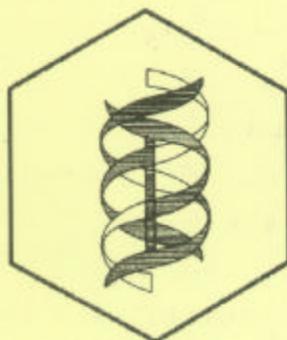


REB 2003

REVISTA DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA



Órgano de información de la
**Asociación Mexicana de
Profesores de Bioquímica, A.C.**

Departamento de Bioquímica
Facultad de Medicina
UNAM



Facultad de Medicina
UNAM



Sociedad Mexicana de
Bioquímica, A.C.

EDITADO DESDE 1982 COMO BOLETÍN DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA

VOL. 22

No. 4

DICIEMBRE 2003

COMITÉ EDITORIAL

EDITORES FUNDADORES

GUILLERMO CARVAJAL SANDOVAL

Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias
e Instituto Politécnico Nacional

JESÚS MANUEL LEÓN CÁZARES

Facultad de Ciencias Naturales
Universidad Autónoma de Querétaro

ENRIQUE PIÑA GARZA

Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

YOLANDA SALDAÑA BALMORI

Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

SERGIO SÁNCHEZ ESQUIVEL

Instituto de Investigaciones Biomédicas
Universidad Nacional Autónoma de México

EDITORES

CARLOS CERVANTES VEGA

Instituto de Investigaciones Químico Biológicas
Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

SOCORRO CONCEPCIÓN DURÁN VARGAS

Instituto 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 Nacional Autónoma de México

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

YOLANDA SALDAÑA BALMORI

Facultad de Medicina
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

ROCÍO SALCEDA SACANELLES

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

EVA IRMA VEJAR RIVERA

Facultad de Química
Universidad de Sonora

GUADALUPE OLIVA

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

KATERINA LIRA RÚAN

Centro de Investigación sobre Fijación de Nitrógeno
Universidad Nacional Autónoma de México

MARÍA DEL CARMEN RÍOS DE MOLINA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales
Universidad de Buenos Aires, Argentina.

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).

REVISTA DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA (REB), publicación trimestral de la Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, AC.

Correspondencia: Comité Editorial, Apartado Postal 70-281, Coyoacán, C. P. 04510, México, D. F. Certificados de: Licitud de Título: 12000; Licitud de Contenido: 8397 No. de expediente 1/432"2"/15792; Reserva al título en derecho de autor No. 04-2002-030616225500-102. Diseño: Ruth Carolina Castañeda Cortes; Tiraje 750 ejemplares. Impresión: Departamento de Impresos de la Facultad de Medicina, UNAM, Distribuidor: Servicio Postal Mexicano, Reg. No. PP09-1001; UNAM-Depto. de Bioquímica y Facultad de Medicina.

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

CONTENIDO

COMITÉ EDITORIAL

EDITORIAL

| | |
|---|-----|
| MI EXPERIENCIA CON EL PREMIO NOBEL DE QUÍMICA 2003 Laura Escobar Pérez..... | 181 |
|---|-----|

ARTÍCULOS

| | |
|--|-----|
| LAS PIROFOSFATASAS. AVANCES RECIENTES Rodolfo García-Contreras e Irma Romero..... | 183 |
|--|-----|

| | |
|--|-----|
| LOS METABOLITOS DE LAS PLANTAS Y LAS CÉLULAS CANCEROSAS I. LOS FLAVONOIDES Eva Soriano de Richards..... | 191 |
|--|-----|

| | |
|---|-----|
| METABOLISMO DE LAS LIPOPROTEÍNAS Y EL RECEPTOR DE LA LIPOPROTEÍNA DE BAJA DENSIDAD (LDL-R) Alejandra Huerta-Zepeda y Socorro Durán- Vargas..... | 198 |
|---|-----|

| | |
|--|-----|
| LAS DIFERENTES FUNCIONES DE LAS PROTEÍNAS DE LA FAMILIA BAR Natalia Manzano-León, Margarita Guaderrama- Díaz y Jaime Mas-Oliva..... | 206 |
|--|-----|

OTRAS COMUNICACIONES

| | |
|---|-----|
| PROBLEMA BIOQUÍMICO. ESTRUCTURA- FUNCIÓN DE PROTEÍNAS José S. Rodríguez Zavala..... | 212 |
|---|-----|

| | |
|--|-----|
| CRUCIBIOQ. METABOLISMO DE NUCLEÓTIDOS Yolanda Saldaña Balmori..... | 213 |
|--|-----|

| | |
|---|-----|
| RESPUESTA AL PROBLEMA BIOQUÍMICO José S. Rodríguez Zavala..... | 215 |
|---|-----|

| | |
|---|-----|
| SOLUCIÓN AL CRUCIBIOQ Yolanda Saldaña Balmori..... | 218 |
|---|-----|

| | |
|---|-----|
| LIBROS DE RECIENTE PUBLICACIÓN: BIOLOGÍA CELULAR Y MOLECULAR Luis Felipe Jiménez y Horacio Merchant. Comentarista: J. Adolfo García Sáinz..... | 219 |
|---|-----|

| | |
|---|-----|
| PREMIO NOBEL DE QUÍMICA 2003: RODERICK MACKINNON Y LA ESTRUCTURA DE LOS CANALES IÓNICOS. Juan Carlos Gómorra Martínez..... | 221 |
|---|-----|

CONVOCATORIAS

| | |
|-------------------------------------|-----|
| SEMANA DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA..... | 224 |
|-------------------------------------|-----|

| | |
|--|-----|
| XII CONGRESO DE ASOCIACIÓN MEXICANA DE PROFESORES DE BIOQUÍMICA, A. C. | 225 |
|--|-----|

| | |
|---|-----|
| XXXI TALLER DE ACTUALIZACIÓN BIOQUÍMICA. Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, UNAM..... | 230 |
|---|-----|

| | |
|---|-----|
| VOCABULARIO INGLÉS-ESPAÑOL DE BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR. Gonzalo Claros, Verónica Saladrigas y Diego González-Halphen..... | 231 |
|---|-----|

| | |
|--|-----|
| CORRESPONSALES DE LA REVISTA DE EDUCACION BIOQUÍMICA..... | 239 |
|--|-----|

| | |
|---|-----|
| ÍNDICE ANUAL DE LA REVISTA DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA 2003..... | 240 |
|---|-----|

| | |
|---|-----|
| INSTRUCCIONES PARA LOS COLABORADORES DE LA REVISTA DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA..... | 244 |
|---|-----|

REVISORES ASOCIADOS AL COMITÉ EDITORIAL (2003)

REVISORES ASOCIADOS AL COMITÉ EDITORIAL (2003)

GUILLERMO ÁLVAREZ LLERA

Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

IRMA BERNAL LUGO

Facultad de Química
Universidad Nacional Autónoma de México

KARLA CARVAJAL AGUILERA

Instituto Nacional de Cardiología "Dr. Ignacio Chávez"

RAÚL MIGUEL COVIÁN GARCÍA

Instituto Nacional de Cardiología "Dr. Ignacio Chávez"

EDMUNDO CHÁVEZ COSSIO

Instituto Nacional de Cardiología "Dr. Ignacio Chávez"

HÉCTOR JAVIER DELGADILLO GUTIÉRREZ

División de Ciencias Biológicas y de la Salud
Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco

LAURA ESCOBAR PÉREZ

Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

AMELIA FARRES GONZÁLEZ

Facultad de Química
Universidad Nacional Autónoma de México

ALEJANDRO FERNÁNDEZ DE VELASCO

Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

JOSÉ DE JESÚS GARCÍA TREJO

Instituto Nacional de Cardiología "Dr. Ignacio Chávez"

ANDONI GARRITZ RUIZ

Facultad de Química
Universidad Nacional Autónoma de México

MARINA GAVILANES RUIZ

Facultad de Química
Universidad Nacional Autónoma de México

MARCO TULLIO GONZÁLEZ

Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

DIEGO GONZÁLEZ HALPHEN

Instituto de Fisiología Celular
Universidad Nacional Autónoma de México

ZURISSADAI HERNÁNDEZ GALLEGOS

Centro de Investigación y de Estudios Avanzados
Instituto Politécnico Nacional

FERNANDO LÓPEZ CASILLAS

Instituto de Fisiología Celular
Universidad Nacional Autónoma de México

IMELDA LÓPEZ VILLASEÑOR

Instituto de Investigaciones Biomédicas
Universidad Nacional Autónoma de México

VILMA MALDONADO LAGUNAS

Instituto Nacional de Cancerología

RICARDO MONDRAGÓN FLORES

Centro de Investigación y de Estudios Avanzados
Instituto Politécnico Nacional

JESÚS A. OLIVARES REYES

Centro de Investigación y de Estudios Avanzados
Instituto Politécnico Nacional

ALICIA ORTEGA AGUILAR

Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

ENRIQUE ORTEGA SOTO

Instituto de Investigaciones Biomédicas
Universidad Nacional Autónoma de México

JAVIER PLASCENCIA DE LA PARRA

Facultad de Química
Universidad Nacional Autónoma de México

JUAN LUIS RENDÓN GÓMEZ

Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

ADELA RODRÍGUEZ ROMERO

Instituto de Química
Universidad Nacional Autónoma de México

JOSÉ SALUD RODRÍGUEZ ZAVALA

Instituto Nacional de Cardiología "Dr. Ignacio Chávez"

IRMA ROMERO ÁLVAREZ

Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

EMMA SAAVEDRA LIRA

Instituto Nacional de Cardiología "Dr. Ignacio Chávez"

SERGIO SÁNCHEZ ESQUIVEL

Instituto de Investigaciones Biomédicas
Universidad Nacional Autónoma de México

MANUEL SORIANO GARCÍA

Instituto de Química
Universidad Nacional Autónoma de México

ALEJANDRO SOSA PEINADO

Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

ISABEL SOTO CRUZ

Facultad de Estudios Superiores Zaragoza
Universidad Nacional Autónoma de México

RICARDO TAPIA IBARGÜENGOITIA

Instituto de Fisiología Celular
Universidad Nacional Autónoma de México

LUIS TERRAZAS VALDÉZ

Instituto Nacional de Cardiología "Dr. Ignacio Chávez"

MARÍA EUGENIA TORRES MÁRQUEZ

Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

EDITORIAL

MI EXPERIENCIA CON EL PREMIO NOBEL DE QUIMICA 2003

El premio Nobel de Química del 2003 fue otorgado a Peter Agre de la Escuela de Medicina de la Universidad Johns Hopkins en Baltimore, y a Roderick MacKinnon del Instituto Médico Howard Hughes de la Universidad Rockefeller en Nueva York. Agre identificó el primer canal que transporta el agua en las células en 1991. MacKinnon ha sido el único que ha podido cristalizar dos tipos de canales iónicos: el de potasio y el de cloruro, dos familias de canales de las membranas celulares.

En 1991 inicié una estancia posdoctoral con MacKinnon. En ese entonces Rod tenía tan sólo 34 años y un par de años como investigador independiente en el Departamento de Neurobiología de la Escuela de Medicina de la Universidad de Harvard. Rod ya había llamado la atención de la comunidad por haber identificado la región por donde se movían los iones y la estequiometría de un canal de potasio. Cuando leí sus trabajos publicados en *Science* y *Nature*, lo primero que me fascinó fue su estrategia experimental y el análisis de sus resultados. En 1990 para la identificación del poro utilizó una toxina peptídica que bloquea estos canales iónicos: por la unión de sus residuos de aminoácidos cargados positivamente con los residuos del canal cargados negativamente. A partir del modelo de la topología del canal mutó los aminoácidos negativos de las tres asas extracelulares, lo que le permitió proponer la región del poro por las mutantes que no unieron la toxina. Al usar de manera muy ingeniosa quimeras de estas mutantes, a través de su bloqueo diferente con la toxina y del análisis matemático de las posibles combinaciones, demostró en 1991 que el canal comprendía cuatro subunidades homólogas.

A mi llegada a su laboratorio, me incorporé al grupo para participar en el mapeo de los sitios de unión y la cinética de inhibición de los canales de potasio por toxinas. En un lapso de dos años publicamos mi trabajo en la revista "Biochemistry". Fue en ese entonces que se identificó una secuencia altamente conservada que se denominó la

"secuencia firma" en la superfamilia de los canales de potasio, en el laboratorio. Por medio de mutaciones en este segmento (H5), se identificaron a tres aminoácidos (GYG) que conferían al canal su selectividad de transporte (fluye 10,000 veces más potasio que sodio). Este hallazgo fue la evidencia experimental de la existencia del llamado filtro de selectividad de los canales, previamente propuesto por Hodgkin y Keynes en 1955, y por Bertil Hille y Clay Armstrong a finales de los sesenta.

Posteriormente, MacKinnon desarrolló numerosos trabajos con toxinas en el vestíbulo extracelular del poro de los canales de potasio. Todas estas investigaciones se encaminaron a establecer un modelo de la arquitectura del poro y de la localización espacial del filtro de selectividad.

La identificación del poro del canal facilitó la clonación de numerosos canales de potasio por varios laboratorios, incluyendo los de otras familias como son los canales de potasio de dos segmentos en la membrana. Sin embargo, pese a numerosos esfuerzos de diversos laboratorios aún no era posible cristalizar a esta gran familia de proteínas de membrana.

En 1995 surge una nueva etapa en la dilucidación de la estructura de los canales de potasio al clonarse un canal de potasio de la levadura *Streptomyces lividans* (KcsA). Debido a la facilidad para obtener cantidades apreciables de estos canales, varios laboratorios iniciaron la carrera hacia su cristalización. En un tiempo récord MacKinnon publicó por primera vez, en marzo de 1998, la estructura tridimensional de este canal. La comunidad científica quedó simplemente maravillada. Ya que la estructura del KcsA correspondía a un canal con el poro cerrado, en 2002 MacKinnon describió la estructura cristalina de un canal de potasio de otra bacteria (el canal MthK), pero ahora en una conformación abierta.

Estos canales de potasio cristalizados por el grupo de Rod no tienen un sensor de voltaje, el dominio hidrofóbico con

cuatro y hasta siete residuos con cargas positivas que se mueve con los cambios de voltaje en la membrana. Después de cinco años de intentos fallidos, MacKinnon y su grupo lograron la cristalización del canal de potasio KvAP, de la arqueobacteria *Aeropyrum pernix*. La estructura de rayos X del canal KvAP muestra los seis segmentos de membrana que forman el canal. En 1993 contradujo el modelo vigente de que el sensor de voltaje se ubica al interior de la proteína. MacKinnon publica la estructura del sensor de voltaje S4 junto con una sección del segmento S3 como una alfa-hélice, una especie de palanca muy flexible que sale del interior del canal hacia la membrana. Esto explica cómo pequeñas moléculas solubles en lípidos pueden unirse a los sensores de voltaje de varios canales iónicos. Estas moléculas pueden ser anestésicos locales, alcaloides o insecticidas como el DDT.

Además de todos estos trabajos impresionantes sobre la estructura y funcionamiento de los canales de potasio, MacKinnon y su grupo lograron cristalizar dos canales de cloro también de bacterias, y confirmaron trabajos previos de otros investigadores que sugerían que este canal tenía dos subunidades, cada una con su propio poro. Los canales de cloro de los vertebrados se relacionan con varias funciones importantes. En el músculo, estabilizan el potencial de membrana en el reposo y regulan su excitabilidad. En el riñón, los canales de Cl^- se acoplan al funcionamiento de transportadores de Na^+ , K^+ y Cl^- y con canales de K^+ en los epitelios.

La comunidad científica ha quedado extasiada no sólo con los resultados de la estructura de los canales iónicos, sino con la genialidad de MacKinnon. Sus aportaciones han abierto nuevas posibilidades para el estudio de estas proteínas de membrana y sientan las bases para la comprensión de muchas enfermedades neurológicas, musculares, cardíacas y renales, y para el diseño de nuevos fármacos.

Lo más sorprendente es que a la fecha nadie más ha podido cristalizar estos canales. Cuando se le pregunta a qué se debe su éxito, simplemente contesta: “determinación y pasión. Cuando se está apasionado por lo que haces, es fácil poner atención en todos los detalles”. Pero el éxito requiere de mucha paciencia y cuidados. “Los canales iónicos necesitan extraerse de las membranas biológicas junto con sus lípidos y cristalizarse antes de que se separen.”

Hay muchos factores que han llevado a MacKinnon al éxito. Pero principalmente su valor para aprender y aplicar de manera magistral técnicas nuevas.

Trabajar con Rod fue una gran experiencia de mucha presión pero en un ambiente de trabajo interdisciplinario muy creativo. Por fortuna había un gran entusiasmo por confirmar cada hipótesis surgida de las apasionadas discusiones en el laboratorio. Rod insistía en que había que buscar siempre analogías con los experimentos de la bioquímica clásica y dejarse llevar por la intuición, sin rebuscamientos y con un gran rigor científico. Rod tiene un pensamiento eminentemente matemático por lo que siempre acude a las aportaciones de la termodinámica y de la química de soluciones para explicar sus resultados.

Inspirada en su genialidad, con mucho esfuerzo pero de manera exitosa he logrado conformar un grupo interdisciplinario de trabajo en mi laboratorio de canales iónicos en el Departamento de Fisiología de la Facultad de Medicina.

Dra. Laura Escobar Pérez
Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

LAS PIROFOSFATASAS. AVANCES RECIENTES*

Rodolfo García-Contreras e Irma Romero

RESUMEN

El pirofosfato es un compuesto de alta energía generado principalmente en la biosíntesis de macromoléculas y su papel dentro de las células es muy amplio. Las enzimas encargadas de metabolizarlo son las pirofosfatasa de las cuales existen dos tipos: i) la citosólicas, que se encargan de hidrolizar el PPi para darle direccionalidad a las reacciones biosintéticas y ii) las membranales, que utilizan la energía del PPi para generar un gradiente electroquímico de protones a través de las membranas. Este trabajo examina los avances recientes en el estudio de estas enzimas, en su clasificación, distribución, estructura y su función en el metabolismo de los organismos.

PALABRAS CLAVE: Pirofosfato, pirofosfatasa citosólica, pirofosfatasa membranal.

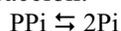
ABSTRACT

Pyrophosphate is a high-energy compound mainly generated in the biosynthesis of macromolecules and its role in the cells is very wide. The enzymes that metabolize it are the pyrophosphatases which are divided in two types: i) the cytosolic ones, that hydrolyze PPi giving directionality to the biosynthetic reactions, and the ii) membrane-bound that utilize the energy of PPi to generate an electrochemical proton gradient across membranes. This work examines the recent advances in the study of these enzymes, its classification, distribution, structure, as well as its function in the metabolism of the organisms.

KEY WORDS: Pyrophosphate, Soluble pyrophosphatase, Membrane-bound .

INTRODUCCIÓN

Las pirofosfatasa (PPasas) son enzimas que catalizan la hidrólisis y la síntesis del pirofosfato, de acuerdo a la siguiente reacción:



El PPi es el compuesto químico más simple que contiene una unión fosfoanhídrido de alta energía. Debido a la alta afinidad del PPi por el Mg^{2+} ($\log K_s = 6.0$) y dado que las concentraciones de este catión son relativamente altas en el citosol, el PPi probablemente se encuentra formando un complejo 1:1 con este metal. El cambio de energía libre estándar asociado a la hidrólisis del PPi, a pH 7.4, en presencia de 1 mM de Mg^{2+} , es de 4.0 kcal mol⁻¹ (1).

EL PAPEL DEL PIROFOSFATO EN EL METABOLISMO CELULAR

En 1957 Kornberg (2) propuso que el PPi era un compuesto secundario del metabolismo que debía ser hidrolizado por la PPasa citosólica para darle direccionalidad a las reacciones biosintéticas de la célula. En consecuencia, la energía contenida en la unión fosfoanhídrido de este compuesto se liberaría en forma de calor.

Sin embargo, en 1962, Sui y Wood (3) descubrieron en la bacteria *Propionibacterium shermanii*, una reacción catalizada por la fosfoenolpiruvato carboxitransfosforilasa que utiliza PPi:



A partir de este descubrimiento, se han encontrado más enzimas que utilizan PPi como donador de energía en procesos tales como la fosforilación de intermediarios esenciales de la glucólisis y gluconeogénesis en microorganismos y en algunas rutas metabólicas de plantas. Estos hallazgos mostraron que el PPi puede utilizarse como donador de energía y en algunas reacciones incluso puede ser utilizado en lugar de ATP.

Por otra parte, la concentración de PPi en diferentes células (microbianas, animales y vegetales) se encuentra entre 0.1 y 2 mM (1), valores que son comparables a los de otros intermediarios del metabolismo energético, tales como el ATP, (2 a 10

* Recibido: 25 de agosto del 2003 Aceptado: 11 de diciembre del 2003

mM) (1). Otro hecho que demuestra la importancia del PPI en las células, es la existencia de las PPasas membranales de procariontes, plantas y protistas (ver más adelante). Estas enzimas al hidrolizar PPI, generan un gradiente electroquímico de H^+ que puede ser utilizado para diversas funciones metabólicas. En conjunto, todas estas evidencias muestran que el PPI no solamente es un producto secundario de las reacciones de pirofosforólisis, sino que es un compuesto energético que desempeña un papel importante en la bioenergética de los organismos.

CLASIFICACIÓN DE LAS PIROFOSFATASAS

Existen dos tipos de PPasas, las citosólicas y las membranales. Hasta hace algunos años, la definición de estos dos tipos era muy simple, sin embargo, gracias a los avances recientes en el aspecto bioquímico y molecular de las pirofosfatasa y al conocimiento creciente de genomas de diferentes organismos, esta clasificación se ha detallado considerablemente. En esta revisión se pretende describir los avances en el conocimiento de las pirofosfatasa y como han conducido a una nueva y más amplia clasificación de estas enzimas.

A) PIROFOSFATASAS CITOSÓLICAS

La pirofosfatasa citosólica es una enzima que se encuentra prácticamente en la totalidad de los organismos y su función es exclusivamente hidrolítica. Esta enzima desempeña un papel preponderante en el metabolismo celular ya que, al hidrolizar el PPI proveniente de los procesos biosintéticos (síntesis de polisacáridos, proteínas, ácidos nucleicos, urea, lípidos, entre otras), favorece termodinámicamente que estas reacciones continúen generando sus productos. De otra manera el equilibrio termodinámico se alcanzaría rápidamente y la célula sería incapaz de crecer y/o

TABLE I
CARACTERÍSTICAS DE LAS PIROFOSFATASAS CITOSÓLICAS

| | Familia I | | Familia II |
|-----------------------------------|---------------------------------|-------------------------|--------------------------|
| | Eucariontes | Procariontes | Procariontes |
| Organismo representativo | <i>Saccharomyces cerevisiae</i> | <i>Escherichia coli</i> | <i>Bacillus subtilis</i> |
| Masa molecular del monómero (kDa) | 32 | 20 | 34 |
| Estructura cuaternaria | Dímero | Hexámero | Dímero |
| pH óptimo | 7 | 8-9 | 8-9 |
| k_{cat} (s^{-1}) | 300 | 200-300 | 1700-3300 |
| K_m para PPI-catión (M) | $\sim 6^a$ | 1-6 ^a | 90-160 ^b |
| Actividad Específica ^c | 100-400 | ~ 1000 | ~ 4000 |
| Activador principal | Mg^{2+} | Mg^{2+} | Mn^{2+} ó Co^{2+} |
| Sensibilidad a NaF | Si | Si | No ^d |
| Inhibición por Ca^{2+} | Si | Si | No |

^a PPI- Mg como sustrato.

