular, un delicado equilibrio... Annie Pardo. Facultad de Ciencias, UNAM.	Estrategias de Docencia Enrique Martínez ITESM Campus Monterrey	
RECESO						
12:30 a 14:00	Microbiología genómica computacional Julio Collado y Gabriel Moreno Centro de Investigación sobre fijación de nitrógeno-UNAM	Alteraciones bioquímicas en la enfermedad de Alzheimer Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM.	Regulación de la transcripción por hormonas esteroideas sexuales. Adriana Cerbón y Adriana Mendoza Fac. de Química. UNAM.	Aspectos genéticos de la diabetes en México Teresa Tusie Instituto de Investigaciones Biomédicas-UNAM-INP	Estrategias de Docencia Irma Delfín y Ma. Isabel Raygoza UAM Azcapotzalco	
RECESO						
16:00 a 19:00	Carteles Congreso de la AMPB, A.C.	TALLER: LA CONSTRUCCIÓN DE MATERIAL DIDÁCTICO HIPERTEXTUAL COMO HERRAMIENTA DE APOYO AL PROCESO DE ENSEÑANZA- APRENDIZAJE Jorge Joel Reyes Méndez. UAM-Xochimilco				Sesión de Negocios de la AMPB, A.C. Clausura

XII CONGRESO DE BIOENERGÉTICA Y BIOMEMBRANAS

3er. Comunicado

RECORDATORIO URGENTE INFORMACIÓN GENERAL PARA EL XII CONGRESO DE BIOENERGÉTICA Y BIOMEMBRANAS

REGISTRO Y RESERVACIONES.

El registro se venció el 15 de agosto del 2001 .

LOS PAGOS DEBIERON DE SER DEPOSITADOS EN LA CUENTA BANCARIA:

Cuenta No. 0107525818
BBVA BANCOMER
Sucursal 0179- Aztecas
México, D.F.

A nombre del Dr. Edgardo Escamilla Marván

La copia de la ficha de depósito debe retenerse con su nombre para comprobación con el banco.

EL DEPÓSITO PARA ASEGURAR LA RESERVACIÓN EN EL HOTEL SEDE VENCÍÓ EL 15 DE AGOSTO.

LA FECHA LÍMITE PARA LIQUIDAR EL TOTAL DEL COSTO DEL HOTEL, SERÁ EL 26 DE OCTUBRE DEL 2001.

Una vez que se reciba la inscripción se le confirmará por escrito su participación en el congreso y su reservación en el hotel sede.

El programa preliminar del congreso se dará a conocer próximamente. Para información completa, incluyendo costos visite la página en Internet de la Sociedad Mexicana de Bioquímica:

<http://ifcsun1.ifisiol.unam.mx/smb/>

A t e n t a m e n t e

EL COMITÉ ORGANIZADOR DEL XII CONGRESO DE BIOENERGÉTICA Y BIOMEMBRANAS

Dra. Ana Cecilia Zazueta
Tel. 5573-2911 (1298)/FAX 5573-0926
e-mail: zazueta22@hotmail.com

Dr. Mauricio Díaz.
Tel. y FAX 5623-4035
e-mail: mdiaz@calli.cnb.unam.mx

Dr. Sergio Sánchez-Armass
Tel. (48) 26-2345/FAX (48) 17-6976
e-mail: armass@uaslp.mx

Dr. Edgardo Escamilla Marván
(At'n Sra. Virginia Godínez)
Tel. 5622-5760/ FAX 5622-5630
e-mail: sgenmol@ifisiol.unam.mx

XII CONGRESO DE BIOENERGÉTICA Y BIOMEMBRANAS
HOTEL REAL DE MINAS
QUERÉTARO, QRO.
 Noviembre 18-22 del 2001

FORMA DE REGISTRO

DATOS GENERALES			
Nombre: _____	_____	_____	()F ()M
Apellido paterno	Apellido Materno	Nombre (s)	Sexo
Domicilio: _____			
Calle y número	Colonia	Ciudad	
INSTITUCIÓN: _____		Profesión _____	
e-mail: _____	Teléfono: _____	FAX: _____	

INSCRIPCIÓN Y RECEPCIÓN DE RESÚMENES			
FECHA LIMITE: AGOSTO 15 DEL 2001			
	Antes Agosto 15	Después agosto 15	
Investigadores	\$ 800.00	\$ 900.00	\$ _____
Estudiantes*	\$ 600.00	\$ 700.00	\$ _____

*Enviar comprobación. Los estudiantes que presenten trabajo como primer autor quedarán exentos de pago por inscripción.