^b PPI- Mn como sustrato.

^c moles de PPI hidrolizado min^{-1} mg proteína⁻¹.

^d En presencia de Mn^{2+} o Co^{2+} .

replicarse (2). La importancia de esta enzima quedó comprobada al demostrarse en 1990, que es esencial para la supervivencia de *Escherichia coli* (4).

NUEVA CLASIFICACIÓN DE LAS PIROFOSFATASAS CITOSÓLICAS.

Anteriormente las pirofosfatasa citosólicas estaban divididas simplemente en dos clases de acuerdo al tipo de organismo que las contenía, las de procariontes y las de eucariontes, sin embargo, en 1998 Young y colaboradores (5) descubrieron en *Bacillus subtilis*, una nueva clase de PPasa citosólica con características diferentes a las conocidas hasta entonces.

Actualmente estas enzimas se clasifican en dos familias: la familia I incluye a las dos clases conocidas anteriormente, que están ampliamente distribuidas. En los procariontes las PPasas de la familia I son homohexámeros u homotetrámeros compuestos por subunidades de aproximadamente 20 kDa y en los eucariontes, son homodímeros compuestos de subunidades de aproximadamente 32 kDa. Las enzimas mejor caracterizadas de

cada uno de estos grupos son la de *E. coli* y la de *Saccharomyces cerevisiae*, respectivamente. La secuencia, estructura y el mecanismo catalítico de las PPasas de la familia I se ha caracterizado en detalle (6); estas enzimas utilizan el complejo Mg-PPI como sustrato y requieren de Mg^{2+} libre para expresar el máximo de su velocidad. La estructura tridimensional de las subunidades dentro de esta familia se ha conservado, así como el sitio activo, el cual está constituido de 14 a 16 aminoácidos donde se alojan tres o cuatro iones Mg^{2+} . El mecanismo catalítico de las enzimas de esta familia consiste en la transferencia del grupo fosfato al agua, en un solo paso, sin la formación de un intermediario fosforilado de la enzima. El fluoruro es un inhibidor clásico de estas PPasas (Tabla I). La familia II incluye únicamente pirofosfatasa de bacterias y se han descrito en *B. subtilis*, *Methanococcus jannaschii*, *Archaeoglobus fulgidus*, *Streptococcus gordonii*, *Streptococcus mutans* y en alrededor de 13 procariontes más, en los que han

sido encontradas por medio de análisis de secuencias de proteínas homólogas. Recientemente se han descrito dos representantes más de esta familia en bacterias fotosintéticas púrpuras no sulfurosas (7). La secuencia de aminoácidos de estas PPasas no presenta similitud alguna con las de la familia I; por lo cual se puede afirmar que no tienen un origen evolutivo común. Son homodímeros compuestos de subunidades de 34 kDa y poseen una actividad hidrolítica mayor que la de las enzimas de la familia I, prefieren Mn^{2+} tanto para formar el sustrato Mn-PPi, como para activador. A diferencia de las PPasas de la familia I, son insensibles a la inhibición por fluoruro en presencia de Mn^{2+} o Co^{2+} (Tabla I).

En el 2001 se obtuvo la primera estructura cristalográfica de una PPasa citosólica de la familia II (*S. mutans*) (8). Al analizar su estructura y compararla con las PPasas de la familia I (*E. coli* y *S. cerevisiae*), se encontró que las conformaciones tridimensionales de éstas diferían notablemente. Las subunidades de las PPasas de la familia I tienen una estructura de β -barril, con un solo dominio por subunidad y el sitio activo en la parte superior del barril. Por otra parte, las subunidades de las PPasas de la familia II se estructuran en dos dominios (amino y carboxilo) unidos por una asa flexible y en cuya interfase se localiza el sitio activo (Fig. 1). Esta estructura ha llevado a proponer que el mecanismo para la actividad de esta enzima, implica una conformación cerrada cuando contiene al sustrato y una abierta en su ausencia. A pesar estas diferencias, existe una similitud notable en el sitio activo de las dos familias de PPasas; en ambas, el sitio activo es polar y el arreglo espacial de seis residuos se conserva, así como la presencia de una molécula de agua coordinada a dos iones metálicos que podría participar en el ataque nucleofílico al sustrato. Esto sugiere que el mecanismo de reacción de las dos familias de PPasas

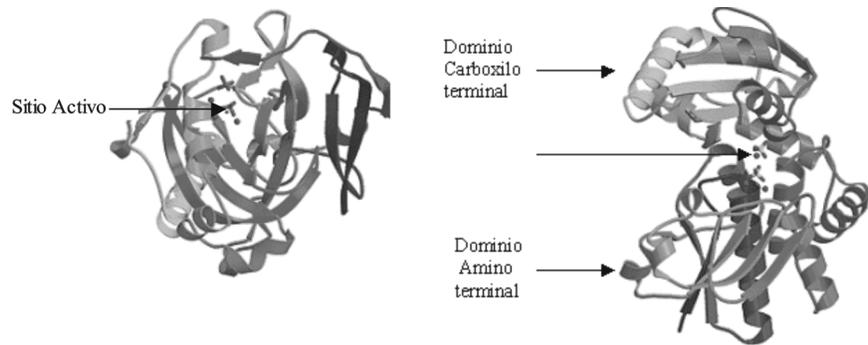


Figura 1. Estructura de las Pirofosfatasa citosólicas de *S. cerevisiae* (izquierda) y *S. mutans* (derecha), pertenecientes a las familias I y II respectivamente. (Traducida de 8).

es análogo (no homólogo), lo cual es un ejemplo claro de evolución convergente.

Dentro de los escasos organismos reportados que utilizan PPasa citosólica de la familia II, se han identificado varios microorganismos patógenos como *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Vibrio cholerae* y *Listeria monocytogenes*; es pues importante la caracterización de esta enzima ya que podría ser útil para el diseño de fármacos específicos contra estas bacterias.

B) PIROFOSFATASAS MEMBRANALES

De acuerdo a su interacción con la membrana se pueden distinguir dos tipos de éstas PPasas: las asociadas y las integrales de membrana. Todas ellas pueden llevar a cabo la hidrólisis de Ppi

PIROFOSFATASAS ASOCIADAS A MEMBRANA

Estas enzimas son fácilmente extraíbles de la membrana por tratamientos con agentes caotrópicos y detergentes. No se conoce mucho de estas PPasas ya que hasta la fecha sólo han sido encontradas en la membrana plasmática de la bacteria *Sulfolobus acidocaldarius*, en las mitocondrias de *Pisum sativum* (chícharo) y de *S. cerevisiae* y en el tilacoide de *Spinacia oleracea* (espinaca) (9). La

estructura global de estas PPasas asociadas a la membrana no se ha determinado, sin embargo, la comparación del número y masa molecular de las subunidades catalíticas que se han aislado parece indicar que se trata de un grupo de enzimas más bien heterogéneo.

PIROFOSFATASAS INTEGRALES DE MEMBRANA, BOMBEADORAS DE PROTONES (H^+ PPasas).

Estas PPasas son proteínas integrales de membrana que utilizan la energía liberada de la hidrólisis del PPi para transportar protones (H^+) a través de la membrana (de ahí la denominación H^+ PPasas), de tal manera que estas enzimas conservan parte de la energía del PPi en forma de un gradiente electroquímico de H^+ . Estas enzimas coexisten en las membranas con las H^+ ATPasas y representan una clase distinta a ellas; de hecho, no presentan similitud en su secuencia con las bombas dependientes de ATP, como las ATPasas de los tipos F (F_1F_0), V (vacuolar) y P (con intermediario fosforilado) ni con los transportadores ABC, por lo que la posibilidad de que compartan un origen común queda descartada (10). Sin embargo, es interesante el hecho de que la región catalítica (F_1) de la ATPasa F_1F_0 es capaz de unir (11), sintetizar (12) y utilizar PPi como activador alostérico (13), sugiriendo similitudes estructurales y funcionales.

La existencia de estas H^+ PPasas se reportó por primera vez en la bacteria fotosintética *Rhodospirillum rubrum* (14). Posteriormente se han caracterizado, bioquímica y molecularmente, en otras bacterias fotosintéticas, en plantas superiores y algas, en la arqueobacteria *Pyrobaculum aerophilum* y en algunos protistas parásitos del humano (9). Es interesante hacer notar que al parecer no están presentes en animales. En eucariontes, la H^+ PPasa está asociada a ciertos compartimentos acidicos del sistema membranal interno, en plantas se localiza en la vacuola (tonoplasto) y el lisosoma, y en los protistas en los acidocalcisomas (15). Hasta hace muy poco tiempo la distribución filogenética de estas enzimas parecía muy restringida, sin embargo, recientemente se identificaron fragmentos de genes de H^+ PPasas en un gran número de protistas parásitos y de vida libre, en bacterias verdes no sulfurosas y sulfurosas, heliobacterias (fotosintéticas Gram-positivas), fotosintéticas halófitas y en bacterias no fotosintéticas fijadoras de nitrógeno (16). Lo anterior nos indica que estas enzimas parecen tener una distribución más amplia de lo que se pensaba.

La mayor parte del conocimiento de estas enzimas se debe al estudio de dos modelos, la H^+ PPasa vacuolar de plantas (V- H^+ PPasas) y la H^+ PPasa de *R. rubrum*. En términos generales, estas enzimas están formadas de una sola subunidad de 75 a 81 kDa de masa molecular con 14 a 16 cruces transmembranales (Fig. 2), se desconoce su estado de oligomerización, aunque se presume que se trata de dímeros (9). En cuanto a su estructura primaria, se tiene aproximadamente un 40% de identidad entre las H^+ PPasas de bacterias y las de vacuola. En cambio, con excepción del sitio catalítico, no se ha encontrado ninguna similitud entre las H^+ PPasas y las PPasas citosólicas. Se pueden distinguir tres segmentos conservados (SC) en todas las secuencias de

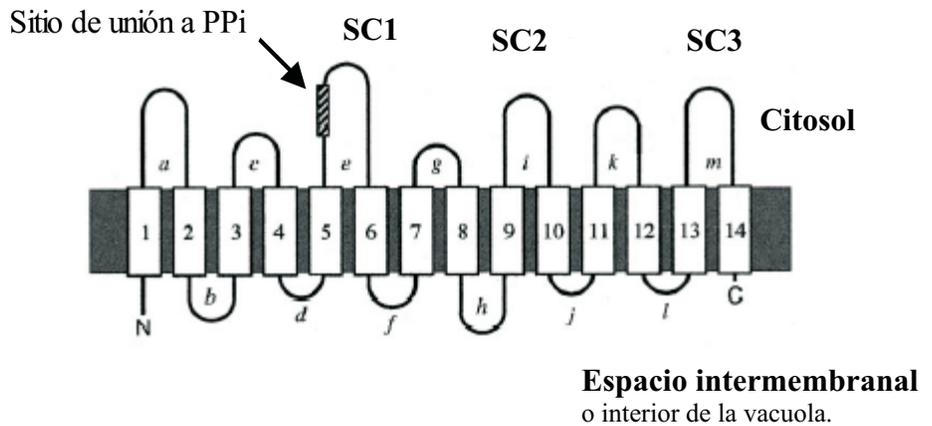


Figura 2. Modelo topológico de la H^+ PPasa vacuolar. Los cruces transmembranales obtenidos por medio de un perfil de hidropatía están numerados del 1 al 14, las asas hidrofílicas están indicadas con letras (a-m). Los tres segmentos de secuencia de aminoácidos conservados en todas las H^+ PPasas se indican como: SC1, SC2 y SC3 y dentro del SC1 se muestra el sitio de unión a PPI (Traducida de 9).

aminoácidos de H^+ PPasas determinadas hasta la fecha.

El segmento conservado mejor estudiado es el SC1, el cual incluye el dominio catalítico para la hidrólisis del PPI y está orientado hacia el citosol en el asa hidrofílica denominada e (Fig. 2). Se sabe que la secuencia (E/D)(X)₇KXE (donde X es cualquier aminoácido) corresponde al sitio catalítico de las PPasas, tanto de las formas solubles como de las H^+ PPasas, específicamente para las H^+ PPasas la secuencia es DVGADLVGKVE. El segundo segmento conservado, el SC2, es también una asa hidrofílica localizada entre los cruces transmembranales 9 y 10 (Fig. 2); a pesar de que es el menos estudiado se sabe que el primer residuo del segmento (Asp 504) es esencial para la actividad. El segmento SC3 se encuentra en el extremo carboxilo terminal, contiene doce residuos cargados, algunos de los cuales, como los aspárticos 723, 727 y 731 de la H^+ PPasa de frijol mungo (*Vigna radiata*), son importantes para la actividad, como se ha demostrado por medio de experimentos de mutagénesis dirigida. Por esto, se sugiere que el SC3 se encuentra expuesto al citosol y que, de manera conjunta con SC1 y SC2, desempeña un papel crítico en la función catalítica

de estas enzimas (9).

Todas las H^+ PPasas hidrolizan al complejo Mg-PPI y requieren de Mg^{2+} libre para su actividad. Se ha encontrado que algunas de estas enzimas, como las de *Thermotoga marítima* y *Carboxydotherrmus hydrogeniformans*, así como la mayor parte de las enzimas de vacuola, tienen además un requerimiento de 30 mM de K^+ para su actividad; en el caso de las células vegetales, la concentración de K^+ en el citosol está alrededor de 60 mM (17) por lo que es probable que las H^+ PPasas vacuolares trabajen a velocidad máxima. Otras H^+ PPasas, como la de *R. rubrum*, *P. aerophilum* y *Arabidopsis thaliana* (AVP2) son insensibles al catión monovalente, de aquí que las H^+ PPasas se han subdividido en K^+ -independientes y K^+ -dependientes (10).

Con base en el análisis filogenético de 48 secuencias, se ha sugerido que las H^+ PPasas K^+ -dependientes y K^+ -independientes forman dos grupos que evolucionaron de manera separada (10). El análisis de secuencias de aminoácidos reveló que las H^+ PPasas K^+ -independientes poseen una lisina y una treonina conservadas, las cuales están ausentes en las H^+ PPasas K^+ -dependientes (10). Utilizando a la H^+ PPasa K^+ -dependiente de la bacteria *C. hydrogeniformans*, que

está filogenéticamente muy relacionada con las H^+ PPasas K^+ -independientes, se demostró que la sustitución de la alanina 460 por lisina es suficiente para hacer desaparecer la dependencia por éste catión, tanto para la hidrólisis como para el bombeo de H^+ dependiente de PPi (10). Es muy probable que la transición entre las H^+ PPasas K^+ -dependientes y K^+ -independientes no sea tan simple como la sustitución de un aminoácido. Hasta el momento, falta información (como la identificación de los residuos que conforman el sitio para el K^+ , el conocimiento de nuevas secuencias, así como la comparación de las estructuras tridimensionales de las H^+ PPasas de ambos grupos), para determinar la razón del requerimiento de K^+ de las H^+ PPasas y su grado de divergencia.

Dentro del grupo de las H^+ PPasas K^+ -independientes destaca la H^+ PPasa de la bacteria *R. rubrum*, debido a que no sólo es capaz de hidrolizar al PPi (creando un gradiente de H^+), sino también puede sintetizarlo utilizando el gradiente electroquímico de H^+ producido por la cadena de transporte de electrones fotosintética (14). Por lo tanto, es hasta el momento la única enzima alterna de la H^+ ATP sintetasa en producir un enlace de alta energía acoplada al transporte de electrones.

Considerando el cambio de energía libre de hidrólisis del PPi y del ATP, así como los valores de ΔpH generados por la H^+ PPasa y la H^+ ATP sintetasa *in vitro*, se puede calcular que la H^+ PPasa de *R. rubrum*, con una estequiometría $H^+/PPi = 2$ (18), funcionaría en la dirección sintética a un ΔpH de 2.0; en contraste la H^+ PPasa vacuolar, con una estequiometría $H^+/PPi = 1$, funcionaría en el sentido hidrolítico a los valores de ΔpH (4.0) que se generan en los tonoplastos (19). Sin embargo, para determinar fisiológicamente la dirección de estas reacciones es necesario tomar en cuenta los valores de ΔpH a las concentraciones intracelulares de

sustratos y productos.

EL PAPEL FISIOLÓGICO DE LAS H^+ PPasas.

El papel fisiológico de estas enzimas en los tonoplastos y lisosomas de plantas es el de hidrolizar PPi de manera acoplada a la translocación electrogénica de H^+ hacia el interior del organelo. En el caso de las vacuolas, este gradiente puede ser utilizado para realizar el transporte secundario de sustratos como la sacarosa, o de iones tales como el Cl^- , NO_3^- , Na^+ y Ca^{2+} , así como para mantener la presión osmótica del organelo y la turgencia de la célula (9). En los lisosomas la translocación de H^+ favorece que el pH interior se mantenga lo suficientemente ácido para el funcionamiento de las enzimas hidrolíticas que ahí se encuentran. En los acidocalcisomas de los tripanosomátidos, la H^+ PPasa tiene un papel similar (9 y 15). Es importante mencionar que además de estas bombas de H^+ , en todos los organelos antes mencionados existen H^+ ATPasas, que también acidifican el interior del organelo.

En plantas se ha estudiado la regulación de la expresión y la actividad de estas enzimas en diferentes condiciones fisiológicas (9). En los tonoplastos de tejidos en crecimiento se ha encontrado que tanto la cantidad, como la actividad de la H^+ PPasa, son mayores que en los tejidos maduros, lo cual correlaciona con el aumento de la transcripción activa del gen. Así, en la mayoría de los tejidos jóvenes, la H^+ PPasa constituye la principal bomba de H^+ de las membranas vacuolares. A medida que se desarrolla el tejido, la concentración de la H^+ PPasa disminuye y la H^+ ATPasa vacuolar se convierte en la principal bomba de H^+ en los tejidos maduros (9).

Para que la planta pueda mantener su crecimiento, la H^+ PPasa vacuolar hidroliza el PPi del citosol (que proviene de la biosíntesis de ácidos

nucléicos, proteínas, celulosa y otras biomoléculas) utilizándolo como una fuente de energía para el transporte activo de H^+ hacia el interior de las vacuolas en expansión (Fig. 3). En las células maduras, la actividad metabólica disminuye y el PPi deja de producirse en grandes cantidades, la tasa de transporte de solutos al interior de la vacuola también desciende y la expansión de las vacuolas termina, lo que correlaciona con el hecho de que la actividad de H^+ PPasa es menor que la de la H^+ ATPasa vacuolar en los tejidos maduros.

Por otra parte, la concentración de la H^+ PPasa vacuolar es regulada bajo condiciones de estrés. Se ha reportado que en las plantas cultivadas en condiciones limitadas de nutrientes minerales (K^+ , NO_3^- y Ca^{2+}), la actividad de hidrólisis de PPi y el bombeo de H^+ dependiente de PPi, se incrementan tres veces comparado con plantas cultivadas en condiciones normales. Este cambio no correlaciona con un aumento en la cantidad de enzima, por lo que se ha sugerido que esta activación posiblemente esté modulada por Ca^{2+} o por citocinasas (9).

Cuando las plántulas de arroz se encuentran en anoxia, se ha observado un incremento de 75 veces en la actividad de la enzima después de 6 días de tratamiento y a medida que las células vuelven a oxigenarse, la H^+ PPasa vacuolar recupera sus niveles originales. Debido a que la actividad de la H^+ ATPasa vacuolar no se ve modificada, se ha propuesto que la H^+ PPasa pudiera estar remplazando a la ATPasa para mantener la acidez de la vacuola durante esta condición, donde la concentración de ATP disminuye y probablemente es utilizado para otras funciones celulares (9). Durante el estrés por frío, la actividad de H^+ PPasa se incrementa alrededor de 2 veces en hipocotilos de frijol mungo expuestos a bajas temperaturas (4°C), mientras que la actividad de la H^+ ATPasa vacuolar

permanece constante. Se piensa que este incremento se presenta porque ocurre un cambio de metabolismo respiratorio a fermentativo en los hipocotilos, ya que la generación de ATP se ve disminuida (9).

A pesar de que la primera H^+ PPasa fue descrita en una bacteria (*R. rubrum*), poco se sabe hasta el momento del papel fisiológico que desempeña dentro de la célula. Basándose en datos bioquímicos, se ha propuesto que la H^+ PPasa de bacterias fotosintéticas es la responsable de mantener el gradiente de H^+ a través de la membrana en condiciones de baja energía (como el crecimiento en intensidades luminosas bajas) para asegurar la sobrevivencia de la célula (20). En estas condiciones, la estimulación de la cadena de transporte de electrones fotosintética es insuficiente, por lo que el bombeo de H^+ disminuye y por ende la síntesis de ATP; así la H^+ PPasa actuaría de manera hidrolítica sobre el PPi , generando un gradiente electroquímico de protones que podría ser utilizado, entre otras cosas, para la síntesis de ATP.

Aunque esta última propuesta no ha sido comprobada experimentalmente, en nuestro laboratorio hemos obtenido resultados que sugieren cuál es el papel de la H^+ PPasa en las bacterias fotosintéticas (artículo en preparación). Utilizando una mutante de la bacteria fotosintética *R. rubrum* que carece de H^+ PPasa, observamos que en condiciones de alta energía (iluminación alta, 1.6 W/m^2), no había diferencia entre el crecimiento de la cepa silvestre y de la mutante sin H^+ PPasa. No obstante, a medida que disminuye la intensidad luminosa, la mutante presenta un retraso gradual en su crecimiento hasta detenerlo completamente a una intensidad luminosa de 0.2 W/m^2 , en la cual la cepa silvestre y la mutante complementada si son capaces de crecer.

Debido a que estas bacterias también son capaces de realizar un metabolismo respiratorio, otra condición de baja energía “transito-

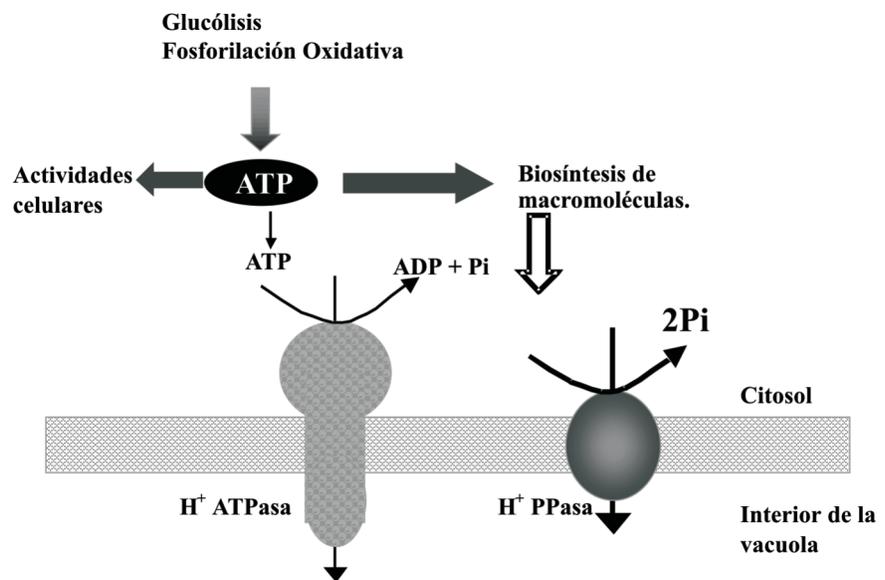


Figura 3. Papel de las H^+ PPasas en el crecimiento de los tejidos vegetales. En los tejidos en desarrollo, el ATP se utiliza principalmente para la biosíntesis de macromoléculas y para las funciones celulares, por lo que la hidrólisis del PPi es la fuente principal para la acidificación de las vacuolas. En tejidos maduros la producción de PPi intracelular disminuye (flecha sin relleno), concomitantemente con la cantidad y actividad de la H^+ PPasa.

ria”, en donde la H^+ PPasa de *R. rubrum* parece tener importancia, es en el cambio del metabolismo respiratorio al fotosintético. Hemos observado que la mutante sin H^+ PPasa presenta una fase de retardo de 40 horas para adaptarse al nuevo metabolismo, mientras que la cepa silvestre y la complementada sólo requieren de 9 horas.