RESERVACIÓN DE HOTEL (Precios por persona, vigencia: 15 de agosto)			
		No. de personas	
Habitación doble + paquete de alimentos	\$2,700.00	× _____	= \$ _____
Habitación sencilla + paquete de alimentos	\$4,200.00	× _____	= \$ _____

1.- Incluye hasta dos niños menores de doce años en ocupación doble, el precio de los alimentos es de un 50% menos para los menores de 8 años, que se pagarán en el momento del consumo.

2.- El costo de los paquetes incluye: habitación por cuatro noches en ocupación sencilla o doble, dependiendo el caso, cena del domingo 18 y desayuno + comida de lunes a jueves. Las cenas del lunes a miércoles serán por cuenta de los asistentes; así, los asistentes quedarán en libertad de explorar la ciudad y su cocina típica.

3.- Indicar al pagar su cuota, con quien desearía compartir la habitación. Los acompañantes pagarán el mismo costo del paquete de habitación más alimentos y no tendrán derecho a la utilería del congreso a menos que paguen el costo de inscripción (\$600.00 M.N.).

4.- Después del 15 de agosto, el paquete de habitación más alimentos quedará sujeto a la disponibilidad del hotel y costos del momento.

5.- De existir cancelación antes del 30 de octubre solo se reintegrará el 50% del pago. A partir del 1º. de noviembre no se aceptarán cancelaciones.

GRAN TOTAL \$ _____

Compartirá habitación con

Para garantizar su reservación, se requiere del depósito por persona del precio total del paquete, o por lo menos del monto correspondiente a la primer noche, de acuerdo a las siguientes cantidades:

Habitación doble	\$375.00
Habitación sencilla	\$750.00

DEPÓSITO \$ _____

ACEPTO LOS TERMINOS DE LA RESERVACIÓN Y LAS CONDICIONES DE ESTA FORMA.

FIRMA _____ FECHA _____

CORRESPONSALES DEL BOLETÍN DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA

Si eres miembro de la Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, A C o suscriptor del BEB y vives fuera de la Ciudad de México, te invitamos a que seas corresponsal de nuestra revista en el sitio donde radiques.

Nos interesa contar con corresponsales adscritos a las Instituciones de Educación Superior en todos los estados de la República, así como en lugares de Centro y Sudamérica, España y otros sitios en donde el BEB sea leído.

También nos interesa conocer y publicar las noticias más significativas que en nuestro campo ocurren en los diferentes lugares, ya sean seminarios, cursos, congresos, talleres, publicaciones, etc.

En el documento Normas del Comité Editorial, que es el que nos rige, hay un apartado para esta actividad, mismo que a continuación se transcribe:

5. DE LOS CORRESPONSALES

5. a) Los corresponsales del BEB son profesores y/o investigadores, que sin formar parte del Comité Editorial, coadyuvan en las actividades de la revista. El corresponsal debe ser un miembro sobresaliente de la comunidad académica local o regional. Es deseable un corresponsal en cada una de las Instituciones de Educación Superior de la República Mexicana, Centroamérica, Sudamérica y otras regiones de habla hispana.

5. b) Uno de los editores se encargará de la coordinación de los corresponsales y de la comunicación con ellos para lograr que los objetivos se cumplan. El puesto será rotatorio y se cambiará cada dos o cuatro años, de acuerdo con el Comité Editorial.

5. c) La proposición de corresponsales se hará, mediante documento firmado por cuando menos dos de los editores, que se acompañará con el *Curriculum Vitae* del candidato propuesto.

5. d) La discusión del ingreso de un corresponsal deberá realizarse después de que el Coordinador de Corresponsales haya circulado la información correspondiente y con la asistencia en pleno del Comité Editorial.

5. e) Para ser aceptado, el candidato deberá contar con la aprobación por consenso de los miembros del Comité Editorial.

5. f) En caso de ser admitido, se le hará una invitación formal a la que se anexarán estas normas. Iniciará sus actividades como corresponsal, al recibir el Editor en Jefe la aceptación escrita del candidato.

5. g) El Comité Editorial dará el crédito correspondiente a los corresponsales en la revista en el formato que el propio Comité decida.

5. h) La salida de un corresponsal puede ser por renuncia voluntaria, presentada por escrito, o bien por acuerdo del Comité Editorial, después de la evaluación de sus actividades.

5.1 RESPONSABILIDADES DE LOS CORRESPONSALES

5.1.a) Envío a través del Coordinador de Corresponsales de al menos una contribución propia o de su comunidad al año y de las noticias relevantes de su localidad o región.

5.1.b) Mantenimiento del archivo de los suscriptores del BEB de su localidad y comunicación inmediata de los cambios en él.

5.1.c) Colaboración en la promoción, difusión y distribución del BEB entre los miembros de su comunidad.

5.1.d) Colaboración en las promociones de financiamiento económico de la revista.

5.1.e) Elaboración y envío anual de un informe de sus labores que a través del Coordinador de Corresponsales se hará llegar al Comité Editorial junto con una crítica a los números correspondientes.

Por favor, dirige tu correspondencia a la Coordinadora de Corresponsales, Comité Editorial del BEB, Apartado Postal 70-281, México, 04510, DF, MÉXICO, o bien a: Tel: (52) 5623-2168 / Fax: (52) 5616-2419.

email: balmori@laguna.fmedic.unam.mx

Yolanda Saldaña Balmori
Coordinadora de Corresponsales del BEB.

INSTRUCCIONES PARA LOS COLABORADORES DEL BOLETÍN DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA

El BEB es una revista dedicada a la divulgación de temas interesantes y relevantes en el campo de la Bioquímica y de áreas afines. Está dirigido a profesores y estudiantes, por lo que se sugiere que la presentación de los trabajos se ajuste a sus lectores y sea clara y explícita. Serán bienvenidas las contribuciones en forma de artículos de revisión y otras comunicaciones. Se solicita a los autores que revisen algunos de los últimos números de esta publicación para que vean estilo, tipos de abreviaturas, etc., así como que se ajusten a los siguientes lineamientos para facilitar la labor editorial:

I. ARTÍCULOS DE REVISIÓN

- 1) El artículo deberá enviarse en un disco para computadora, escrito en los procesadores de textos "Winword" o "Word-perfect", con una extensión máxima de 15 cuartillas a doble espacio (27 renglones por cuartilla y 70 caracteres por renglón). Éste deberá ir acompañado de tres impresiones del artículo y de la solicitud para su publicación, firmada por cada uno de los autores.
- 2) El trabajo debe iniciarse con el título del artículo, nombre de los autores, iniciando por nombre propio completo y marcado como pie de nota, la afiliación del o los autores (por ejemplo: departamento e institución), domicilio, código postal, ciudad, estado, país, teléfono, fax y correo electrónico en caso de tenerlos. Debe incluirse cuatro renglones más abajo, un título breve con un máximo de 60 caracteres, incluyendo los espacios, para insertarlo como cabeza de página.
- 3) Se deberá incluir un resumen en idioma español y uno en inglés, de más o menos diez renglones, que irán seguidos por conjuntos de tres a seis palabras clave.
- 4) Se sugiere un máximo de quince referencias, tanto específicas como de lecturas recomendadas, numeradas entre paréntesis en el texto de forma progresiva conforme vayan apareciendo. Cada una debe contener: nombres de los autores, año de publicación entre paréntesis, título del artículo, nombre oficial de la revista abreviado como aparece en el Current Contents, número del volumen en cursivas y antecedido por dos puntos el número de la primera y última páginas, de acuerdo con lo que se muestra en el siguiente ejemplo:

Fraga C G y Oteiza P I (1995) Vitaminas antioxidantes: Bioquímica, Nutrición y participación en la prevención de ciertas patologías. *Bol Educ Bioq* 14:12-17.

Weindruch R (1996) Caloric restriction and aging. *Sci Amer* 274:32-38.

Los artículos en libros deberán citarse de la siguiente forma:

Wood K J (1992) Tolerance to alloantigens. En: *The molecular biology of immunosuppression*. Editor: Thomson A W. John Wiley and Sons Ltd, pp 81-104.

Los libros se citarán de acuerdo con este ejemplo y podrán incluir las páginas totales o las consultadas:

Lehninger A L, Nelson D L y Cox M M (1993) *Principles of Biochemistry*. Worth Publishers, New York, NY, USA, p 1013.

- 5) Se aceptarán como máximo seis ilustraciones, figuras más tablas, las cuales deberán estar dibujadas sobre papel albanene con tinta china o bien impresiones láser o presentarse como fotografías en blanco y negro sobre papel brillante, cuya

localización deberá estar señalada en el texto. La limitación en el número de figuras, de tablas y de referencias, obliga a los autores a que se seleccionen aquellas que sean realmente importantes e informativas. Las figuras se deberán numerar con arábigos y las tablas con romanos. Las leyendas y los pies de figuras se deberán adicionar en una hoja aparte. Se deberá considerar que las figuras y las tablas se reducirán de tamaño, aproximadamente a la mitad o a un cuarto de las dimensiones de una hoja carta; las letras y números más pequeños no deben ser menores a los dos milímetros. Las tablas se deberán presentar conforme alguna de las publicadas en los números de 1999. En caso de emplear figuras previamente publicadas, deberá dársele el crédito correspondiente u obtener el permiso para su publicación. Las figuras dentro del texto deberán mencionarse con minúsculas, la palabra entera y sin paréntesis; cuando se haga referencia a ellas deberá citarse así (Fig. X) numerándolas con arábigos. Las tablas siempre llevarán la inicial a mayúscula y se numerarán con romanos.