Durante esta transición metabólica, la única forma de obtener energía es a partir de los compuestos de reserva y de la utilización del PPi para generar potencial. El papel fisiológico de la H^+ PPasa en los protistas parásitos aún está por ser determinado ya que sólo a finales de los noventa se inició la caracterización de esta enzima. Una característica común de estos organismos que presentan H^+ PPasa, es que están adaptados a diferentes clases de estrés en sus ambientes naturales, tales como limitación de nutrientes (el fosfato en plantas), fotosíntesis en intensidades luminosas bajas (como en el caso de las bacterias fotosintéticas púrpura) y en condiciones de estrés producidas

por las defensas del hospedero (que sería el caso de los protistas parásitos). En todas estas circunstancias los organismos tienen dificultades para obtener la energía necesaria para sobrevivir, por lo que han desarrollado (o bien retenido) la habilidad de generar un gradiente electroquímico de protones a partir de un abundante producto secundario del metabolismo como lo es el PPi . El hecho de que esta estrategia no se presente en otros organismos como los animales y los hongos plantea la posibilidad de usar esta enzima como blanco terapéutico.

PERSPECTIVAS EN EL ESTUDIO DE LAS PIROFOSFATASAS

El reciente descubrimiento de la nueva familia de PPasas citosólicas (familia II) ha provocado un mayor interés por el estudio de estas enzimas. El gran avance de la genómica que proporciona cada vez un mayor número de genomas secuenciados, permitirá la identificación de un número mayor de PPasas citosólicas de la familia II, lo que conducirá a un mejor entendimiento de la historia

evolutiva y de la convergencia funcional entre las PPasas citosólicas de ambas familias. En cuanto a las H⁺ PPasas, esta información ayudará a determinar la distribución de las H⁺ PPasas en los organismos, así como la caracterización de las PPasas asociadas a membrana de las cuales aún se sabe poco.

El hecho de que la H⁺ PPasa de *R. rubrum* es la única alternativa a la ATP sintetasa para la síntesis de moléculas de alta energía a expensas de un gradiente electroquímico de H⁺, hace muy interesante el estudio del mecanismo de reacción involucrado; sobretodo si se toma en cuenta que esta enzima es mucho más sencilla

estructuralmente hablando, así como lo son sus sustratos y productos. A partir de la clonación del gen de la H⁺ PPasa de *R. rubrum* en 1998 (el primero de una bacteria) (21) se ha comenzado a estudiar a fondo este mecanismo mediante la utilización de mutagénesis dirigida. Se han identificado algunos residuos interesantes como el glutámico 178, que se piensa forma parte de la vía que siguen los H⁺ dentro de la proteína, ya que la sustitución por alanina provoca una disminución de más del 95% en el bombeo de protones afectando la actividad de hidrólisis en menos del 50% (9).

Finalmente, debido a que hasta el

momento no se han encontrado H⁺ PPasas en el humano, es prometedor estudiar la posibilidad de utilizar a las H⁺ PPasas de protistas parásitos como posible blanco de acción de agentes terapéuticos en contra de enfermedades como la malaria y las tripanosomiasis que afectan a un gran número de personas, sobre todo en los países subdesarrollados.

AGRADECIMIENTOS.

Parcialmente apoyado por DGAPA-UNAM IN-216401. Agradecemos los comentarios y sugerencias de los Drs. Heliodoro Celis y Diego González.

REFERENCIAS

- Romero I y Celis H (1990) El pirofosfato y la pirofosfatasa "Una opción en la bioenergética". *Ciencia* 41: 297-305.
- Kornberg A (1957) Phyrophosphorylases and Phosphorylases in biosynthetic reactions. *Adv Enzimol* 18: 191-240.
- Sui P M L y Wood H G (1962) Phosphoenolpyruvate carboxytransphosphorylase, a CO₂ fixation enzyme from propionic acid bacteria. *J Biol Chem* 237: 3044-3051
- Chen J, Brevet A, Fromant M, Leveque F, Schmitter J M, Blanquet S y Plateau P (1990) Pyrophosphatase is essential for growth of *Escherichia coli*. *J Bacteriol* 172:5686-5689.
- Young T W, Kuhn N J, Wadeson A, Ward S, Burges D y Cooke GD (1998) *Bacillus subtilis* ORF yybe Q encodes a manganese dependent inorganic pyrophosphatase with distinctive properties: the first of a new class of soluble pyrophosphatase? *Microbiology* 144:2563-2571.
- Baykov A A, Cooperman B S, Goldman A y Lahti R. (1999) Cytoplasmic inorganic pyrophosphatase. *Prog Mol Subcell Biol.* 23:127-50.
- Celis H, Franco B, Escobedo S y Romero I. (2003) *Rhodobacter sphaeroides* has a family II pyrophosphatase: comparison with other species of photosynthetic bacteria. *Arch Microbiol* 179:368-76.
- Merckel M C, Fabrichniy I P, Salminen A, Kalkkinen N, Baykov A A, Lahti R y Goldman A (2001) Crystal structure of *Streptococcus mutans* pyrophosphatase: a new fold for an old mechanism. *Structure (Camb)* 9:289-297.
- Maeshima M (2000) Vacuolar H⁽⁺⁾-pyrophosphatase. *Biochim Biophys Acta* 1465:37-51.
- Belogurov G A y Lahti R (2002) A lysine substitute for K⁺. A460K mutation eliminates K⁺ dependence in H⁺-pyrophosphatase of *Carboxythermus hydrogenoformans*. *J Biol Chem* 277:49651-49654.
- Issarte J P, Favre-Bulle O, Lunardi J y Vignais P V (1987) Is pyrophosphate an analog of adenosine diphosphate for beef heart mitochondrial F₁-ATPase. *J Biol Chem* 262:13538-13544.
- Tuena de Gómez-Puyou M, García J J, y Gómez-Puyou, A (1993) Synthesis of pyrophosphate and ATP by soluble mitochondrial F₁. *Biochemistry* 32: 2213-2218.
- García J J, Gómez-Puyou, A, Maldonado, E y

- Tuena de Gómez-Puyou M (1997) Acceleration of unisite catalysis of mitochondrial F_1 -adenosinetriphosphatase by ATP, ADP and pyrophosphate. Hydrolysis and release of previously bound [32 P]ATP Eur J Biochem 249:622-629.
14. Baltscheffsky H, Von Stedingk L V, Heldt H W y Klingenberg M. (1966) Inorganic pyrophosphate: formation in bacterial photophosphorylation. Science 153:1120-1122.
 15. Scott D A, de Souza W, Benchimol M, Zhong L, Lu HG, Moreno SN y Docampo R (1998) Presence of a plant-like proton-pumping pyrophosphatase in acidocalcisomes of *Trypanosoma cruzi*. J Biol Chem 273:22151-22158.
 16. Pérez-Castiñeira J R, Alvar J, Ruiz-Pérez L M y Serrano A (2002) Evidence for a wide occurrence of proton-translocating pyrophosphatase genes in parasitic and free-living protozoa. Biochem Biophys Res Commun 294: 567-573.
 17. Sosa A y Celis H (1995) H^+ /PPi stoichiometry of membrane-bound pyrophosphatase of *Rhodospirillum rubrum*. Arch Biochem Biophys 316: 421-427.
 18. Heinonen J K (2001) Biological role of inorganic pyrophosphate. Kluwer Academic Publishers, USA, p 97.
 19. Miller A J, Leigh R A y Walker D (1996) Potassium homeostasis in vacuolate plant cells. Proc Natl Acad Sci 93: 10510-10514.
 20. Nyrén P y Strid A (1991) Hypothesis: the physiological role of the membrane-bound proton-translocating pyrophosphatase in some phototrophic bacteria. FEMS Microbiol Lett 77:265-270.
 21. Baltscheffsky M, Nadanaciva S y Schultz A (1998) A pyrophosphate synthase gene: molecular cloning and sequencing of the cDNA encoding the inorganic pyrophosphate synthase from *Rhodospirillum rubrum*. Biochim Biophys Acta 1364:301-306.

LOS METABOLITOS DE LAS PLANTAS Y LAS CÉLULAS CANCEROSAS I. LOS FLAVONOIDES*

Eva Soriano de Richards

RESUMEN

Estudios *in vitro e in vivo* con los flavonoides más abundantes en los productos vegetales (genisteína, daidzeína, luteolina, quercetina y apigenina) muestran que estos metabolitos tienen actividad estrogénica y antiestrogénica. Flavonas y flavonoles actúan por su unión a receptores estrogénicos tipo II, en tanto que los isoflavonoides podrían estar uniéndose a receptores tipo I. Asimismo, estos compuestos tienen un papel como antioxidantes, aunque también pueden actuar como pro-oxidantes sobretodo *in vitro*. En general se pueden considerar como metabolitos inhibidores de la proliferación de las células cancerosas, pero en algunos casos, el isoflavonoide genisteína estimula la proliferación de células cancerosas dependientes de estrógeno. Con las flavonas y flavonoles se han demostrado efectos anticancerígenos a dosis desde 25 hasta 800 mg/Kg.

PALABRAS CLAVE: Flavonoides, cáncer, receptores estrogénicos.

ABSTRACT

Recent findings with flavonoid compounds (genistein, daidzein, quercetin, luteolin, apigenin) provide a complex picture showing that these secondary plant metabolites act in an estrogenic or antiestrogenic manner, at different concentrations. Estrogen presence or absence also affect their activities. Isoflavonoids tend to bind to estrogen receptors type I, but flavones and flavonols are postulated to bind estrogen receptors type II. They all have a role as antioxidants, but pro-oxidant activity has been shown *in vitro* studies. However, they are considered generally capable of inhibiting tumor growth or metastasis. Genistein however, is not recommended for estrogen-dependant tumors. Anticancer activity has been reported at dose ranging from 25 up to 800 mg/Kg for flavones and flavonols.

KEY WORDS: Flavonoids, cancer, estrogenic receptors.

INTRODUCCIÓN

Los flavonoides, también conocidos como bioflavonoides, forman un grupo de alrededor de 3,000 compuestos fenólicos que tienen una estructura química similar. Estos metabolitos pueden encontrarse en todas las familias de plantas superiores y en casi todas las especies vegetales; es decir, que los flavonoides están presentes en todas las frutas, verduras y hierbas aromáticas. Por ejemplo, en los frutos cítricos los flavonoides llegan a representar hasta el 1% del peso seco; también se encuentran considerables cantidades en bebidas tales como el té, el café, el vino o la cerveza. Esto sugiere que el consumo diario de flavonoides en la dieta puede ser hasta de 1 g al día, principalmente

como quercetina (1). Es más, los constituyentes activos en numerosas plantas medicinales parecen ser los flavonoides; esto explica tal vez porqué las plantas que contienen estos compuestos son tan ampliamente usadas en todo el mundo, en la medicina herbolaria tradicional. En general, se acepta que los flavonoides tienden a mejorar la resistencia capilar e inhibir la inflamación, atrapan radicales libres e inhiben una variedad de enzimas como en seguida se menciona.

De una manera más amplia, se acepta que los compuestos fenólicos (flavonoides y no flavonoides) son capaces de inhibir las células cancerosas a través de múltiples mecanismos; por ejemplo, inhiben enzimas como la

cinasa de residuos de tirosina (PTK), la proteína cinasa C (PKC), la ciclooxigenasa y lipooxigenasa y otras que participan en las vías de la transducción de señales y que interfieren con la activación del factor de transcripción nuclear kappa B (NF-kB). Aunque muchos de los datos proceden de estudios *in vivo e in vitro*, aún hace falta estudiar la farmacocinética de estos metabolitos y su modo de acción, además de que algunos flavonoides han sido mejor caracterizados que otros.

La estructura de estos compuestos desde luego, tiene características semejantes, ya que derivan de un precursor común, la chalcona. La síntesis de estos compuestos dentro de una ruta del metabolismo secundario,

* Recibido: 24 de marzo 2003 Aceptado: 11 diciembre 2003

está interrelacionada en las células vegetales, como se muestra de manera general en la figura 1. Se sabe que los flavonoides cumplen diferentes funciones en las plantas, como antioxidantes, protectores de las radiaciones ultravioletas y como antibióticos contra microorganismos fitopatógenos, entre otras. En esta última función, los isoflavonoides que actúan como antibióticos, son una parte importante del sistema de defensa en las leguminosas, el cual se activa por la presencia de los microorganismos en los tejidos vegetales. Los productos finales del metabolismo secundario que originan la formación de los isoflavonoides (faseolina, faseolidina y kievitona) son los antibióticos más potentes y los isoflavonoides genisteína y daidzeína son metabolitos intermediarios dentro de la ruta de síntesis (Fig. 2)

CLASIFICACIÓN DE LOS FLAVONOIDES

De acuerdo con las características de su estructura y distribución, Boik (2) clasificó a los flavonoides en seis categorías:

Flavanonas

Las flavanonas se consideran flavonoides menores debido a que tienen una distribución natural limitada; se encuentran principalmente en los frutos cítricos. Dentro de este grupo se encuentra la tangeretina y la naringina.

Flavonas

Las flavonas tienen una distribución mucho más amplia que las flavanonas. Las flavonas primarias son pocas e incluyen a la luteolina y la apigenina. Estos compuestos pueden combinarse con varios azúcares y de diferentes maneras dando por resultado la formación de miles de diferentes glicósidos de flavonas.

Isoflavonas

Las isoflavonas o isoflavonoides se encuentran principalmente en las leguminosas tales como la soya o el frijol común. Las más comunes son la

RUTA DE SÍNTESIS DE LOS FLAVONOIDES

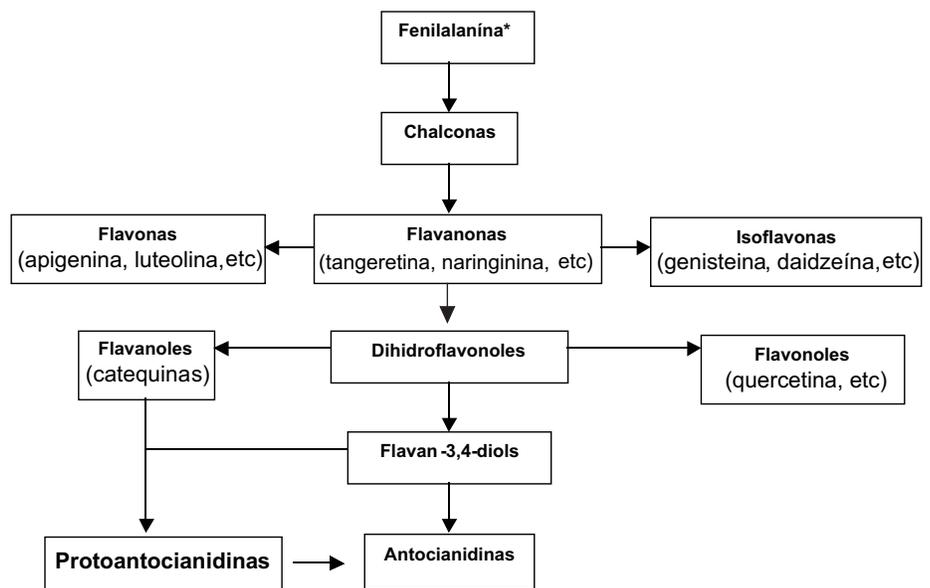


Figura 1.- Esquema resumido de la síntesis de los flavonoides, en donde se señalan los metabolitos que se han estudiado en relación a su papel en diferentes tipos de cáncer. Estos se originan de las flavononas por tres rutas diferentes señaladas por las flechas.

*La ruta fenilpropanoide entre fenilalanina y chalcona no se muestra (modificado de la referencia 2).

genisteína y la daidzeína. También se encuentran comúnmente como glicósidos de isoflavonas.

Flavonoles

También hay pocos flavonoles primarios, los cuales se encuentran como una gran variedad de glicósidos. Están presentes en la mayoría de las familias vegetales y los flavonoles primarios incluyen la quercetina y el kampferol.

Flavanoles

Los flavanoles (o flavan-3-oles) se consideran asimismo, flavonoides menores por su distribución natural limitada. Se encuentran en la cebolla, brócoli, manzanas, cerezas y moras, en el té y el vino tinto. Incluyen las catequinas tales como la epigallocatequina galato (EGCG).

Antocianidinas y Protoantocianidinas

Las antocianidinas son los pigmentos rojo-azules de las plantas, presentes principalmente como glicósidos; es decir, como antocianinas. Se encuentran altamente concentrados en los

frutos rojos y azules, como las moras. Las protoantocianidinas derivan su nombre del hecho de que producen antocianidinas bajo condiciones ácidas y altas temperaturas. Las protoantocianidinas a veces son denominadas por el término comercial de picnogenoles (usado por el investigador francés Jacques Masquelier), que significa: el que crea condensación. Se refiere a la tendencia de las protoantocianidinas a presentarse como dímeros.

EFFECTOS ESTROGÉNICOS Y ANTIESTROGÉNICOS DE LOS FLAVONOIDES

En varios tipos de cáncer, el estrógeno actúa como factor de crecimiento, especialmente en cánceres de mama. Por lo mismo, existe preocupación de que las isoflavonas, flavonas y flavonoles, las cuales tienen efectos estrogénicos, puedan estimular el crecimiento de aquellos cánceres. Lo sorprendente es que estos compuestos, pueden presentar también efectos antiestrogénicos y a su vez inhibir el crecimiento de esos tumores. De entre todos, la genisteína parecería la más

capaz de estimular el crecimiento del cáncer de mama, debido a su actividad estrogénica.

Basado en lo anterior, se ha propuesto que la genisteína probablemente produce efectos estrogénicos en mujeres postmenopáusicas y podría producirlos en mujeres premenopáusicas (2). Esta conclusión puede resultar sorprendente para los estudios de la epidemiología, ya que se ha reportado que el riesgo de desarrollar cáncer de mama o de útero se reduce entre 5 y 10% en mujeres que consumen soya de manera regular. Esto plantea dudas sobre el papel estrogénico que se le asigna a la genisteína.

Los flavonoides como apigenina, luteolina o quercetina (así como otros fitoestrógenos) es menos probable que estimulen la progresión de cánceres dependientes de estrógeno, dado que su efecto estrogénico es mucho menor que el de la genisteína; la actividad *in vitro* de luteolina, apigenina y quercetina es el 58, 16 y 10% respectivamente de la actividad de la genisteína (3), por lo que se consideran seguros sobretodo en una combinación de compuestos anticáncer. En realidad, un gran número de compuestos naturales pueden producir efectos estrogénicos y antiestrogénicos, además de los flavonoides. Tal es el caso de los estilbenos como el resveratrol y lignanos, conocidos en general como fitoestrógenos.

Hasta la fecha, se ha encontrado que los factores que determinan que respuesta producirá un fitoestrógeno son muy complejos, aunque se sabe que estos compuestos tiene una actividad estrogénica débil si se comparan con el estrógeno natural. También se conoce que los fitoestrógenos compiten por los receptores estrogénicos en el núcleo de las células blanco, además de que pueden estar en la sangre en concentraciones mucho más elevadas que el estrógeno.

Por lo tanto, cuando los niveles de estrógeno son bajos (como en las mujeres postmenopáusicas), los flavonoides tienen el potencial para producir efectos estrogénicos, como se ha reportado en un estudio con humanos en el que se usaron dosis

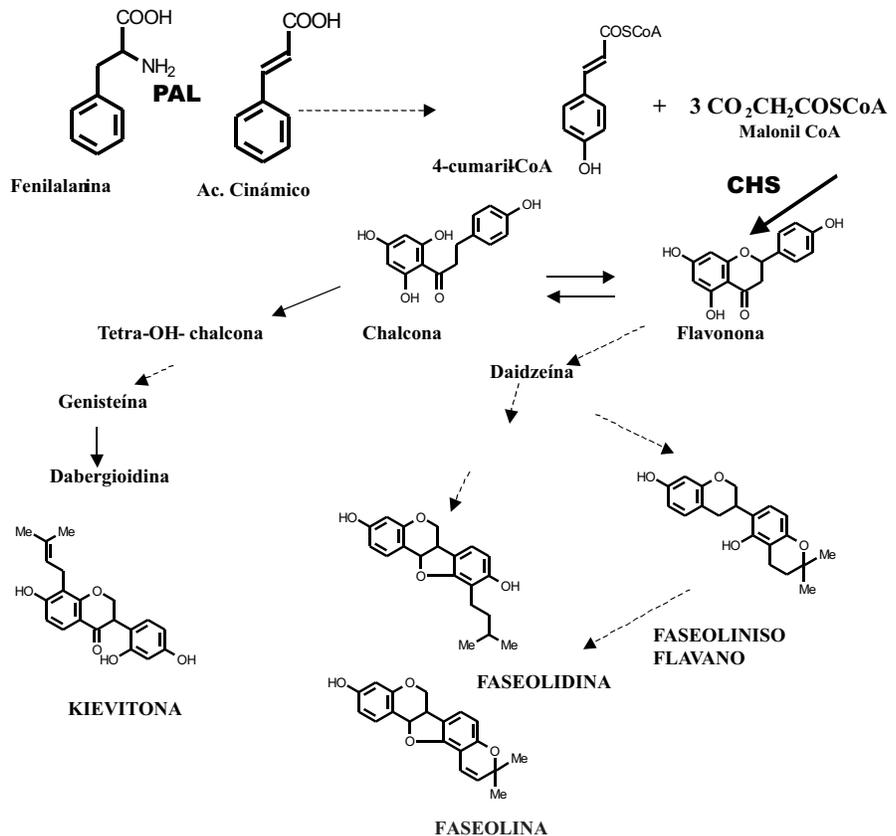


Figura 2.- Ruta biosintética de las fitoalexinas isoflavonoides de *Phaseolus vulgaris*. La síntesis se inicia con la desaminación de fenilalanina por la fenilalanina amonioliasa (PAL) para dar los precursores de la ruta fenilpropanoide. De ahí se forma la chalcona por acción de la chalconasintasa (CHS) a partir de la que se sintetizan las fitoalexinas isoflavonoides (en mayúsculas). PAL y CHS son enzimas reguladoras de la biosíntesis. Las isoflavonas genisteína y la daidzeína se ubican como metabolitos intermediarios, lo mismo que el resto de los metabolitos (en minúsculas). Las líneas punteadas se refieren a transformaciones que involucran varios pasos los cuales no se muestran.

moderadas de isoflavona (140 mg por día, de un concentrado de soya), durante el cual se notó un efecto estrogénico leve, pero significativo en mujeres postmenopáusicas (4). Asimismo, del resultado de otras investigaciones se ha notado que el consumo de soya a una dosis de 38 a 60 g por día, tiene un efecto estimulador en el tejido de mama de mujeres sanas premenopáusicas (5). Lo interesante es que estudios recientes dan evidencia de un papel protector del cáncer mamario a la genisteína (además de otros compuestos presentes en la soya), cuando ésta se consume temprano en la vida, más que cuando ya la juventud ha transcurrido (6).