- 6) Se deberá evitar hasta donde sea posible los pies de páginas. Las abreviaturas poco comunes que se utilicen en el texto deberán enlistarse en la primera página.
- 7) Se recomienda revisar los números recientes para familiarizarse con el estilo de la revista.

II. OTRAS COMUNICACIONES

- 1) El tema de las otras comunicaciones puede ser muy variado; desde resúmenes de artículos interesantes, relevantes o significativos, información de tipo general, avisos de reuniones académicas y cursos, bolsa de trabajo, comentarios o erratas de artículos publicados previamente, etcétera.
- 2) El contenido deberá ser desarrollado en forma resumida y de una manera explícita.
- 3) El trabajo deberá enviarse igual que como se especifica en el inciso I-1.
- 4) Se aceptará un máximo de dos referencias incluidas entre paréntesis en el texto según el inciso I-4. En caso de que se juzgue necesario se podrá incluir una figura o una tabla, de acuerdo con las características que se indican en el inciso I-5.

Los manuscritos serán leídos por tres revisores en un lapso no mayor de dos meses. Las correcciones y sugerencias, así como las pruebas de página se enviarán al primer autor. En caso necesario se recurrirá a revisores externos al Comité Editorial.

El disco y las tres copias de los manuscritos se deberán enviar al Boletín de Educación Bioquímica, Apartado Postal 70-281, México 04510, DF o bien por intermedio del corresponsal del BEB en su localidad.

CONTENIDO

EDITORIAL

"LA EDUCACIÓN CIENTÍFICA Y LA CONTROVERSIAS SOBRE EL SIDA. EL PELIGRO DE LA ANTICIENCIA"
Jorge Joel Reyes Méndez 132

ARTÍCULOS

EL COMPLEJO III: EL CITOCROMO bc_1 DE LA CADENA RESPIRATORIA
Juan Pablo Pardo, Federico Martínez, Juan Luis Rendón Gómez y Oscar Flores-Herrera 137

EL COMPLEJO IV O CITOCROMO C OXIDASA DE LA CADENA RESPIRATORIA
Juan Pablo Pardo, Federico Martínez, Guillermo Mendoza e Isabel Velázquez 144

MECANISMOS DE SEÑALIZACIÓN PARA EL IFN gamma
Massiel del Rosario Quijano y Pedro Pratz Pérez 152

LOS ESTOMAS: APERTURA, CIERRE Y CANALES IÓNICOS
Juan Carlos Raya Pérez 158

LA MAPK-p38, SU ESTRUCTURA, CINÉTICA Y FUNCIÓN
M. Eugenia Torres-Márquez, Rodrigo Franco y Lenin D. Ochoa de la Paz 167

MECANISMOS QUE REGULAN LA DINÁMICA DEL CITOESQUELETO DE ACTINA
Merit Reyes-Reyes, Carlos Rosales, Roberto Hernández e Imelda López-Villaseñor 175

OTRAS COMUNICACIONES

SOBRE EL BOMBEO DE PROTONES POR EL CITOCROMO bc_1
Juan Pablo Pardo, Federico Martínez, Juan Luis Rendón y Oscar Flores 184

EL MOVIMIENTO DE PROTONES A TRAVÉS DEL COMPLEJO bc_1 : ¿BOMBEO O TRANSLOCACIÓN NETA?
Raúl Covián y Rafael Moreno Sánchez 186

PROBLEMA BIOQUÍMICO
Sara Rodríguez Enríquez y Rafael Moreno Sánchez 188

CRUCIBIOQ. CICLO DE KREBS
Yolanda Saldaña Balmori 189

RESPUESTA AL PROBLEMA BIOQUÍMICO
Sara Rodríguez Enríquez y Rafael Moreno Sánchez 190

SOLUCIÓN AL CRUCIBIOQ
Yolanda Saldaña Balmori 191

CONVOCATORIAS

POSGRADO DE ESPECIALIZACIÓN EN BIOQUÍMICA CLÍNICA 192

IX CONGRESO DE LA ASOCIACIÓN MEXICANA DE PROFESORES DE BIOQUÍMICA, A. C.
Tercer comunicado 193

XII CONGRESO DE BIOENERGÉTICA Y BIOMEMBRANAS
Tercer comunicado 194

CORRESPONSALES DEL BOLETÍN DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA 197

INSTRUCCIONES PARA LOS COLABORADORES DEL BOLETÍN DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA 198