EFFECTO EN LA PROLIFERACIÓN DE CÉLULAS CANCEROSAS DEPENDIENTES DE ESTRÓGENO.

A final de cuentas, lo que parece de mayor interés a los estudiosos del

tema, es el efecto de la genisteína cuando las células ya son cancerosas. Los trabajos con células cancerosas dependientes de estrógeno, muestran que la habilidad de la genisteína y otros flavonoides para estimular la proliferación de estas células, depende de la concentración del flavonoide y de la presencia o ausencia de estrógeno. Cuando el estrógeno no está presente, concentraciones bajas de genisteína (1 nM a 1 μM) pueden estimular *in vitro* la proliferación de células humanas de cáncer de mama dependientes de estrógeno. Sin embargo, a concentraciones altas de genisteína (10 a 100 μM) la proliferación se inhibe marcadamente. Incluso se ha reportado que genisteína (5 μM) de hecho contrarrestó *in vitro* el efecto estimulador del estrógeno en células cancerosas de mama (7). Este efecto bifásico también se ha visto en una línea de células cancerosas de pituitaria dependientes de estrógeno (8). También apigenina, luteolina y

enterolactona, en concentraciones menores de 10 μM fueron inhibitorias de esas células cancerosas. La presencia de estrógeno atenúa cualquier efecto estimulador de estos compuestos, como ocurre *in vivo*. Hay pocos estudios *in vivo*, para saber si bajo ciertas condiciones la genisteína y otros fitoestrógenos, estimulan la proliferación de las células de cáncer dependientes de estrógeno. Existe por ejemplo, un reporte que muestra una reducción del crecimiento de células humanas de cáncer de mama en ratón, con luteína (9), en tanto que la administración de dosis altas de soya (20% de la dieta) a ratones a los que se les transplantaron células humanas de cáncer de mama no detuvo el crecimiento del tumor, pero se redujo la proliferación de tumores metastásicos a los pulmones (10).

En contraste a lo anterior, otros estudios han encontrado que la genisteína promovió el crecimiento de cáncer de mama *in vivo* por la administración a ratas, via intraperitoneal de extractos de soya (90 mg/Kg) ya que estimuló el crecimiento y la metástasis del tumor (11). Cuando se administró genisteína a la misma dosis a ratones a los que se les habían removido los ovarios, se observó el mismo efecto.

Una recomendación prudente sería que la genisteína no debería ser administrada a pacientes con algún tipo de cáncer dependiente de estrógeno. La ingesta de soya y otros alimentos que contienen genisteína de manera normal, no debería plantear ningún problema, sobretodo si se consumen de manera ocasional (2).

RECEPTORES DE ESTRÓGENO TIPO II

Una de las razones por las cuales otros fitoestrógenos diferentes a genisteína son menos problemáticos, es que parecen inhibir el cáncer a través de medios adicionales, relacionados con el receptor de estrógeno. Los datos mencionados anteriormente para genisteína se refieren principalmente a su relación con lo que se conoce como receptor estrogénico clásico o Tipo I. Se ha reportado un segundo

receptor estrogénico o Tipo II, cuya existencia es aún controversial porque no se ha aislado su proteína. Los receptores Tipo II existen en mayor concentración en la superficie nuclear que los receptores Tipo I, pero tienen menor afinidad por el estrógeno. Además, no producen una respuesta típica estrogénica cuando son activados, sino que tienen funciones diferentes. Aunque los receptores Tipo II unen débilmente al estrógeno, están unidos con fuerza a un compuesto identificado como metil-p-hidroxifenil lactato (MeHPLA).

Datos de estudios *in vitro* indican que flavonas y flavonoles se unen a los receptores Tipo II ocasionando la inhibición de la proliferación de las células cancerosas. Aparentemente, los receptores Tipo II están sobreexpresados en algunos tipos de tumores humanos incluyendo los del páncreas, pulmones, ovarios, mama, linfático, próstata, piel, colón y riñón. Los flavonoides y sus metabolitos, mimetizan a MeHPLA y se unen a los receptores Tipo II compitiendo con el

estrógeno (12). La unión a estos receptores, tanto de MeHPLA como de los flavonoides inhibe la proliferación de las células cancerosas, mientras que la unión de estrógeno a los mismos, estimula la proliferación. Así por ejemplo, luteolina y quercetina se unen a receptores Tipo II; la primera se ha visto que inhibe la proliferación de células humanas de cáncer de mama con una IC_{50} de cerca de 42 μM en un estudio *in vitro*, en tanto que la segunda a 10 μM inhibió una amplia variedad de líneas celulares humanas cancerosas *in vitro* (13).

Además de unirse a receptores Tipo II, las flavonas también previenen la sobreexpresión de estearasa de MeHPLA en células cancerosas. Esta enzima degrada MeHPLA, por lo que disminuye su efecto inhibitorio del crecimiento. En el tejido uterino de rata, la luteolina administrada en el agua de beber (56 mg/Kg) por siete días, bloqueó la estearasa MeHPLA estimulada por estrógeno (14); la dosis equivalente en humanos sería de 540 mg por día.

TABLA I

Actividad antioxidante de diferentes compuestos flavonoides

| Compuesto | *Actividad en relación a vitamina C |
|-------------------|-------------------------------------|
| Proantocianidinas | + 5.0 |
| Quercetina | 4.7 |
| Cianidina | 4.4 |
| Epicatequina | 2.5 |
| Catequina | 2.0 |
| Resveratrol | 1.5 |
| Apigénina | 1.3 |
| Acido caféico | 1.0 |
| Genisteína | 1.0 |
| Vitamina C | 1.0 |
| Vitamina E | 1.0 |
| Glutathion | 0.9 |

Mediciones de actividad antioxidante in vitro de varios compuestos flavonoides. Los datos se basan en valores relativos de Vitamina C tomada como actividad equivalente de Trolox en fase acuosa (TEAC). (modificado de la referencia 2).

Las flavonas y flavonoles apigenina, luteolina y quercetina pueden inhibir el cáncer *in vivo* a través de uno o ambos de los mecanismos citados.

EFFECTOS ANTITUMORALES DE FLAVONAS, FLAVONOLES E ISOFLAVONAS *in vivo*

A la fecha se han reportado pocos estudios sobre el efecto de las flavonas apigenina y luteolina o del flavonol quercetina en la proliferación de células cancerosas en animales. Tal es el caso de cuando se administró quercetina en forma peritoneal a ratas a las que se les transplantaron células de carcinoma escamoso de cabeza y cuello humanos (dosis de 800 mg/Kg), que aumentó moderadamente la inhibición del tumor en relación a la dosis de 20 mg/Kg; en otro estudio en ratones, la quercetina a las concentraciones de 25 y 50 mg/Kg inhibió el crecimiento y la metástasis de células transplantadas de melanoma humano (15). Asimismo, en ratones inyectados con células de linfocitosis ascítica, la administración intraperitoneal de 20-80 mg/Kg de quercetina no aumentó el tiempo de vida ni inhibió la metástasis.

Como los estudios epidemiológicos indican una baja incidencia de diferentes cánceres en la población china y japonesa en donde el consumo de soya es alto, se piensa que aquellos compuestos pueden ser la clave. Además de lo que ya se mencionó en relación a su efecto estrogénico, también se ha reportado una baja mortalidad por cáncer de próstata en hombres japoneses (16). El 70% de los trabajos realizados con animales reportan, que la administración de soya en la dieta produjo un efecto preventivo del cáncer, básicamente en la latencia en general; por lo mismo, se ha sugerido que la soya retarda la aparición del crecimiento de tumores nuevos, aunque no hay que descartar que otros componentes de la soya hayan sido los responsables. Así, se puede citar que la administración subcutánea o intraperitoneal de genisteína en ratas con trasplante de cáncer de próstata inhibió el creci-

miento, metástasis y/o la angiogénesis del tumor, además del número de macrófagos asociados al tumor (17). Se ha calculado que la administración oral de 1.2 g/Kg de concentrado de soya proporciona aproximadamente 200 mg/Kg de isoflavonas (la mitad genisteína y la otra mitad daidzeína). También se ha reportado que la administración intraperitoneal de daidzeína a una dosis de 25 a 50 mg/Kg es efectiva ya que reduce el volumen de tumores hasta en un 50% en ratones e induce la diferenciación de células de leucemia *in vitro* (18). Sin embargo, también hay reportes en los cuales la genisteína no ha sido efectiva como en el que describe que en las ratas a las que se les administró en el agua de beber (0.07 a 0.285 mg/Kg) no hubo inhibición del crecimiento de células de próstata humanas transplantadas (19).

LOS FENÓLES COMO OXIDANTES Y PRO-OXIDANTES

Todos los compuestos fenólicos, incluidos isoflavonas, flavonas y flavonoles, pueden actuar como antioxidantes debido a la capacidad donadora de hidrógeno de su grupo fenol y en algunos casos, a su potencial quelante de metales; esta última propiedad les permite bloquear la generación de radicales libres incluidos por cobre o hierro. La Tabla I enlista diferentes compuestos fenólicos y otros antioxidantes, haciendo una comparación con la vitamina C en cuanto a su habilidad para secuestrar radicales libres acuosos *in vitro* y muestra que aquellos son más activos que las vitaminas C o E.

Hay que hacer notar sin embargo, que algunos compuestos fenólicos que actúan como antioxidantes, también pueden actuar como pro-oxidantes bajo ciertas circunstancias. Por ejemplo, en ciertas condiciones la quercetina se autooxida y este efecto puede ser causa de mutaciones génicas *in vitro*. Sin embargo, a dosis moderadas *in vivo*, es probable que la quercetina y otros flavonoides produzcan un efecto antioxidante,

más que pro-oxidante, principalmente porque estos compuestos en el plasma aparecen en su forma conjugada, que es menos reactiva. De hecho, un estudio reciente en hombres con prostatitis crónica, sugiere que aun una dosis alta de quercetina produce un efecto antioxidante *in vivo* (20).

Por otra parte, se ha visto que flavonoles como la quercetina, flavonas como la luteolina y la apigenina e isoflavonas como la daidzeína y la genisteína producen efectos citotóxicos *in vitro*, en concentraciones de 1 a 100 μ M, aunque la ID_{50} está a menudo entre 30 y 50 μ M. Los mecanismos por los cuales producen la muerte celular posiblemente varía de una línea celular a otra (2).

EFFECTOS CARCINOGENICOS POTENCIALES DE LOS FLAVONOIDES

La capacidad de los flavonoides de actuar como pro-oxidantes, ha sido causa de preocupación en cuanto a su potencial para inducir cáncer, especialmente la quercetina que tiene un potencial redox alto. Este compuesto *in vitro* produce los efectos mutagénicos más importantes especialmente si se usa en combinación con un agente cancerígeno. Tal es el caso con 3-metilcolantreno en ratones y azoximetano en ratas (21). Sin embargo, en el primer caso la quercetina se inyectó subcutáneamente con el carcinógeno y los resultados tienen poca relevancia para la administración oral. En el segundo, al administrarse en ratas la quercetina por vía oral a una dosis de 1.3 g/Kg en combinación con el agente cancerígeno, disminuyó el desarrollo de cáncer de mama, pero aumentó el cáncer de colón; puede asumirse que la alta concentración de la aglicona en los intestinos junto con el cancerígeno, causó un efecto pro-oxidante local que llevó al desarrollo del tumor.

Cuando la quercetina ha sido usada sola en los estudios de animales, los resultados sugieren que no es cancerígena en sí, como en el caso de ratas o cobayos alimentados hasta por 2 años en dietas que contenían 5-10% de este

flavonoide. Existen dos razones para la falta de actividad carcinogénica de quercetina; la primera como ya se mencionó, es que el compuesto en el plasma se encuentra en forma conjugada y estos conjugados son menos reactivos que la forma libre. La segunda es, que aunque las dosis usadas son relativamente altas, lo equivalente en humanos de 24 a 120 g por día, es poco probable que éstas sean completamente absorbidas o metabolizadas como ocurre con las dosis bajas. En algunos casos, las dosis altas son metiladas en varias posiciones del anillo fenólico, lo que restringe su habilidad de llevar a cabo reacciones redox. Es decir, el organismo tiene mecanismos que previenen

efectos pro-oxidantes sistémicos causados por altas dosis de flavonoides administrados oralmente.

CONCLUSIONES

Las investigaciones sobre los flavonoides, los cuales son un amplio grupo de metabolitos secundarios de la plantas, proponen que al ser ingeridos dentro de la dieta tienen efectos positivos asociados a la protección contra el crecimiento de células cancerosas no dependientes de estrógeno, como se ha encontrado en la disminución de 5 y 10% en el riesgo de desarrollar cáncer de útero y mama, respectivamente. Aunque estos compuestos se encuentran ampliamente distribuidos, son principalmen-

te las flavonas, flavonoles e isoflavonoides sobre los que hay más estudios por su posible papel protector, sobretodo preventivo. El caso más notorio es el de la ingestión de soya, una leguminosa rica en los isoflavonoides genisteína y daidzeína; ambos compuestos sin embargo, tienen también cierta actividad estrogénica que puede resultar adversa cuando hay células de cánceres dependientes de estrógeno como es el cáncer de mama. En general, por el momento se debe considerar la administración de plantas o sus extractos, más que la de los metabolitos aislados, para continuar las investigaciones en estas líneas.

REFERENCIAS

1. Kuhnau J (1976) The flavonoids. A class of semi-essential food components: Their role in human nutrition. *World Rev Nutr Diet* 24:117-197.
2. Boik, J (2001) Flavonoids. En: *Natural Compounds in Cancer Therapy*. Editor Farnell S. Ompress, USA, pp 251-273.
3. Zand R S, Jenkins D J y Diamandis E P (2000) Steroid hormone activity of flavonoids and related compounds. *Breast Cancer Res Treat* 62: 35-49.
4. Duncan A M, Underhill K E y Xu X (1999) Modest hormonal effects of soy isoflavones in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 84: 3479-3484.
5. Duncan A M, Merz B E y Xu X (1999) Soy isoflavones exert modest hormonal effects in premenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 84: 192-197.
6. Lamartiniere C A, Zhang J X y Cotroneo M S (1998) Genistein studies in rats: Potential for breast cancer prevention and reproductive and developmental toxicity. *Am J Clin Nutr* 68: 1400S-1405S.
7. Fioravanti L, Capelletini V y Miodini P (1998) Genistein in the control of breast cancer cell growth: Insights into the mechanisms of action. *Cancer Lett* 130: 143-152.
8. Stahl S, Chun T Y Gray W G (1998) Phytoestrogens act as estrogen agonists in an estrogen-responsive pituitary cell line. *Toxicol Appl Pharmacol* 152: 41-48.
9. Markaverich B M y Gregory R R (1993) Preliminary assessment of luteolin as an affinity ligand for type II estrogen-binding sites in rat uterine nuclear extracts. *Steroids* 58: 268-274.
10. Lui X H, Upadhyaya P y El-Bayoumy K (1996) The effect of dietary soy on human breast cancer metastasis in nude mice. *Adv Exp Biol Med* 401: 283-284
11. Charland S L, Hui J W y Torosian M H (1998) The effects of a soybean extract on tumor growth and metastasis. *Int J Mol Med* 2: 225-228.
12. Piantelli M, Rinelli A, Macri E y Maggiano N (1993) Type II estrogen binding sites and antiproliferative activity of quercetin in human meningiomas. *Cancer* 71: 193-8.
13. Larocca L M, Giustacchini M, Maggiano y Ranelletti FO (1994) Growth-inhibitory effect of quercetin and presence of type II estrogen binding sites in primary human transitional cell carcinomas. *J Urol* 152: 1029-1033.
14. Markaverich B M, Roberts R R, Alejandro MA (1988) Bioflavonoid interaction with rat

- uterine type II binding sites and cell growth inhibition. *J Steroid Biochem* 3: 71-78.
15. Menon L G, Kuttan R, Nair M G (1998) Effect of isoflavones genistein and daidzein in the inhibition of lung metastasis in mice induced by B16F-10 melanoma cells. *Nutr Cancer* 30: 74-77.
 16. Adlercreutz H, Markkanen H y Watanabe S (1993) Plasma concentrations of phytoestrogens in Japanese men. *Lancet* 342: 1209-1210.
 17. Joseph I B, Isaacs J T (1998) Macrophage role in the antiprostata cancer response to one class of antiangiogenic agents. *J Natl Cancer Inst* 90: 1648-1653.
 18. Jing Y, Nakaya K y Han R (1993) Differentiation of promyelocytic leucemia cells HL-60 induced by daidzen *in vitro and in vivo*. *Anticancer Res* 13: 1049-1054.
 19. Santell R C, Kiev N y Helferich W G (2000) Genistein inhibits growth of estrogen-independent human cell cancer cells in culture but not in athymic mice. *J Nutr* 130: 1665-1669.
 20. Shoskes D A, Zeitlin S I, Shahed A y Rajfer J (1999) Quercetin in men with category III chronic prostatitis: A preliminar prospective, double-blind, placebo-controlled trial. *Urology* 54: 960-963
 21. Ishikawa M, Oikawa T, Hosokawa M, Hamada J (1985) Enhancing effect of quercetin on 3-methylcholanthrene carcinogenesis in C57B1/6 mice. *Neoplasma* 32: 435-441

METABOLISMO DE LAS LIPOPROTEÍNAS Y EL RECEPTOR DE LA LIPOPROTEÍNA DE BAJA DENSIDAD (LDL-R)*

Alejandra Huerta-Zepeda y Socorro Durán-Vargas.

RESUMEN

El colesterol es componente estructural de la membrana celular y precursor de las hormonas esteroides, los ácidos biliares y la vitamina D. El colesterol es transportado en el plasma sanguíneo desde un tejido a otro a través de lipoproteínas que se clasifican de acuerdo a su densidad y a su contenido de lípidos y proteínas. La lipoproteína de baja densidad (LDL, por sus siglas en inglés) es la que presenta mayor contenido de colesterol y por lo tanto responsable de su transporte. La LDL se remueve de circulación a través de su receptor (LDL-R); una glicoproteína transmembranal de 839 aminoácidos. El gen *ldlr* se encuentra constituido por el promotor y 18 exones; mutaciones en este gen resultan en hipercolesterolemia familiar (HF), la cual es una enfermedad autosómica dominante. Clínicamente, la HF se caracteriza por concentraciones elevadas de colesterol total y de colesterol LDL, xantomas tendinosos, arco corneal y desarrollo prematuro de aterosclerosis coronaria.

PALABRAS CLAVE: Colesterol, lipoproteínas, dislipidemias, hipercolesterolemia familiar, receptor de LDL.

ABSTRACT

Cholesterol is a fundamental part of the cell membrane and it is precursor of the steroid hormones, bile acids, and vitamin D. Cholesterol is carried in the blood plasma from one tissue to another as lipoproteins; several lipoproteins have been described which vary on their density and content of lipids and proteins. The low density lipoprotein (LDL) is responsible for cholesterol transport because this is the one that presents the higher cholesterol content. LDL is removed from circulation by its receptor (LDL-R). LDL-R is a transmembranal glycoprotein of 839 amino acids. The *ldlr* gene comprises the promoter region and 18 exons; mutations in it results in Familial Hypercholesterolemia (FH) which is an autosomic dominant inherited disease. It is characterized clinically by increased plasma LDL cholesterol levels, tendon xanthomas, arcus corneae and development of premature coronary atherosclerosis.

KEY WORDS: Cholesterol, lipoproteins, dyslipidemias, familial hypercholesterolemia, LDL receptor.

INTRODUCCIÓN

Uno de los lípidos más importantes en el organismo es el colesterol, es componente estructural de la membrana celular animal, es precursor de la síntesis de las hormonas esteroides (mineralocorticoides y glucocorticoides) y hormonas sexuales (andrógenos y estrógenos); así como de la vitamina D y los ácidos biliares (1).

Aproximadamente la mitad del colesterol del organismo proviene de la alimentación y el resto se origina de su síntesis (cerca de 500 mg/día); la mayor parte de la síntesis se lleva en el hígado y aproximadamente el 30% en diferentes células como son: las del intestino y las del tejido muscular. Todos los tejidos que contienen células nucleadas son capaces de

sintetizar colesterol, siendo los responsables de su síntesis el retículo endoplásmico y el citosol. La síntesis del colesterol es un proceso complejo, el cual puede dividirse en tres fases: a) la condensación de tres moléculas de acetato a mevalonato b) la síntesis de escualeno por condensaciones sucesivas de unidades de isopreno activado y c) ciclación y transforma-

* Recibido: 25 de agosto del 2003 Aceptado: 13 de diciembre del 2003

ción del escualeno a lanosterol y finalmente a colesterol. Una parte del colesterol es incorporado a la membrana de los hepatocitos, pero la gran mayoría es exportado en forma de colesterol biliar, ácidos biliares o ésteres de colesterol. Los ácidos biliares actúan como detergentes biológicos en el intestino, emulsionando las grasas de la dieta para hacerlas más accesibles a las lipasas digestivas. Los ésteres del colesterol son formados en el hígado a través de la acción de la acil Coenzima A: colesterol acilo transferasa. Esta enzima cataliza la transferencia de los ácidos grasos de la acil Coenzima A al grupo hidroxilo del colesterol, convirtiendo el colesterol a una forma más hidrofóbica (2).

A pesar de que el colesterol juega un papel vital en el metabolismo celular, también puede llegar a ser dañino ya que puede ser capturado por macrófagos de las paredes arteriales y así dar lugar a las células espumosas y éstas a su vez a la formación y crecimiento de placas ateroscleróticas. El objetivo de esta revisión es describir el papel de las lipoproteínas en el transporte del colesterol y la participación del receptor de la lipoproteína de baja densidad (LDL-R) en la homeostasis del colesterol.

LIPOPROTEÍNAS Y LÍPIDOS

El colesterol y los ésteres de colesterol, al igual que los triacilglicerol y fosfolípidos, deben transportarse del tejido de origen (hígado) al tejido donde serán almacenados o consumidos (suprarrenales u otros órganos) circulando a través del plasma sanguíneo. Estos lípidos se asocian con proteínas transportadoras específicas conocidas como apolipoproteínas (apo) dando lugar a las lipoproteínas plasmáticas.

Las lipoproteínas tienen un núcleo lipídico no polar de ésteres de coleste-

TABLA I
PRINCIPALES CARACTERÍSTICAS DE LAS LIPOPROTEÍNAS

| Lipoproteína | Densidad (g/ml) | Diámetro (nm) | Principales lípidos | Apoproteínas (apo) | Composición (% de peso) | | | | |
|--------------|-----------------|---------------|---------------------|------------------------------------|-------------------------|----|---|----|-----|
| | | | | | P | PL | C | CE | TAG |
| Qm | <0.95 | 80-1000 | TAG exógeno | AI, AII, AIV B48, CI, CII, CIII, E | 2 | 7 | 2 | 3 | 86 |
| VLDL | <1.006 | 30-80 | TAG endógeno | B100, CI, CII, CIII, E | 8 | 18 | 7 | 12 | 55 |
| HDL | 1.063-1.210 | 9-15 | CE y PL | AI, AII, AIV, CI, CII, CIII, E | 55 | 25 | 4 | 13 | 3 |

Qm: quilomicrones; VLDL: lipoproteína de muy baja densidad; LDL: lipoproteína de baja densidad; HDL: lipoproteína de alta densidad; C: colesterol; CE: ésteres de colesterol; P: proteína; PL, Fosfolípidos; TAG, Triacilglicerol.

rol y triacilglicerol, cubierto por una monocapa superficial hidrofílica que contiene colesterol libre, fosfolípidos y apolipoproteínas (1). Las lipoproteínas se diferencian entre sí con base en su tamaño, densidad, contenido de lípidos, movilidad electroforética, tipo de apolipoproteínas y función (Tabla I) (3).

Las lipoproteínas se han clasificado en función de su densidad: 1) quilomicrones (Qm), son las de mayor tamaño y las de menor densidad, se sintetizan en el intestino y transportan principalmente triacilglicerol. 2) lipoproteína de muy baja densidad (VLDL, por sus siglas en inglés), se sintetiza en el hígado y transporta triacilglicerol y colesterol de origen endógeno y en menor proporción de origen exógeno. 3) lipoproteína de densidad intermedia (IDL, por sus siglas en inglés), también llamada remanente de VLDL, contiene cantidades considerables tanto de triacilglicerol como de ésteres de colesterol. 4) lipoproteína de baja densidad (LDL, por sus siglas en inglés), se sintetiza en circulación a partir de las IDL, y es la responsable de transportar el colesterol al tejido periférico. 5) lipoproteína de alta densidad (HDL, por sus siglas en inglés), son las lipoproteínas más

pequeñas y a su vez las más densas, contienen fosfatidilcolina, y ésteres de colesterol; es la lipoproteína encargada del transporte reverso del colesterol y se subdivide en dos clases HDL₂ y HDL₃. 6) lipoproteína (a) o Lp(a) tiene una estructura similar a la LDL, su apoB-100 se encuentra unida por puentes disulfuro a una o dos moléculas de Lp(a). Concentraciones elevadas de Lp(a) son asociadas con un aumento de riesgo en la enfermedad de las coronarias. Hasta la fecha no se ha podido establecer con precisión el papel que juega la Lp(a) en la aterosclerosis, ya que es una molécula protrombótica, con similitud al plasminógeno que interviene en el sistema de la fibrinólisis (4).

Metabolismo de las lipoproteínas

El metabolismo de las lipoproteínas esta constituido por la vía exógena y la endógena. La primera empieza en el intestino y acaba en el hígado, mientras que la segunda empieza en el hígado, recorre los tejidos periféricos y regresa de nuevo a dicho órgano (4).

Metabolismo de los quilomicrones: vía exógena

Las grasas de la dieta son hidrolizadas y emulsificadas en el intestino, mediante la acción de las enzimas

pancreáticas y sales biliares, liberando colesterol y ácidos grasos que son absorbidos hacia el interior del enterocito. El colesterol y los ácidos grasos se reesterifican para formar ésteres de colesterol y triacilglicérol, los cuales son secretados hacia la vía linfática en Qm nacientes. Los Qm son ricos en triacilglicérol con un centro de ésteres de colesterol y con una superficie de colesterol no esterificado, fosfolípidos, apoB48, apoA1, apoAII y apoAIV.

En la circulación, los Qm interactúan con la HDL y adquieren apoCII, apoCIII y apoE. En los capilares de los tejidos periféricos, tejido adiposo y músculo, se lleva a cabo la hidrólisis de los triacilglicérols a ácidos grasos y glicerol por la acción de la lipasa lipoprotéica del endotelio vascular, esta enzima es activada por la apoCII; dando lugar a los remanentes de Qm los cuales contienen principalmente colesterol esterificado, apoE y muy poco triacilglicérol. Los triacilglicérols, colesterol y fosfolípidos son cedidos a la HDL mediante la acción de la proteína de transferencia de ésteres de colesterol (CETP). Las VLDL reemplazan a los Qm como el principal transportador de los triacilglicérols y el hígado continúa con el metabolismo de las lipoproteínas (4).

Metabolismo de las VLDL y LDL: vía endógena

Las VLDL son sintetizadas por el hígado a partir de triacilglicérols obtenidos de otras lipoproteínas o de la síntesis *de novo* a partir de ácidos grasos y glicerol. Las VLDL al igual que los Qm, están constituidas en su mayor parte por triacilglicérols y en menor cantidad por fosfolípidos, ésteres de colesterol, colesterol y por sus principales apolipoproteínas apoB-100, apoE, y apoCII (Tabla II).

Las VLDL permanecen en circulación y la mayor parte de los triacilglicérols son hidrolizados en ácidos grasos que serán utilizados por músculo y tejido adiposo. Las VLDL sufren cambios conformacionales,

TABLA II
FUNCIONES DE LAS APOPROTEÍNAS

| Apoproteína (apo) | Localización | Función |
|-------------------|----------------|---|
| AI | Qm, HDL | Proteína estructural de HDL, cofactor de LCAT. |
| AII | Qm, HDL | Proteína estructural de HDL, inhibidor de LH y de la LCAT. |
| AIV | Qm, HDL | Activador de LCAT y modulador de LPL. |
| (a) | Lp(a) | Interfiere en la fibrinólisis, estructura similar al plasminógeno sin actividad proteolítica. |
| B-48 | Qm | Proteína estructural y secreción. |
| B-100 | VLDL, IDL, LDL | Proteína estructural, Ligando para el receptor LDL. |
| CI | Qm, VLDL, HDL | Activador de LCAT |
| CII | Qm, VLDL, HDL | Cofactor de LPL |
| CIII | Qm, VLDL, HDL | Inhibidor de LPL |
| E | Qm, VLDL, HDL | Ligando para receptor hepático. E ₄ involucrada en la enfermedad de Alzheimer |

Qm: quilomicrones; VLDL: lipoproteína de muy baja densidad; IDL: lipoproteína de densidad intermedia; LDL lipoproteína de baja densidad; HDL: lipoproteína de alta densidad; Lp(a): lipoproteína a; LCAT: lecitina colesterol acilo transferasa; LH: lipasa hepática; LPL: lipasa lipoprotéica.

ceden colesterol, fosfolípidos y apolipoproteínas a las HDL recibiendo a cambio ésteres de colesterol y dando lugar a los remanentes de VLDL, lipoproteínas más pequeñas y densas. El centro de la VLDL es rico en triacilglicérols, los cuales son removidos por la enzima lipasa lipoprotéica en los capilares de los músculos y del tejido adiposo. El resultado de dicha remoción da lugar a las IDL, las cuales representan al intermediario entre la VLDL y la LDL.

La mayoría de las IDL se eliminan de la circulación a través del receptor de la LDL hepático. La afinidad de la IDL por el receptor es muy alta por lo que la vida media de la lipoproteína en plasma es muy corta, incluso de pocos minutos, haciéndola casi indetectable. Una fracción de las IDL escapa de éste proceso hepático, pierden triacilglicérols y apolipoproteínas transforman-

dose en LDL; la enzima responsable de dicho proceso es la lipasa lipoprotéica.

Las LDL poseen una menor cantidad de triacilglicérols en su núcleo y son ricas en colesterol y ésteres de colesterol en su superficie; también contiene fosfolípidos y apoB-100. Las LDL se unen a un receptor, que se expresa en el hígado y reconoce la región de la apoB-100, este receptor es conocido como el receptor de LDL (LDL-R). Las LDL en la circulación tienen una vida media de cerca de tres días antes de que sea removida por su receptor, cuando estos receptores están saturados, una vía alterna como es el receptor basurero, "SR-B1, Scavenger Receptor-class B type I", se convierte en la principal vía de excreción del colesterol. El intercambio entre los lípidos y las lipoproteínas

que se encuentran en la circulación es facilitada por las enzimas plasmáticas como la lecitina colesterol acilo transferasa y la proteína de transferencia de ésteres de colesterol (Tabla III). Ambas participan en el proceso de transporte reverso del colesterol, de la circulación al hígado, donde los esteroides son excretados.

La única apolipoproteína componente de las LDL es la apoB-100, codificada por el gen que se localiza en el brazo corto del cromosoma 2 y consiste de 29 exones y 28 intrones. La secuencia más larga que codifica es el exón 26, que es también el exón más largo detectado dentro del genoma humano. Más de la mitad de la apoB-100 es codificada por este exón. Mutaciones localizadas en el gen de la apoB-100 altera la actividad funcional de la proteína y disminuye su unión al LDL-R, provocando la acumulación de las LDL en la circulación. El sitio de unión de la apoB-100 al receptor se encuentra en el exón 26, solo se han reportado cinco mutaciones en el gen de la apoB-100: R3480W, T3492I, R3500Q, R3500W y R3531C, en una publicación reciente se han detectado nuevas mutaciones como es la delección 4432 T que altera el marco de lectura que produce un codón de termino, lo que origina una proteína inmadura y un sitio de corte y empalme 210+1G_C (5,6,7,8).

Metabolismo de las HDL: metabolismo y regulación del contenido del colesterol.

Las HDL son secretadas por el hígado e intestino delgado, su forma inicial de las HDL son como HDL₃ o nacientes, las cuales son discoidales y consisten principalmente en fosfolípidos y apoAI, apoAII y apoAIV. Estas lipoproteínas son las encargadas de transportar el colesterol no esterificado de los tejidos periféricos, almacenándolo en el centro de la lipoproteína y transformándola en una lipoproteína esférica, la HDL₂ o madura. El colesterol no esterificado de las HDL es esterificado por la lecitina coleste-

TABLA III

FUNCIÓN DE LAS ENZIMAS Y PROTEÍNAS DE TRANSFERENCIA QUE INTERVIENEN EN EL METABOLISMO DE LAS LITOPROTEÍNAS

| Enzima | Función |
|---|--|
| Lipasa lipoprotéica (LPL) | Forma parte de una familia de proteínas que incluye la lipasa hepática (HL), la lipasa pancreática (PNLP). La síntesis de la LPL ocurre en las células parenquimales, principalmente en el tejido adiposo y el músculo esquelético de donde es secretado y transportado al endotelio vascular. Interviene principalmente en la hidrólisis de los triacilgliceroles, de los Qm y de las VLDL. |
| Lipasa hepática (LH) | Actúa en la superficie endotelial del tejido hepático para regular los niveles de los lípidos plasmáticos. Participa en la lipólisis de las LDL e IDL y en la hidrólisis de fosfolípidos y triacilgliceroles. |
| Lipasa pancreática (PNLP) | Es secretada por el páncreas. Digiere las grasas transformándolas en ácidos grasos y monoacilgliceroles. Requiere de ácidos biliares. |
| Lecitina colesterol acilo transferasa (LCAT) | Es una enzima que es secretada del hígado hacia el plasma, para ser transportada y unida a las HDL. Cataliza la transesterificación del colesterol en el plasma con fosfatidilcolina. La acción de LCAT sobre las HDL ₃ discoidales da lugar a las HDL ₂ esféricas. |
| Acil coenzima A: colesterol acilo transferencia (ACAT) | Es una enzima intracelular que transfiere un ácido graso activando con Coenzima A al grupo hidroxilo del colesterol, convirtiendo al colesterol en una forma más hidrofóbica. |
| Proteína transferidora de lípidos del plasma (LTP) | Forma parte de una familia de enzimas que incluye a CETP y PLTP. |
| Proteína de transferencia de ésteres de colesterol (CETP) | Es una proteína plasmática que se sintetiza en hígado, tejido adiposo, bazo, intestino, músculo y glándulas suprarrenales. Facilita la transferencia de ésteres de colesterol y triacilgliceroles de las HDL a las VLDL, IDL, LDL y Lp(a). |
| Proteína de transferencia de fosfolípidos (PLTP) | Es una glicoproteína plasmática que transfiere fosfatidilcolina a las VLDL y fosfolípidos a las HDL y remueve el exceso de los remanentes de los quilomicrones. |
| Proteína microsomal de transferencia (MTP) | Esta proteína transfiere los triacilgliceroles dentro de las partículas de las lipoproteínas. |

rol acilo transferasa, que es activada por la apoAI. Las HDL intercambian con las lipoproteínas ricas en triacilgliceroles (Qm, VLDL, IDL y remanentes) colesterol esterificado y apolipoproteínas, recibiendo triacilgliceroles, colesterol libre y fosfolípidos mediante la proteína de transferencia de ésteres de colesterol (Fig. 1)(9). La fracción de las HDL no es homogénea. Las HDL discoidales están compuestas por fosfolípidos y apoAI y tienen la capacidad de recibir colesterol no esterificado desde la superficie celular. Este proceso de remoción del colesterol de los tejidos al hígado y hacia su excreción del organismo es lo opuesto a la distribución del colesterol por las LDL, esto

es conocido como transporte reverso del colesterol (10).

RECEPTOR DE LA LIPOPROTEÍNA DE BAJA DENSIDAD (LDL-R) Regulación y síntesis del LDL-R.

El número de receptores LDL expresados en hígado es controlado por una autorregulación negativa, mecanismo por el cual se mantienen constantes los niveles intracelulares de colesterol en los hepatocitos. El gen que codifica para el receptor LDL (*ldlr*) se encuentra parcialmente suprimido en condiciones normales, de ahí la importancia del reciclaje del receptor. Cuando la concentración de colesterol en las células hepáticas aumenta, la transcripción del gen *ldlr*

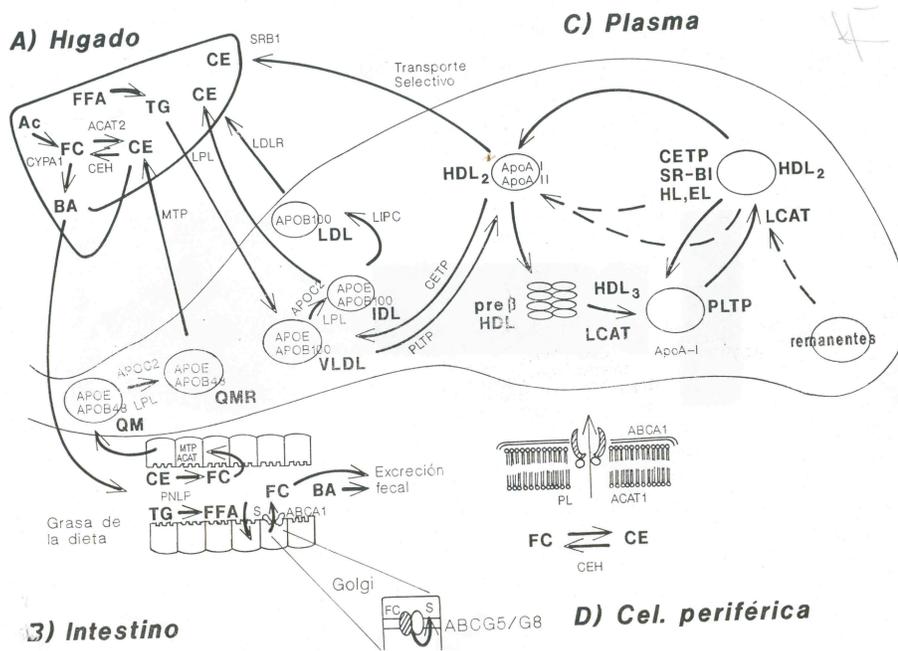


Figura 1. A partir del acetato (Ac) se sintetiza FC y como producto final ácidos biliares que degradan la grasa ingerida por la dieta como los TG a ácidos grasos libres (FFA). El colesterol libre es esterificado por la enzima Acil coenzima A: acilo transferasa (ACAT). Los TG son hidrolizados por la LPL principalmente a QM y VLDL. También participa en la hidrólisis de los remanentes de los VLDL. La PLTP transfiere los fosfolípidos a las HDL. En la maduración de las HDL intervienen varias enzimas. Las pre-HDL van adquiriendo diferentes apoproteínas conforme van madurando. Tanto en el intestino como en las células periféricas interviene el transportador ABC para la eliminación final del colesterol. Abreviaturas: QM: quilomicrones, QMR: remanentes de quilomicrones; VLDL: lipoproteína de muy baja densidad; IDL: lipoproteína de densidad intermedia; LDL: lipoproteína de baja densidad; HDL: lipoproteína de alta densidad; apoproteína: apo, colesterol libre: FC; ésteres de colesterol: CE; triacilglicérolos: TG y PLTP: proteína de transferencia de fosfolípidos.

se inhibe y por lo tanto la LDL queda en el plasma. Por el contrario, cuando los niveles de colesterol hepático descienden, se induce la transcripción del receptor, lo que lleva a una unión e internalización de la LDL y como resultado la concentración de LDL en plasma disminuye (2,4). En presencia de colesterol la autorregulación negativa también consiste en la supresión de la actividad de la 3-hidroxi-3-metilglutaril-coenzima A reductasa (HMG-CoA reductasa), enzima involucrada en el paso limitante de la síntesis de colesterol. La supresión en la actividad de la enzima da por resultado la inhibición de la síntesis de colesterol en la célula. Otro efecto de la autorregulación negativa es la activación de la enzima acil Coenzima A: colesterol acilo transferasa la cual tiene como función

esterificar el colesterol para almacenarlo en forma de ésteres de colesterol en caso de que haya un exceso (4).

El receptor precursor se sintetiza en el retículo endoplasmático rugoso siendo su peso molecular de 120 kDa. Contiene cadenas de carbohidratos ricas en manosa unidas al NH₂ de la cadena lateral de los residuos de asparagina (N-oligosacárido) y el azúcar central (N-acetilglucosamina) de los O-oligosacáridos. Después de un lapso de 30 a 60 minutos aproximadamente que se sintetizó, ya siendo su peso molecular de 160 kDa, se transporta hacia el aparato de golgi. El aumento en el peso molecular coincide con la conversión y con la adición de azúcares a los N-oligosacáridos y los oligosacáridos respectivamente. Sin embargo la cantidad de carbohidratos no es suficiente para aumentar el peso

molecular a 40 kDa, por lo que se cree que el decremento en la movilidad electroforética radica en un cambio de conformación como consecuencia de la elongación del grupo de los O-oligosacáridos. Posteriormente a la síntesis del receptor, éste se dirige hacia la superficie celular (Fig. 2), allí puede unir una partícula de LDL presente en el plasma sanguíneo e internalizarse llevándose a cabo la endocitosis. Dicho proceso inicia en regiones especializadas de la membrana plasmática llamadas "poros recubiertos de clatrina" (2). El receptor se recicla volviendo a la membrana plasmática, mientras que la partícula de LDL es degradada en colesterol, aminoácidos y ácidos grasos. Cada receptor LDL realiza un viaje completo de modo continuo cada 10 minutos aproximadamente esté o no unido a una LDL (11).

El gen del receptor de LDL (ldlr) e Hipercolesterolemia Familiar (HF)

El gen *ldlr* se encuentra localizado en el cromosoma 19 (p13.1-13.3), comprende 45 kilobases (kb) y consta de 18 exones y 17 intrones, el ARNm es de 5.3 kb, sin embargo la región codificante es únicamente de 2.6 kb, ya que casi la mitad del ARNm se encuentra constituido por una gran región en el extremo 3' (exon 18) la cual no se traduce. Dicha región contiene dos copias y media de la familia de elementos repetidos (SINEs; "short interspersed repeated elements") *Alu* de ADN, las cuales actúan como retrotransposones por su homología con el ARN 7SL (12). El ARNm codifica para una proteína de 860 aminoácidos, la cual mediante modificaciones post-traduccionales quedan finalmente 839 aminoácidos (13).

El exón 1 codifica para una región corta no traducida de 21 aminoácidos, que comprende una secuencia señal. Esta secuencia no se encuentra en la proteína durante la translocación hacia el retículo endoplasmático, dirigiendo una proteína madura de 839 aminoácidos.

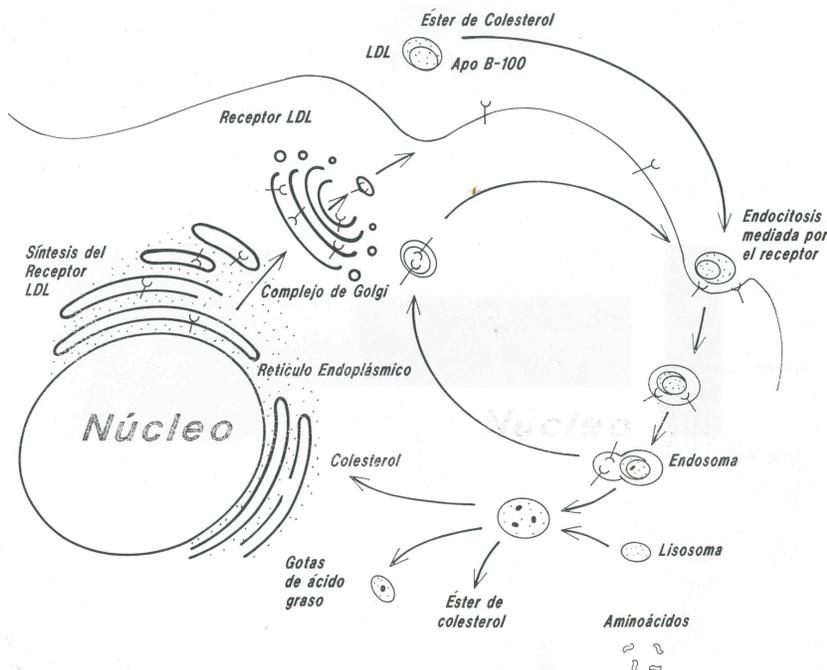


Figura 2. Síntesis y Función del Receptor de las LDL. El RNA mensajero se sintetiza en el núcleo, a partir de la información contenida en el gen del receptor. En el citoplasma, los ribosomas traducen la información del RNA dando lugar a la proteína, pasa a través del retículo endoplásmico y el complejo de Golgi, llega hasta la membrana plasmática. El receptor se une con su ligando (apoB-100). Se internaliza mediante endocitosis. El receptor se recicla volviendo a la membrana plasmática, mientras que la partícula de LDL es degradada a colesterol, aminoácidos y ácidos grasos.

Los exones del 2 al 6 codifican el dominio de unión al ligando, que consiste en 7 repeticiones de aproximadamente 40 aminoácidos cada uno. Tiene homología con la proteína C9 de la cascada del complemento. Cada repetición contiene 6 residuos de cisteína que forma tres enlaces disulfuro. El extremo carboxilo terminal de cada repetición contiene un grupo conservado de aminoácidos cargados negativamente Asp-Cys-X-Asp-gly-Ser-Asp-glu (DCXDGSDE) siendo los tres últimos (SDE) los más relevantes por conservarse absolutamente en las siete repeticiones.

Los exones del 7 al 14 codifican para una secuencia de aproximadamente 400 aminoácidos, la cual comparte identidad de un 33% con una porción del gen que codifica para el precursor del factor de crecimiento epidermal (EGF "epidermal growth factor"). Este dominio es requerido para la disociación de las lipoproteínas del receptor en el endosoma, durante el reciclaje del receptor.

El exón 15 codifica para el dominio de unión a cadenas de carbohidratos o azúcares, también conocido como dominio de glicosilación. Está formado por una secuencia de 58 aminoácidos, rica en residuos de serina y treonina, los cuales sirven para el sitio de anclaje para las cadenas de azúcar ligadas en el grupo hidroxilo de la cadena lateral de dichos aminoácidos (O-oligosacáridos) (13).

El exón 16 y el extremo 5' del exón 17 codifica para el dominio transmembranal, el cual es una secuencia que contiene 22 aminoácidos hidrofóbicos. El extremo 3' del exón 17 y el extremo 5' del exón 18 codifican para una secuencia de 50 aminoácidos, que forman el dominio citoplásmico incluyendo al carboxilo terminal. Dicha secuencia es importante para la localización en la superficie celular del receptor durante el proceso de endocitosis, ya que contiene la secuencia señal (NPXY) necesaria para mediar la internalización del

LDLR a través de los poros recubiertos por la proteína clatrina (14). El resto del exón 18 se refiere a la región 3' del ARNm de 2.6Kb la cual no se traduce.

Mutaciones en el gen *ldlr* afectan la función y/o estructura del receptor, alterando así el metabolismo celular de la lipoproteína LDL. La consecuencia de la deficiencia funcional del receptor ocasiona un decremento en la remoción de la LDL plasmática hacia el interior celular y por lo tanto su acumulación en el plasma sanguíneo. Las mutaciones que afectan al gen *ldlr* se han clasificado en cinco clases, dependiendo del efecto fenotípico provocado en la proteína o bien de la función afectada.

Mutaciones de clase 1: alelos nulos

No se produce proteína inmunoprecipitable. Las mutaciones pueden ocurrir en el promotor ocasionando que no se transcriba el gen y pueden ser desde la delección del promotor, así como mutaciones sin sentido, de marco de lectura o de corte y empalme. Son mutaciones graves con cifras muy elevadas de colesterol en la sangre.

Mutaciones de clase 2: alelos defectuosos en transporte

Los receptores se sintetizan pero el transporte es bloqueado parcialmente o totalmente entre el retículo endoplasmático y el complejo de Golgi.

Mutaciones de clase 3: alelos deficientes en la unión a ligando

Los receptores son sintetizados y transportados a la superficie celular, pero no se puede unir con la LDL.

Mutaciones de clase 4: alelos deficientes en la internalización

Los receptores se encuentran distribuidos de manera difusa en la superficie celular y por lo tanto no se encuentran concentrados en los poros recubiertos, por lo que no pueden transportar a la LDL unida a ellos. Este tipo de mutaciones son muy raras pero fueron importantes, ya que

mostraron la primera evidencia de que los receptores de superficie celular debían de agruparse en los poros recubiertos por clatrina (2,4).

Mutaciones de clase 5: alelos deficientes en reciclaje.

Los receptores se transportan perfectamente hasta la superficie a donde unen a su ligando y posteriormente se internalizan pero no se lleva a cabo el reciclaje del receptor.

Hasta la fecha se conocen más de 920 mutaciones en el gen *ldlr*; la mayoría son puntuales incluyendo sustituciones, deleciones e inserciones (duplicación) de las cuales solo el 1% corresponden a la región promotor. Del total de las mutaciones encontradas en los intrones el 65% corresponden a la región de corte y empalme. Existen dos bases de datos en internet; www.umd.necker.fr y www.ucl.ac.uk/fh que describen la mayoría de las mutaciones encontradas en diferentes poblaciones para facilitar el análisis del gen a nivel molecular y poder establecer la relación entre el fenotipo y genotipo (12, 13, 14).

Las mutaciones en el gen *ldlr* o de la apoB-100 conducen a la reducción de receptores funcionales de LDL en el hígado y como consecuencia el transporte de LDL disminuye y los niveles de colesterol de LDL se elevan en el plasma causando hipercolesterolemia familiar (HF), una de las enfermedades hereditarias más frecuentes. El colesterol se acumula en diferentes sitios como es en la piel de los párpados (xantelasma), tendones (xantomas tuberosos), y en la pared interna de las arterias (atero-

clerosis), provocando una disminución del calibre, aumentando así el riesgo de patologías cardiovasculares.

En la clínica se reportan dos formas de HF: la heterocigota y la homocigota. La forma heterocigota es la más común (1/500). Se caracteriza por tener niveles de colesterol entre 300-400 mg/dl, depositándose en tendones y en las paredes arteriales formando xantomas y placas ateroscleróticas. La aparición de los xantomas y el arco corneal son dependientes de la edad; la mayoría de los casos se mantienen asintomáticos hasta el primer evento vascular. Se detecta generalmente por concentraciones de colesterol total superiores a 300 mg/dl. Los triacilglicérolos se encuentran discretamente elevados; la forma heterocigota es la responsable de al menos el 5% de infartos al miocardio en personas menores de 50 años.

La forma homocigota se acompaña de concentraciones de colesterol por arriba de 600 mg/dl (500 a 1200 mg/dl), es extremadamente rara, además del arco corneal, tienen xantomas tuberosos y se asocia a cardiopatía isquémica en la primera década de la vida. Los pacientes que presentan HF de la forma homocigota por lo general mueren antes de la tercera década (1, 2, 4).

CONCLUSIONES

La terapia génica está siendo dirigida a modular la concentración de los lípidos para prevenir o tratar la aterosclerosis, con el objetivo de disminuir los niveles de lipoproteínas aterogénicas y/o aumentar los de las lipoproteínas antiaterogénicas.

La transferencia del gen *ldlr* a nivel hepático puede ser la terapia idónea en muchos pacientes con elevación de LDL. Las investigaciones que se han hecho hasta el momento, aplicando un adenovirus recombinante que contiene DNAC del LDL-R en animales normales, da como resultado un aumento transitorio de la expresión del receptor de LDL en el hígado y aumento del catabolismo de LDL con la consecuente caída de los niveles de colesterol. Sin embargo, los adenovirus como vectores se expresan solo unas cuantas semanas en el modelo murino (15).

Los estudios epidemiológicos sugieren que intervenciones que elevan las concentraciones de HDL y apoA-1 brindan un efecto protector para el desarrollo de la aterosclerosis. Se ha estudiado que la expresión de apoA-1 humana en ratones transgénicos elevaron los niveles de HDL e inhibieron la aterogénesis.

Los intentos de modificar el desarrollo de la aterosclerosis han permitido establecer la importancia de las lipoproteínas y sus mediadores enzimáticos y moleculares. La habilidad del tratamiento farmacológico actual para modificar el metabolismo y niveles de lipoproteínas en forma específica es limitada. Los estudios en animales indican que la modificación en la expresión genética puede elevar los niveles de lipoproteínas antiaterogénicas o disminuir el de las aterogénicas. Este potencial para reducir el desarrollo y progresión de aterosclerosis, en la medida de su aplicación clínica, será uno de los campos de mayor investigación futura.

REFERENCIAS

1. Hegele R (2001) Monogenic dislipidemias: windows on determinants of plasma lipoprotein metabolism. *Am J Hum Genet* 69:1161-1177.
2. Brown M y Goldstein J (1986) A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis. *Science* 232:34-47.
3. Scanu A y Widsdom C (1972) Serum lipoproteins structure and function. *Annu Rev Biochem* 41:703-730.
4. Brown M y Goldstein J (1985) The receptor model for transport of cholesterol in plasma. *Ann NY Acad Sci* 454:178-82.
5. Bednarska-Makaruk M B, Bisko M, Pulawska MF, Hoffmann-Zacharska D y Rodo M (2001) Familial defective apolipoprotein B-100 in a group of hypercholesterolemic patients in Poland. Identification of a new mutation Thr3492Ile in the apolipoprotein B gene. *Eur J Hum Genet* 9: 836-42.
6. Welty F K, Guida K A y Andersen J J (2001) Donor-splice-site mutation (210 + 1G_C) in the Apo B gene causes a very low level of ApoB-100 and LDL cholesterol. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 21:1864-5.
7. Vrablik M, Ceska R y Horine K A (2001) Major apolipoprotein B-100 mutations in lipoprotein metabolism and atherosclerosis. *Physiol Res* 50:337-43.
8. Castillo S, Tejedor D, Mozas P, Reyes G, Civeira F, Alonso R, Ros E, Pocoví M y Mata P (2002) The apolipoprotein B R3500Q gene mutation in Spanish subjects with a clinical diagnosis of familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis* 165:127-135.
9. Soutar A K (1999) Low-density lipoprotein receptors. En: *Lipoproteins in Health and Disease*. Editor: Betteridge D J, Illingworth D R and J Shepherd, pp303-322.
10. Eckardstein A, Nofer J y Assmann G (2001) High density lipoproteins and arteriosclerosis: Role of cholesterol efflux and reverse cholesterol transport. *Arterioscler Thromb Vas Biol* 21:13-27.
11. Basu S, Goldstein J, Anderson R y Brown M (1981) Monensin interrupts the recycling of low density lipoprotein receptor in human fibroblast. *Cell* 24: 493-502.
12. Yamamoto T, Davis G, Brown M, Schneider W, Casey M, Goldstein J y Russell D (1984) The human LDL receptor: a cystein-rich protein with multiple Alu sequences in its mRNA. *Cell* 39:27-38.
13. Südhof T, Goldstein J, Brown M y Russell D (1985) The LDL receptor gene: a mosaic of exons share with different proteins. *Science* 228:815-822.
14. Chen W, Goldstein J y Brown M (1990) NPXY, a sequence often found in cytoplasmic tails, is required for coated pit-mediated internalization of the low density protein receptor. *J Biol Chem* 265:3116-3123.
15. Stein O, Thiery J y Stein Y (2002) Is there a genetic basis for resistance to atherosclerosis? *Atherosclerosis* 160:1-10.

LAS DIFERENTES FUNCIONES DE LAS PROTEÍNAS DE LA FAMILIA BAR*

NATALIA MANZANO-LEÓN, MARGARITA GUADERRAMA-DÍAZ Y JAIME MAS-OLIVA

RESUMEN

Las proteínas de la familia BAR participan en varios procesos celulares tales como; endocitosis, organización del citoesqueleto de actina, muerte celular programada, respuesta al estrés y control transcripcional. La función exacta de cada una de las isoformas que forman parte de esta familia no ha sido aún identificada. El presente manuscrito representa una revisión de las diversas funciones que tienen estas proteínas de acuerdo a los dominios estructurales que posee cada miembro de la familia tanto en mamíferos como en otros organismos como lo son la levadura y la mosca de la fruta.

PALABRAS CLAVE: Anfifisinas, endocitosis, citoesqueleto, proteínas BAR, apoptosis.

ABSTRACT

Proteins from the BAR family participate in several cellular processes such as : endocytosis, organization of the actin cytoskeleton, programmed cell death, stress responses and transcriptional control. The exact function of each one of the isoforms that belong to this family have not been yet identified. The present manuscript represents a review of the diverse functions these proteins have in accordance to the different structural domains each family member shows in organisms such as mammals, as well as in yeast and the fruit fly.

KEY WORDS: Amphiphysins, endocytosis, cytoskeleton, BAR proteins, apoptosis.

INTRODUCCIÓN

El transporte intracelular de vesículas permite la comunicación entre la membrana plasmática y varios de los organelos citoplásmicos, transportando proteínas ya sean transmembranales o solubles, así como fragmentos de las mismas membranas a diferentes compartimentos celulares. La endocitosis mediada por clatrina, es el mecanismo de transporte vesicular más utilizado en las células eucarióticas y ocurre constitutivamente introduciendo de manera continua nutrientes esenciales, hormonas y otras moléculas desde la membrana plasmática al interior de la célula. Durante este proceso se han identificado proteínas citosólicas que

participan en la regulación de la formación del ensamblaje de vesículas cubiertas de clatrina tales como: clatrina, adaptinas, dinamina I y II, anfifisina I y II, eps15, epsina, endofilina, AP180/CALM y sinaptotjanina. La función de cada una de estas proteínas no ha sido aún totalmente definida.

De este grupo de proteínas, el estudio de las anfifisinas ha mostrado resultados importantes ya que estas proteínas además de participar en la endocitosis mediada por receptor, presentan actividad supresora de genes tumorales, entre otras características. En este trabajo se describen las diferentes funciones que tienen los diversos miembros de la familia BAR

y en especial de las anfifisinas.

LA FAMILIA DE LAS PROTEÍNAS BAR

La familia de proteínas BAR (Bin-Anfifisina-Rvsp) incluye a las proteínas Bin1, Bin2 y Bin3, a las diferentes isoformas de las anfifisinas (I, IIa y IIb) y a las proteínas de levadura Rvs161p y Rsv167p (1, 2) (Fig. 1). Las proteínas BAR están implicadas en diversos fenómenos celulares tales como endocitosis, organización del citoesqueleto de actina, muerte celular programada, respuesta al estrés y control transcripcional.

Todos los miembros de esta familia presentan un dominio N-terminal o dominio BAR altamente

* Recibido: 24 de marzo 2003 Aceptado: 10 diciembre 2003

conservado, que presenta una estructura en espiral (coiled-coil) necesaria para la dimerización de la anfifisina así como para su interacción con la membrana plasmática (1, 2). Asimismo, con la excepción de Bin2 y Rvs161p, todos los miembros de la familia BAR tienen un extremo C-terminal altamente conservado que se conoce como dominio SH3 (o de homología a Src), que regula la interacción con la dinamina y la sinaptojanina I en vertebrados y con la actina en levaduras. La región central de las proteínas BAR es la más variable; en la anfifisina I y la anfifisina IIa de mamífero, éstas contienen un dominio rico en prolina-arginina (PRD, de las siglas en inglés de Proline-Rich Domain) fundamental para su unión con la endofilina, y además un dominio CLAP para la unión de clatrina y de AP-2 (CLAP, por las siglas en inglés de Clatrin-AP-2 binding domain) (3). Por su parte, la anfifisina IIb y la isoforma ubicua de Bin1 (Bridging-Integrator) pierden los dominios PRD y CLAP, pero tienen un dominio de interacción con la oncoproteína Myc y una señal de localización nuclear. Las isoformas de la anfifisina en la mosca de la fruta (dAmph), *Caenorhabditis elegans* (ceAmph) y la de levadura Rvsp no tienen ninguno de estos dominios en su región central y son producidas a partir de un solo gen. Cabe mencionar que hasta el momento se ha detectado a la dAmph en neuronas, músculo y células epiteliales (4, 5).

La anfifisina I fue identificada mediante inmunoanálisis dentro de las proteínas asociadas con la membrana plasmática en la sinápsis, la cual es en general, muy abundante en las terminales presinápticas del cerebro de mamíferos (6).

La anfifisina II tiene al menos tres diferentes variantes de corte y empalme alternativo (splicing) que codifican para: 1) una proteína específica del cerebro (también llamada anfifisina IIa o n-anfifisina)

(6), 2) una proteína específica de músculo esquelético (también llamada anfifisina IIb o m-anfifisina) (2, 6) y 3) dos proteínas que se encuentran en gran número de tejidos: glándula suprarrenal, testículo, corazón, hígado, pulmón, riñón, músculo esquelético y corteza cerebral (7). La anfifisina IIa es abundante en los segmentos iniciales de los axones y en los nódulos de Ranvier en el cerebro, aunque no en las terminales sinápticas (6). La anfifisina IIb que tiene varias isoformas, una de las cuales es Bin1, la que fue descubierta independientemente como un supresor de tumores que interactúa con la oncoproteína Myc (2) y se encuentra en grandes concentraciones alrededor de los túbulos-T en músculo esquelético (4).

LAS ANFIFISINAS EN LA ENDOCITOSIS

Las anfifisinas participan en el proceso de endocitosis mediada por clatrina y su función fue detectada por estudios genéticos de dos proteínas citosólicas de levadura homólogas,

denominadas Rvs167p y Rvs161p. Los genes que codifican para estas dos proteínas fueron identificados en un análisis de mutaciones que causaban una baja viabilidad después de un periodo de ayuno (de ahí las siglas Rvsp, Reduced Viability upon Starvation Period) en la fase estacionaria del crecimiento de estos organismos. El desarrollo de estas levaduras se detiene por defectos en varios procesos celulares relacionados con el citoesqueleto de actina, incluyendo la endocitosis mediada por receptor (8).

Otra evidencia del papel de las anfifisinas en la endocitosis fue el descubrimiento de que participan en la endocitosis mediada por clatrina de las vesículas sinápticas. La anfifisina I y la anfifisina IIa (específica de cerebro) interactúan con otras proteínas endocíticas clave como lo son clatrina, AP-2, endofilina, dinamina y sinaptojanina. Asimismo, se encontró que la sobreexpresión del dominio SH3 o de la región CLAP de la anfifisina I, inhibe la endocitosis. Además, se ha mostrado que la anfifisina I se une a bicapas de lípidos

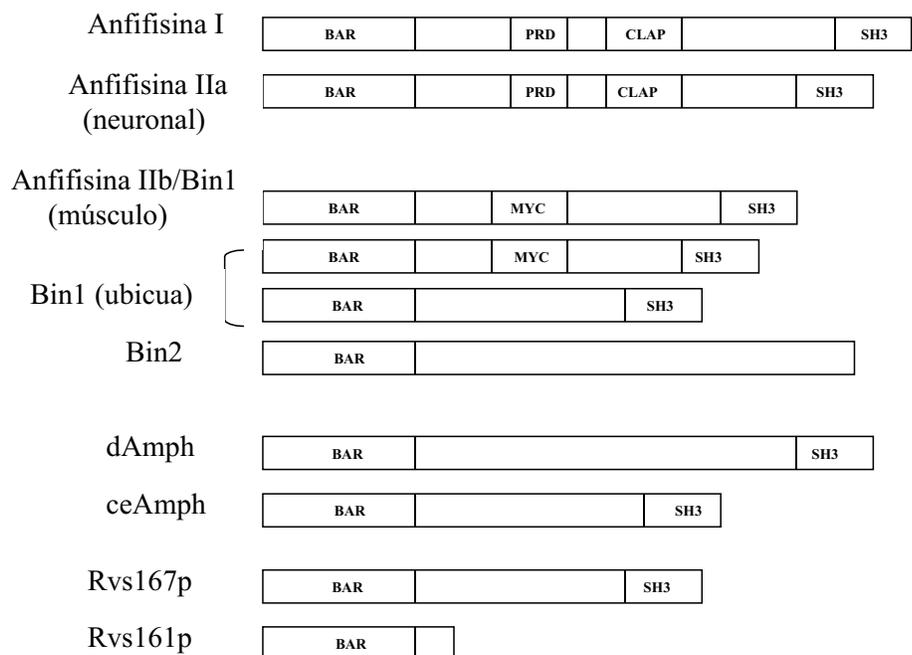


Figura 1. Miembros de la familia de proteínas BAR. BAR: *Bin-Amphiphysin-Rvsp*; Bin: *Bridging-integrator*; Rvsp: *Reduced Viability upon Starvation Period*; PRD: *Proline-arginine Rich Domain*; CLAP: *Clathrin-AP-2 binding domain*; SH3: dominio de homología a Src.

y causa deformaciones *in vitro*, sugiriendo un posible papel en la formación de vesículas (5). Por otra parte, se sabe que el dominio C-terminal SH3 de la anfifisina I interactúa con el dominio PRD de la dinamina con una alta afinidad *in vitro*. Esta interacción es esencial para el reclutamiento de la dinamina desde el citosol a la región del cuello de la vesícula cubierta.

Para investigar la actividad de las anfifisinas en la endocitosis de vesículas sinápticas, se han producido organismos carentes de estos genes (knockout), tales como ratones y mosca de la fruta (*Drosophila*). En el ratón, la ausencia de anfifisina I provoca una reducción de los niveles de anfifisina IIa y aunque se sabe que en este modelo animal no afecta la transcripción de anfifisina IIa y de anfifisina IIb, se cree que la dimerización de la anfifisina I y IIb puede ser importante para su estabilidad. No obstante la pérdida completa de anfifisina I y de una gran reducción de la anfifisina IIa en el cerebro, los ratones mutantes son viables y se reproducen de manera normal, la ultraestructura de la sinápsis es normal incluyendo el número total de vesículas sinápticas, y no existe acumulación de estas a lo largo de la membrana plasmática (4).

Mediante análisis electrofisiológicos se ha demostrado que en ratones carentes del gen de anfifisina I se observa una ligera reducción en la cinética de la endocitosis de las vesículas sinápticas. Entre los factores que pueden explicar este hecho es que se reduce la asociación de clatrina y de AP-2 en la membrana plasmática, confirmando el papel del dominio CLAP en reclutar a la clatrina y a la AP-2 a la membrana (3). Asimismo, se ha observado que la ausencia de anfifisina I reduce la interacción de la dinamina con la AP-2 y la clatrina, sugiriendo que la cantidad de dinamina también disminuye. Se puede concluir entonces que la anfifisina juega un

papel secundario en la endocitosis mediada por clatrina de las vesículas sinápticas. Sin embargo, se ha observado que estos ratones carentes del gen de anfifisina presentan problemas en los procesos de memoria y comportamiento espacial y pueden sufrir convulsiones, lo que frecuentemente lleva a una muerte repentina (4).

A diferencia de los mamíferos y de las levaduras, la mosca de la fruta tiene solo un gen que codifica para la anfifisina, que a través de corte y empalme alternativo produce 4 isoformas. Este corte y empalme solo se lleva a cabo en la región central no conservada y todas las isoformas conservan el dominio BAR N-terminal y el dominio SH3 C-terminal. Existen reportes recientes que indican que la dAmph no está involucrada en la endocitosis de las vesículas sinápticas en la unión neuromuscular pues el dominio central de la dAmph pierde los dominios de interacción PRD y CLAP que interaccionan con endofilina, clatrina, y AP-2. Además, el dominio SH3 de la dAmph no interactúa con dinamina proveniente de la mosca de la fruta (aunque si con la proveniente de vertebrados) posiblemente debido a la ausencia del motivo de unión al dominio SH3 en la dinamina de la mosca de la fruta. En suma, estos estudios genéticos tanto en ratones como en moscas dan cuenta del papel secundario de las anfifisinas en el reciclaje de vesículas sinápticas y así como en la endocitosis mediada por receptor (4, 5).

LAS ANFIFISINAS EN LA FORMACIÓN DE TÚBULOS T

Como se ha mencionado antes, la anfifisina IIb, m-anfifisina o Bin1 (característica de músculo) no presenta sitios de unión de clatrininas ni de AP-2, pues contiene solo al exón 10, justo corriente abajo del dominio BAR (6, 7). Estudios *in vitro* han mostrado que el dominio BAR de las anfifisinas une e invagina lípidos de

membrana dentro de túbulos estrechos, sugiriendo que la m-anfifisina o anfifisina IIb puede generar *in vivo* curvaturas de la membrana y que tal vez contribuya a la biogénesis de los túbulos T, que son invaginaciones de la membrana plasmática de la célula muscular que penetran hacia el interior de esta e intervienen en la señalización eléctrica durante la contracción muscular. Se han detectado defectos en los túbulos T de músculo de la mosca de la fruta que poseen mutaciones en el gen de la anfifisina. Estos organismos, son viables y se reproducen normalmente; sin embargo, se ha detectado que las larvas tienen una locomoción lenta y el vuelo de las moscas adultas es afectado. Este hecho parece deberse a graves defectos en la formación de los túbulos T transversos de músculo. Se sabe además que en ausencia de dAmph, los túbulos T se alteran en tamaño y organización. De forma interesante se ha observado que tanto los defectos de los túbulos T como la incapacidad de vuelo de estas moscas puede revertirse al expresar nuevamente dAmph en músculo (4).

Se han propuesto hasta el momento diversos mecanismos por los cuales la anfifisina puede jugar un papel en la organización y función de los túbulos T. Razzaq y cols. (4) proponen que el dominio BAR de la dAmph, al inducir la formación de túbulos en liposomas puede participar en la formación de túbulos T en la mosca de la fruta. Además, la dAmph puede regular la interacción entre el citoesqueleto de actina y el túbulo T, tal como lo hacen las proteínas Rvsp de levadura, las cuales se conoce interactúan directamente con la actina y la proteína de unión a actina Abp 1p. Finalmente, el sistema de túbulos T surge ya sea a partir de invaginaciones de la membrana plasmática y/o por la adición de membrana nueva a la superficie, vía un proceso similar a la exocitosis. De esta manera la dAmph puede también estar involucrada en el tráfico de vesículas de exocitosis que formarían

parte de la membrana de los túbulos T y entonces también participar en el mantenimiento o construcción de membranas (4).

LAS DIFERENTES ISOFORMAS DE BIN1/ANFIFISINA II

El gen de mamífero Bin1/Anfifisina II codifica por corte y empalme alternativo para una serie de proteínas adaptadoras muy diferentes entre sí en lo que respecta a sus perfiles de expresión y sublocalización celular. La proteína Bin1 está implicada en diferentes procesos celulares incluyendo endocitosis, organización del citoesqueleto de actina, transcripción y respuesta al estrés. Se han encontrado dos isoformas ubicuas y varias isoformas tejido-específicas expresadas predominantemente en músculo esquelético y cerebro. Las isoformas específicas de cerebro están muy relacionadas con las anfifisinas, por lo que se le denomina también como anfifisina II. Las isoformas ubicuas tienen al parecer otras funciones y se les localiza tanto en el citosol como en el núcleo, mientras que la isoforma cerebral se localiza solo en el citosol, además que únicamente esta isoforma presenta las secuencias de interacción con las proteínas de la maquinaria endocítica.

Las diferentes isoformas de Bin1 son producidas por corte y empalme alternativo de exones (entre paréntesis exones que faltan o se encuentran presentes en cada una de ellas). Las isoformas Bin1[-10] y Bin1[-10-13] son las que se expresan ubicuamente. Bin1[-10] es una isoforma nucleocitosólica que puede formar un complejo con Myc para actuar como correpressor transcripcional y suprimir el crecimiento de células oncogénicamente transformadas (2, 11). Bin1[-10-13] fue identificada inicialmente en un análisis de dos híbridos para proteínas que interaccionan con c-Abl y no posee la porción crítica del dominio de unión a Myc.

Otras 5 isoformas de corte y empalme : Bin1[+10] y al menos 4

isoformas de Bin1[-10+12] tienen una expresión tejido-específica. La expresión de Bin1[+10], está restringida al músculo esquelético y se ha encontrado que está implicada en la diferenciación de mioblastos de ratón (12); además de sus funciones en células musculares, Bin1[+10] ha sido localizada en los túbulos T (1). El corte y empalme diferencial de los exones 12A a 12D en Bin1[-10+12] produce al menos 4 isoformas que invariablemente contienen al exon 12A y se expresan predominantemente en cerebro (7). Esta isoforma Bin1[-10+12]/anfifisina II se localiza en el citosol, donde puede heterodimerizar con anfifisina I y se asocia con otros componentes de las vesículas sinápticas cubiertas de clatrina (2, 10, 13).

APOPTOSIS Y DIFERENCIACIÓN

Bin1 es una proteína que fue identificada inicialmente por su habilidad para interactuar con el dominio regulatorio de la oncoproteína Myc inhibiendo sus propiedades oncogénicas y transcripcionales (2, 7, 11); aunque cabe aclarar que existe evidencia de su función de inhibidor del crecimiento celular por mecanismos independientes de Myc (11). En algunos otros casos, esta proteína es necesaria para la diferenciación de algunas células como los mioblastos C2C12.

En células de cáncer de mama o de próstata, así como en melanomas malignos la proteína Bin1 se reduce notablemente o bien, es indetectable o está inactivada. Sin embargo su reexpresión en estas células desencadena un proceso de muerte celular programada. Myc es un regulador central tanto de la proliferación celular como de la apoptosis. En células normales en división, los niveles de Myc se incrementan y permanecen elevados, indicando que esta proteína se requiere para la proliferación celular. De manera contraria, la supresión de Myc bloquea las señales mitogénicas y

facilita la diferenciación. Myc puede también inducir apoptosis en células normales cuando se induce su expresión donde se piensa que pudiera actuar como factor transcripcional, aunque el mecanismo exacto que le proporciona sus propiedades ya sean oncogénicas o apoptóticas no se conoce (8, 12).

La inactivación de Bin1, que frecuentemente ocurre en células tumorales humanas, puede ayudar a estas células a eludir la muerte asociada con la activación de Myc. Se sabe que Bin1 no es proapoptótica cuando es sobreexpresada en células primarias, por lo que Bin1 no es una proteína ejecutora, pero sí una condicionante entre Myc y la maquinaria de muerte. Asimismo, la fosforilación puede jugar un papel importante en esta señalización pues tanto Myc como Bin1 son fosfoproteínas (7) y existe evidencia de que la serina 71 de Myc tiene un papel apoptótico específico. De hecho este sitio se encuentra próximo a la región Myc Box1 implicada en la unión a Bin1 (2). Todos estos hallazgos confirman el papel dual que juega Myc basado en sus interacciones con una proteína adaptadora. Cabe mencionar que la sobreexpresión de Bin1 en células tumorales lleva a un proceso de muerte celular independiente de caspasas (11). Sin embargo, se ha descrito un mecanismo de muerte celular relacionada con Myc que se lleva a cabo en presencia de inhibidores de caspasas, por lo que Myc puede entonces activar múltiples procesos de muerte celular y tal vez solo una parte involucran a Bin1 o a las caspasas.

CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

Las proteínas de la familia BAR tienen varias funciones en la fisiología celular. En el caso específico de las anfifisinas, estas proteínas no tienen una función conservada en el reciclaje de vesículas sinápticas y aunque en vertebrados pueden regular este

proceso, no son esenciales para la endocitosis mediada por clatrina. Sin embargo, las anfifisinas están implicadas en procesos de memoria y comportamiento en el ratón y son esenciales en la estructuración del túbulo T y el acoplamiento de la excitación-contracción en músculos de la mosca de la fruta. Además juegan un pa

Quedan sin embargo varias interrogantes acerca de estas proteínas, por ejemplo: el saber si la anfifisina IIa puede tener una función compensatoria en el reciclaje de vesículas sinápticas de ratones carentes del gen de anfifisina I, o el

conocer de qué forma participa la anfifisina en procesos como el aprendizaje y la memoria. Es necesario investigar con mayor detalle cuáles son las funciones del dominio BAR presente en todos los miembros de la familia y qué otras proteínas pueden interaccionar con el dominio SH3. Por otro lado, no se conocen los mecanismos por los cuales la anfifisina interactúa con la actina o si bien señala cambios en esta última. Otra pregunta por hacer en la morfogénesis de la membrana en fotorreceptores en desarrollo. contestar es la siguiente : ¿Por qué las anfifisinas están presentes exclusivamente en las vesículas

revestidas de clatrina y qué papel tiene la fosforilación en la regulación de la actividad de estas proteínas? También se desconoce la función exacta de la proteína nuclear Bin1 importante en la actividad supresora de genes tumorales así como el papel fisiológico de Bin2 e interacción con Bin1. Por otra parte, será de gran interés estudiar a las anfifisinas como nuevos participantes en la señalización entre la membrana plasmática y el núcleo, ya que existen reportes de una relación estrecha entre el cáncer de la glándula mamaria y una autoinmunidad a la anfifisina 1 en humanos.

REFERENCIAS

1. Routhier E L, Burn T C, Abbaszade I, Summers M, Albright C F y Prendergast G C (2001) Human BIN3 complements the F-actin localization defects caused by loss of Hob3p, the fission yeast homolog of Rvsp161p. *J Biol Chem* 276 : 21670-21677.
2. Sakamuro D, Elliott K J, Wechsler-Reya R y Prendergast G C (1996) BIN1 is a novel MYC-interacting protein with features of a tumor suppressor. *Nat Genet* 14 : 69-77.
3. Ramjaun A R, Philie J, de Heuvel E y McPherson P S (1999) The N terminus of amphiphysin II mediates dimerization and plasma membrane targeting. *J Biol Chem* 274: 19785-19791.
4. Razzaq A, Robinson I M, McMahan H T, Skepper J N, Su Y, Zehlf A C, Jackson A P, Gay N J y O'Kene C J (2001) Amphiphysin is necessary for organization of the excitation-contraction coupling machinery of muscles, but not for synaptic vesicle endocytosis in *Drosophila*. *Genes Dev* 15: 2967-2979.
5. Zehlf A C, Bao H, Hardy R W, Razzaq A, Zhang B y Doe C Q (2001) *Drosophila* amphiphysin is implicated in protein localization and membrane morphogenesis but not in synaptic vesicle endocytosis. *Development* 128: 5005-5015.
6. Butler M H, David C, Ochoa G C, Freyberg Z, Daniell L, Grabs D, Cremona, O y de Camilli P (1997) Amphiphysin II (SH3P9;BIN1), a member of the amphiphysin/RVS family, is concentrated in the cortical cytomatrix of axon initial segments and nodes of Ranvier in brain and around T tubules in skeletal muscle. *J Cell Biol* 137: 1355-1367.
7. Wechsler-Reya R, Sakamuro, D, Zhang J, DuHadaway J y Prendergast G C (1997) Structural analysis of the human BIN1 gene. Evidence for tissue-specific transcriptional regulation and alternate RNA splicing. *J Biol Chem* 272: 31453-31458.
8. Crouzet M, Utdaci M, Dulau L y Aigle M (1991) Yeast mutant affected for viability upon nutrient starvation: characterization and cloning of the RVS161 gene. *Yeast* 7: 727-743.
9. Rosales J L, Nodwell M J, Johnston R N y Lee K Y (2000) Cdk5/p25 (nck5a) interaction with synaptic proteins in bovine brain. *J Cell Biochem* 78: 151-159.
10. Ge K y Prendergast G C (2000) Bin2, a functionally nonredundant member of the BAR adaptor gene family. *Genomics* 67: 210-220.
11. Elliott K, Sakamuro D, Basu A, Du W, Wunner W, Staller P, Gaubatz S Zhang, H, Prochwnik, E,

Eilers, M y Prendergast, G C (1999) Bin1 functionally interacts with Myc and inhibits cell proliferation via multiple mechanisms. *Oncogene 18*: 3564-3573.

12. Mao N C, Steingrimsson E, DuHadaway J, Wasserman W, Ruiz J C, Copeland, N G, Jenkins N A y Prendergast G C (1999) The murine Bin1 gene functions early in myogenesis and defines a

new region of synteny between mouse chromosome 18 and human chromosome 2. *Genomics 56*: 51-58.

13. DuHadaway J B, Sakamuro D, Ewert, D L y Prendergast G C (2001) Bin1 Mediates apoptosis by c-Myc in transformed primary cells. *Cancer Res 16*: 3151-3156.

PROBLEMA BIOQUÍMICO

José S. Rodríguez Zavala
Correo E: rodjos@cardiología.org.mx

Estructura-Función de Proteínas

La aldehído deshidrogenasa humana clase 3 (ALDH3) es una enzima dimérica que se encuentra en el citosol de células epiteliales del tracto gastrointestinal. Esta enzima se encarga de la destoxicación de aldehídos aromáticos. Las subunidades que componen al dímero de esta enzima poseen una extensión de 17 aminoácidos en el C-terminal. Esta extensión no existe en las enzimas tetraméricas, la aldehído deshidrogenasa clase 1 (ALDH1) citosólica o en la aldehído deshidrogenasa clase 2 (ALDH2) mitocondrial, que se encuentran principalmente en hígado y cerebro (1). La ALDH2 se encarga de la destoxicación de aldehídos alifáticos de cadena corta, mientras que la ALDH1 destoxifica aldehídos de cadena corta, mediana, larga y aldehídos

aromáticos. Se ha propuesto que la función de la extensión de 17 aminoácidos en la ALDH3, es la de estabilizar al dímero. La extensión de aminoácidos del C-terminal de un monómero forma puentes de hidrógeno y enlaces iónicos con residuos del otro monómero. Se ha propuesto además que esta extensión impide la formación de tetrámeros en la ALDH3 (2). Para evaluar lo anterior, se generó una mutante de la ALDH3 eliminando la extensión de aminoácidos del C-terminal. Después de eliminar la extensión, se cambió el último residuo de Alanina por Serina (ALDH3C-terminal, A436S), por mutagénesis sitio dirigida, para emular lo que ocurre en la enzima tetramérica. No se logró generar tetrámeros de esta mutante, pero sus propiedades cinéticas se modificaron de manera importante.

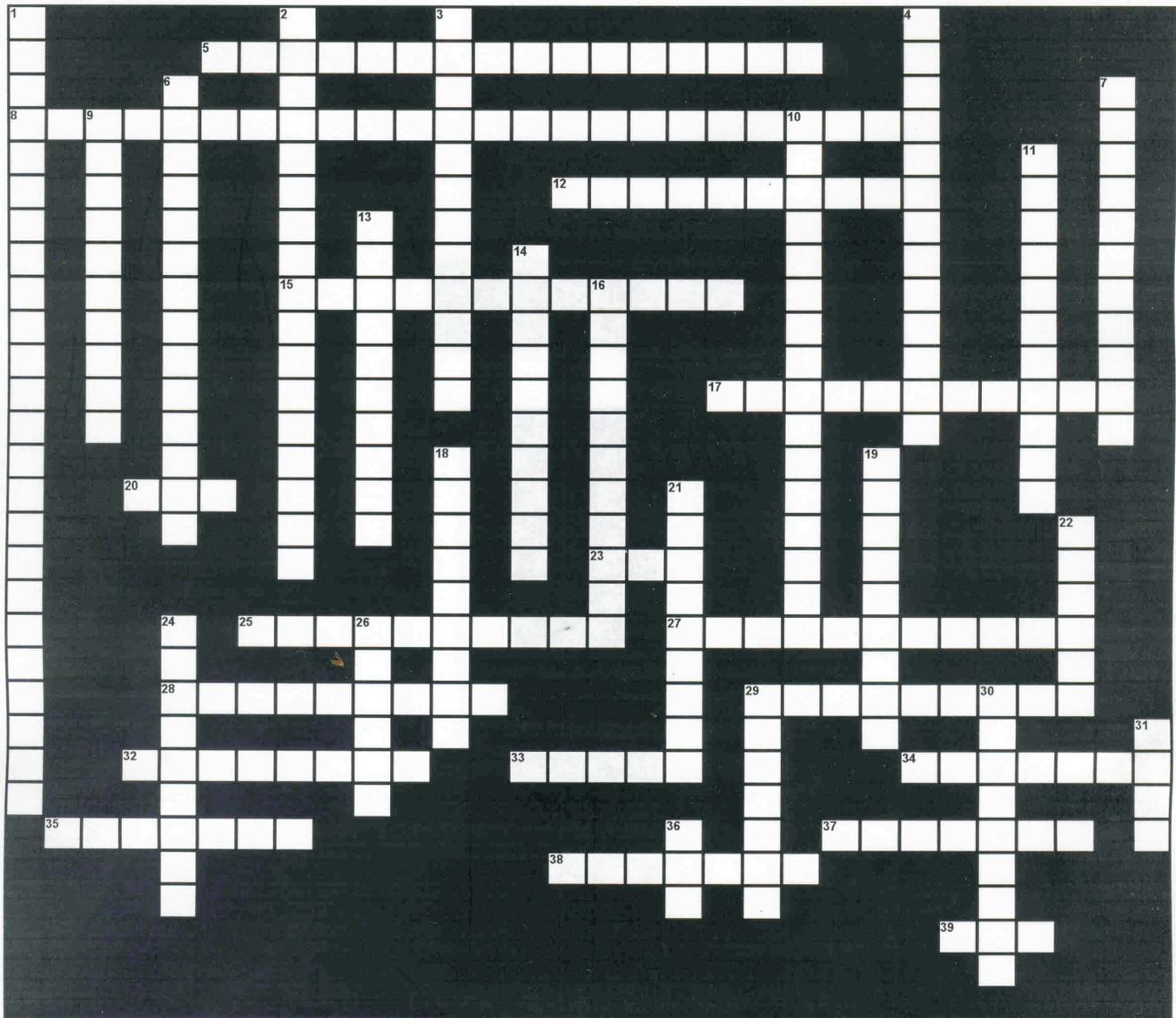
Al variar los dos substratos se generó la siguiente serie de datos:

| | | V ($\mu\text{mol}/\text{min}\cdot\text{mg}$) | | | |
|--------------------------|----------------------|---|-------|-------|-------|
| | | 0.143 | 0.293 | 0.586 | 1.466 |
| NAD ⁺ (mM) | Benzaldehído (mM) | | | | |
| 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 0.5 | 1.70 | 3.72 | 4.80 | 6.80 | |
| 1 | 3.02 | 6.22 | 8.40 | 11.22 | |
| 2 | 4.80 | 8.60 | 12.66 | 18.48 | |
| 3 | 6.00 | 11.20 | 16.15 | 24.99 | |
| 4 | 7.25 | 12.54 | 17.65 | 28.02 | |
| 5 | 7.40 | 13.84 | 18.42 | 29.82 | |
| 6 | 8.25 | 15.21 | 19.38 | 30.75 | |
| 7.5 | 8.17 | 15.44 | 20.12 | 30.75 | |

Analiza los cambios inducidos en los parámetros cinéticos (V_m , $K_m^{\text{NAD}^+}$, $K_m^{\text{Benzaldehído}}$, $K_i^{\text{NAD}^+}$) por la delección de los 17-aminoácidos y evalúa el papel de la extensión de aminoácidos del C-terminal en la estructura cuaternaria de la ALDH3 humana.

CRUCIBIOQ

METABOLISMO DE NUCLEÓTIDOS



HORIZONTALES

- 5 Junto con aspartato y por la participación de la aspartato transcarbamoilasa forma N-carbamoilaspartato.
- 8 Dinucleótido que posee riboflavina la cual debe provenir de una fuente exógena.
- 12 Nombre genérico para el éster fosfórico de un nucleósido.
- 15 Esta amida reacciona con fosforribosilpirofosfato y más tarde con ATP para producir NAD^+ .
- 17 Reacción realizada en la síntesis de las purinas en la que participa el N^{10} -formiltetrahidrofólico.
- 20 Siglas de nucleótido trifosforilado de adenina, considerado como la unidad internacional de energía.
- 23 Siglas de molécula que cuando es cíclica regula la acción de muchas hormonas.
- 25 Aminoácido que cuando el aporte exógeno está en exceso al requerido para la síntesis de las proteínas,

es precursor de la niacina.

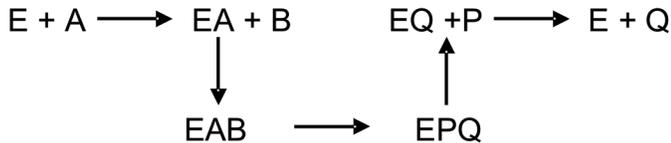
- 27 Molécula indispensable en la dieta y que por su reacción con dos ATP da lugar a FAD.
- 28 Antagonista de la glutamina, impide que para la síntesis *de novo* del anillo purínico, esta molécula done los nitrógenos 3 y 9.
- 29 El nicotinato ribonucleótido reacciona con ATP y este aminoácido para dar lugar a NAD⁺.
- 32 Aminoácido que en unión del ácido pantoténico y varias moléculas de ATP participa en la síntesis de la Coenzima A y es responsable del grupo -SH de la misma, el cual es considerado como el extremo activo.
- 33 Producto final de la degradación de las purinas en la especie humana.
- 34 Reacciona con fosforribosilpirofosfato, forma orotidilato y por descarboxilación posterior da lugar a UMP.
- 35 Enfermedad ocasionada por la insuficiencia de triptofano y de niacina en la dieta y que tiene como características dermatitis, diarrea y demencia.
- 37 En esta forma el AMP funciona como segundo mensajero en el control de la glucogenólisis y glucogenogénesis mediado por la adrenalina y el glucagón.
- 38 Molécula dioxidada, es un intermediario en la formación del urato a partir de adenina y guanina.
- 39 Nucleótido con tres fosfatos que participa junto con ATP, CTP y TTP como materia prima para la síntesis de DNA.

VERTICALES

- 1 En presencia de glutamina y por amido fosforribosil transferasa da lugar a la 5-fosforribosil-1-amina.
- 2 Inhibidor de la reacción entre glutamina y CO₂ que conduce a la síntesis de carbamoilfosfato.
- 3 Función desempeñada por algunos nucleótidos como por ejemplo NAD⁺, NADPH, FAD y Coenzima A entre otros.
- 4 Fármaco anticanceroso, análogo del dUMP inhibe irreversiblemente a la timidilato sintasa impidiendo la formación de dTMP.
- 6 Producto de ciclización debido a la deshidratación de N-carbamoilaspartato.
- 7 En la vía de degradación del AMP, es la base nitrogenada monooxidada.
- 9 Se usa en el tratamiento de la gota ya que inhibe a la xantina oxidasa, acción que impide la sobreproducción de ácido úrico.
- 10 Molécula formada por los residuos de pteridina, *p*-aminobenzoato y glutamato y es portador de dos átomos de carbono del anillo púrico.
- 11 Tipo de nucleótidos formados a partir de carbamoilfosfato y aspartato, el cierre es catalizado por la dihidroorotasa.
- 13 Ácido que por reacción con fosforribosilpirofosfato da lugar a nicotinato ribonucleótido.
- 14 Función que desempeñan algunos nucleótidos como el ATP, GTP, ADP, CTP entre otros; para impulsar reacciones metabólicas, muy especialmente las biosintéticas.
- 16 Inhibidor competitivo de la dihidrofolato reductasa, razón por la cual se usa como anticancerígeno ya que bloquea la síntesis de dTMP.
- 18 Mediante una reacción de oxidación catalizada por la urato oxidasa, es el producto de excreción de las purinas en los mamíferos a excepción de los primates.
- 19 Llamado también adenosina monofosfato, se sintetiza a partir del inosinato por sustitución de un grupo amino por un carboxilo en C-6
- 21 Aminoácido dicarboxílico de 4 carbonos que participa con el N-1 en la formación del anillo purínico.
- 22 Enzima presente en invertebrados marinos que degrada a la urea proveniente del metabolismo de las purinas en NH₄⁺ y CO₂.
- 24 Ribonucleótido 5'-monofosfato que se obtiene a partir del xantilato por la inserción de un grupo amino en C-2.
- 26 Los nucleótidos con esta estructura tienen dos anillos formados por 5 carbonos y 4 nitrógenos.
- 29 Molécula que participa íntegramente en la constitución de las purinas.
- 30 Nucleótido de purina, no forma parte de los ácidos nucleicos pero da lugar a guanilato y a adenilato.
- 31 Enfermedad debida a una elevación en la cantidad de ácido úrico en el suero y que puede conducir a depósito de cristales de la sal sódica en las articulaciones en las extremidades.
- 36 Siglas de nucleótido con tres fosfatos que se forma por la transaminación entre UTP y glutamina.

RESPUESTA AL PROBLEMA BIOQUÍMICO

Se ha determinado que el mecanismo de reacción de la mayoría de las aldehído deshidrogenasas es Bi-Bi secuencial ordenado en estado estacionario (3), por lo que el esquema cinético queda como sigue, en el cual A corresponde a NAD⁺, B al benzaldehído, P al ácido orgánico y Q al NADH:



La ecuación general de velocidad para este tipo de mecanismo es:

$$\frac{v}{V_{max}} = \frac{[A][B]}{K_{ia}K_{mB} + K_{mB}[A] + K_{mA}[B] + [A][B]} \quad \text{Ec. 1}$$

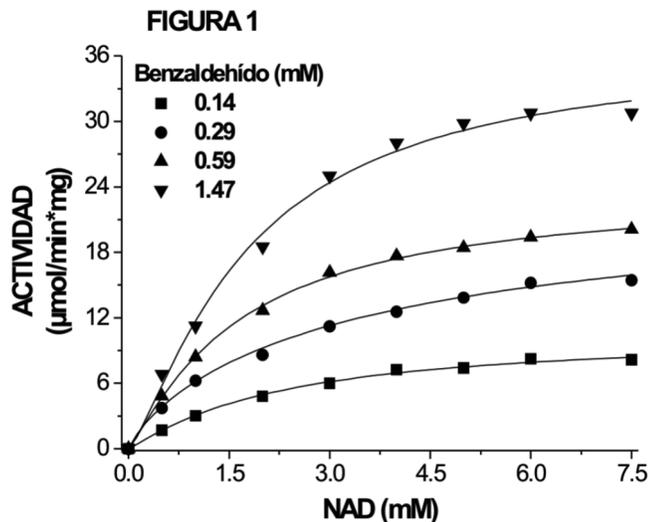
Variando [A] la ecuación queda:

$$\frac{v}{V_{max}} = \frac{[A]}{K_{mA}(1 + \frac{K_{ia}K_{mB}}{K_{mA}[B]}) + [A](1 + \frac{K_{mB}}{[B]})} \quad \text{Ec. 2}$$

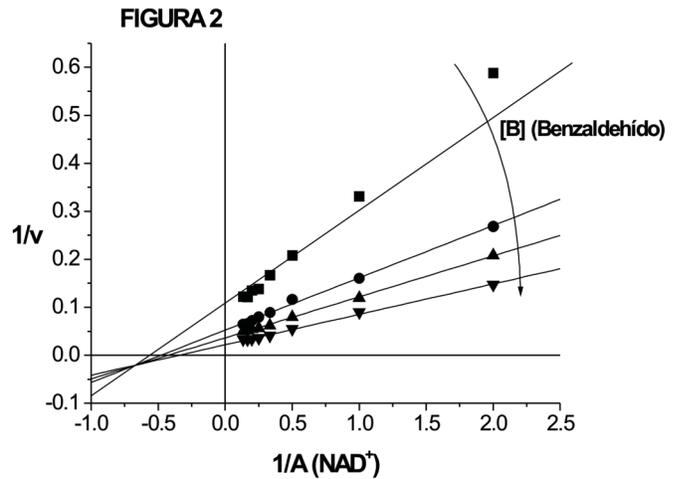
Si graficamos v contra la concentración de NAD⁺ se obtiene la figura 1.

Obteniendo el doble recíproco de la ecuación 2:

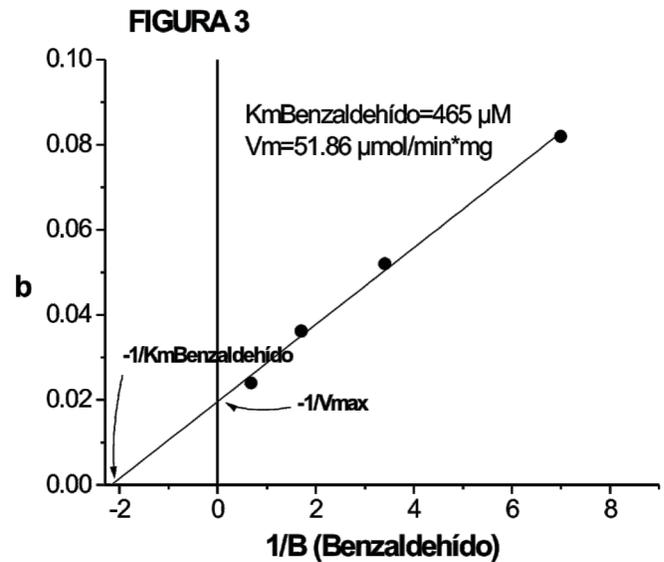
$$\frac{1}{v} = \frac{K_{mA}}{V_{max}} \left(1 + \frac{K_{ia}K_{mB}}{K_{mA}[B]}\right) \frac{1}{[A]} + \frac{1}{V_{max}} \left(1 + \frac{K_{mB}}{[B]}\right) \quad \text{Ec. 3}$$



Graficando 1/v contra 1/A se obtiene la figura 2.



El regráfico del intercepto de las rectas de la figura 2, contra el inverso de [B] nos permite calcular la Km_{benzaldehído}, a partir de la abscisa al origen (Fig. 3).

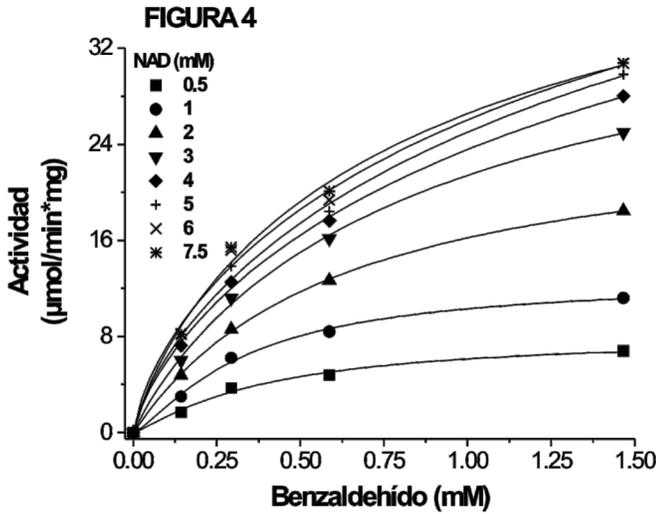


Si variamos B en la ecuación 1 nos queda:

$$\frac{v}{V_{max}} = \frac{[B]}{K_{mB}(1 + \frac{K_{ia}}{[A]}) + [B](1 + \frac{K_{mA}}{[A]})} \quad \text{Ec. 4}$$

Si graficamos v contra la concentración de Benzaldehído, se obtiene la figura 4.

Tabla I.



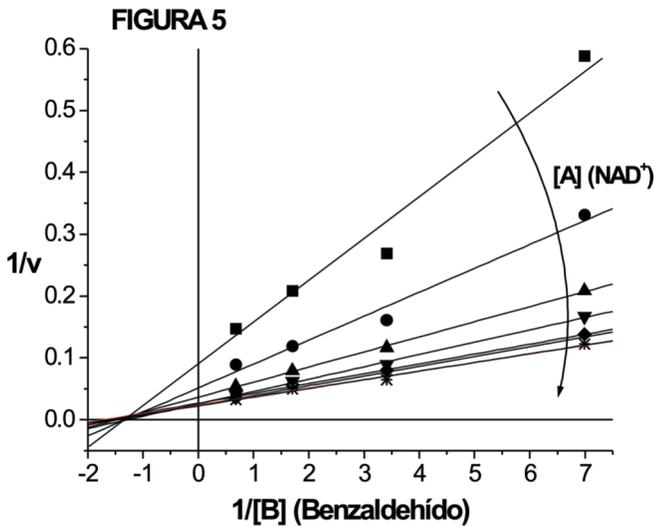
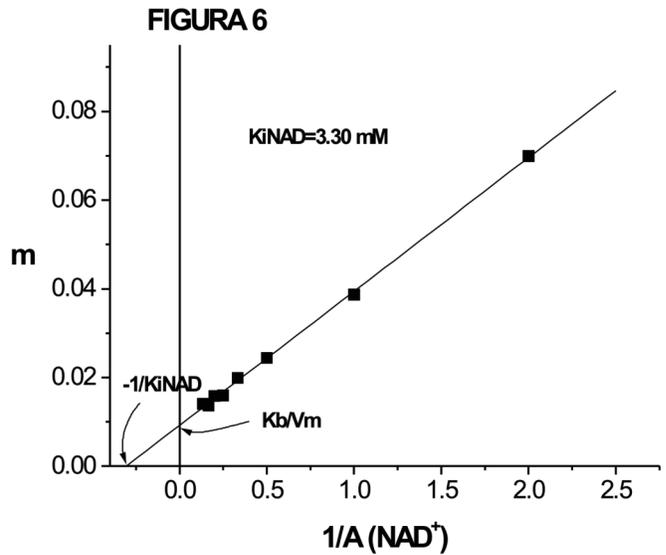
Comparación de los parámetros cinéticos de la ALDH3 silvestre (4), con los parámetros cinéticos obtenidos para la mutante ALDH3 ΔC-terminal, A436S

| | ALDH3 | ALDH3ΔC-Terminal, A436S |
|----------------------|-------|-------------------------|
| Vmax (µmol/min*mg) | 30 | 52 |
| Km Benzaldehído (µM) | 180 | 465 |
| Km NAD (µM) | 4 | 1710 |
| Kia (µM) | 7 | 3300 |

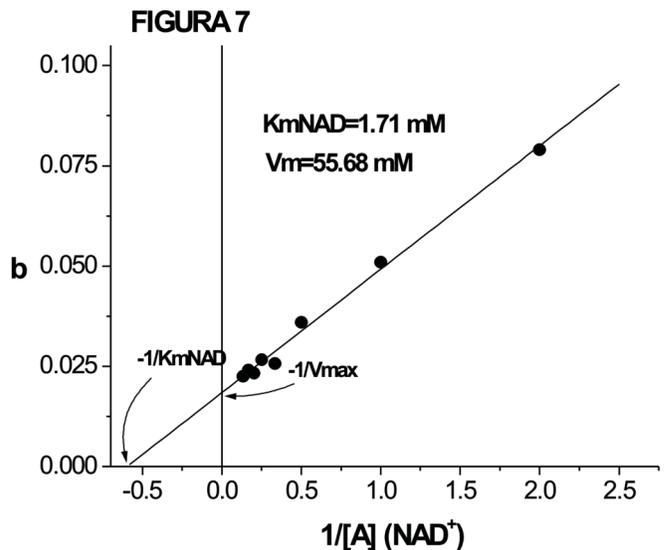
Obteniendo el doble recíproco de la ecuación 4:

$$\frac{1}{v} = \frac{K_{mB}}{V_{max}} \left(1 + \frac{K_{ia}}{[A]}\right) \frac{1}{[B]} + \frac{1}{V_{max}} \left(1 + \frac{K_{mA}}{[A]}\right) \quad \text{Ec. 5}$$

Graficando 1/v contra 1/B se obtiene la figura 5.



Graficando el intercepto de las rectas obtenidas de la figura 5 contra el inverso de [A] se obtiene la Km_{NAD}. Mientras que la Ki_{NAD} se obtiene al graficar la pendiente de las rectas contra el inverso de [A].



La delección de los 17 residuos del C-terminal parece incrementar la actividad de la enzima, aunque de manera no significativa. Esta delección promovió un ligero incremento en la K_m por el benzaldehído (2 veces), mientras que la K_m y la K_i por NAD^+ se incrementaron 427 y 471 veces respectivamente. El hecho de que la mutación afecte solo ligeramente tanto a la actividad como a la K_m de esta enzima por el benzaldehído, y modifique de manera tan impactante la K_m y la K_i por NAD^+ , sugiere que la extensión de aminoácidos en la ALDH3 está involucrada en la estabilización del sitio de unión de la coenzima. Este dato es inesperado, ya que la extensión de aminoácidos se encuentra en una posición diametralmente opuesta al sitio de unión del NAD^+ . Datos de desnaturalización por urea (no mostrados), muestran que la eliminación de los 17 residuos del C-terminal, produce una enzima más estable a la desnaturalización (4).

Como conclusión podemos decir que la extensión de aminoácidos en el C-terminal de la ALDH3, es importante para la estabilidad del sitio de unión de la coenzima, pero

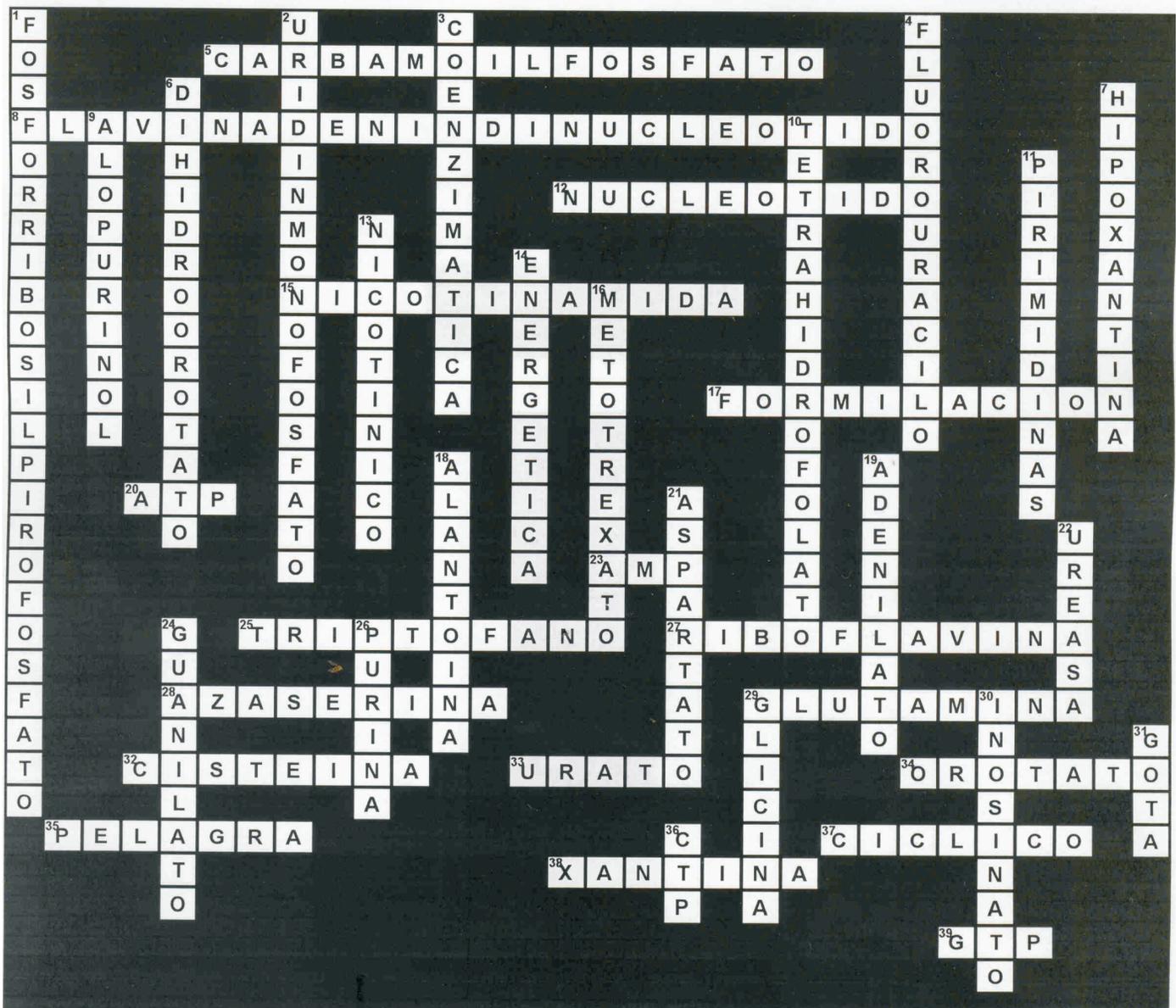
no es el único factor involucrado en la determinación del estado de oligomerización de la enzima. Resultados de nuestro laboratorio con mutantes de la ALDH1 indican que la superficie hidrofóbica expuesta al solvente al formarse los dímeros, es la responsable para el ensamblaje de las subunidades, mientras que la formación de tres enlaces iónicos en forma cruzada entre residuos de subunidades en diferente dímero, son responsables de la estabilización del tetrámero de la ALDH1 una vez ensamblado (5).

REFERENCIAS

1. Hurley T D, Steinmetz C G y Weiner H (1999) *Adv. Exp. Med. Biol.* 463, 15-25.
2. Steinmetz C G, Xie P, Weiner H y Hurley T D (1997) *Structure.* 5, 701-11.
3. Feldman R I y Weiner H (1972) *J Biol Chem.* 247, 267-272.
4. Rodríguez-Zavala J S, y Weiner H (2000) *Chem Biol. Interac.* 130, 151-160.
5. Rodríguez-Zavala J S y Weiner H (2002) *Biochemistry* 41, 8229-8237.

SOLUCIÓN AL CRUCIBIOQ

METABOLISMO DE NUCLEÓTIDOS



LIBROS DE RECIENTE PUBLICACIÓN

Biología Celular y Molecular

Editores: Luis Felipe Jiménez de la Facultad de Ciencias, UNAM y Horacio Merchant del Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM
 Editorial: Prentice Hall/ Pearson Educación de México, S.A. de C.V.
 ISBN: 970-26-0387-0

El libro es el resultado del esfuerzo de muchos años de los coordinadores que durante un congreso decidieron, que resultaría deseable contar con un texto de esta materia realizado por investigadores mexicanos. He revisado el libro y pienso que los coordinadores y autores deben ser felicitados. Se trata de una obra extensa de casi mil páginas divididas en 27 capítulos. Los casi 60 autores son, todos ellos, investigadores reconocidos en nuestro país y lo más importante, expertos en los temas específicos que tratan. El texto que se nos presenta está, hasta donde yo puedo juzgar, bastante actualizado. Es claro que la biología celular y molecular avanza rápidamente y que más vale que los autores y coordinadores se pongan a trabajar ya, en una segunda edición, pues en unos cinco o seis años, la obra tendrá algún rezago. Parece mucho tiempo, pero para una obra de estas dimensiones no lo es. La selección de los capítulos es muy similar a la de otras obras de texto de la materia; hay además algunos temas adicionales que reflejan áreas que han tenido un buen desarrollo en nuestro país.

Cuando uno coordina un curso o una obra e invita a diversos profesores y/o investigadores a participar, hay siempre un problema: lograr mantener a raya a los invitados para que toquen con amplitud el tema general y no se centren en su investigación particular. En mi opinión la obra lo logra bastante bien. Los capítulos que he leído están bien escritos, dando al lector un panorama general del área y al final hay una serie de referencias para consulta. Los capítulos están ilustrados con esquemas, reacciones químicas fundamentales, algunos ejemplos de resultados experimentales e incluso algunas micrografías. En términos generales todos estos elementos ayudan al lector a comprender mejor el tema y están muy bien logrados.

Una de las características generales de las obras internacionales que existen para esta materia, es su gran belleza. Están presentadas con un variadísimo colorido. La obra que nos ocupa está impresa en una forma austera: blanco y negro con diversos tonos de gris. Existen razones muy válidas para ello, como mencionaré en un momento, pero no deja uno de extrañar la falta de colorido. Además, por las características de la impresión, en algunas de las micrografías falta algo de detalle y contraste. Los coordinadores están conscientes de esta limitación y nos presentan como elemento adicional una página en la red (<http://www.pearsonedlatino.com/Jimenez>) que contiene material adicional a todo color y que sin duda será de utilidad para estudiantes y profesores. Sin embargo, si se desea competir al nivel de los países de habla hispana, la falta de color es una limitante.

Un acierto en la presentación de los capítulos es la presencia de recuadros en los amplios márgenes exteriores de las páginas, con breves resúmenes de lo que se va tratando y que le permiten al estudiante rápidamente repasar los elementos básicos del tema. Todos hemos sido estudiantes y sabemos que el tiempo pocas veces alcanza por lo que estas ayudas seguramente serán muy agradecidas. Quiero mencionar también que la página en la red antes mencionada tiene algunos exámenes tipo, que pueden ayudar al alumno a prepararse mediante una autoevaluación interactiva.

Una de las preguntas que uno se hace cuando ve una obra como la presente es ¿para qué escribir un texto de Biología Celular y Molecular si ya hay varios realmente excelentes? La primera respuesta es, por supuesto, preguntar ¿por qué no hacerlo? Pensar que no podemos aportar obras de calidad a la docencia es un error, como lo demuestra la obra y la aceptación tácita de una dependencia colonial que no deseamos. Deseamos hacer buena ciencia y por qué no, también transmitirla a los estudiantes. En segundo lugar, las buenas obras que existen están escritas en inglés y las traducciones a nuestra lengua son frecuentemente malas, quitándole el brillo expresivo al autor y frecuentemente con muchos errores. No hay duda que sería deseable que todos los estudiantes dominaran nuestra lengua y la inglesa, pero esto no es así y tampoco lo

va a ser en un futuro previsible. Por otro lado, creo que se logra una mejor comunicación con los estudiantes usando nuestra bella lengua en el original.

Un aspecto de gran importancia y que limita el uso de recursos como el color y el detalle en la impresión, es el precio. Todos quisiéramos que México fuera un país donde las limitaciones económicas no bloquearan los deseos de progreso y superación. Pero la realidad no es así, ni lo será en el futuro inmediato. Los estudiantes de educación media superior y superior a los que está destinada la obra, no cuentan, en mi experiencia de más de 25 años como profesor, con los recursos para comprar una obra por materia de estudio. La obra en cuestión cuesta solo una fracción de lo que otras de nivel similar en inglés o traducidas. Sin duda en este sentido también la obra es una

contribución para lograr el desarrollo y la capilaridad social que proporciona la educación. Las bibliotecas son insuficientes.

Recomiendo a los lectores entrar a la página de este libro para que puedan ver los títulos y autores de la obra y algunas otras de sus características. Finalizo reiterando mi felicitación a los autores y coordinadores de BIOLOGIA CELULAR Y MOLECULAR y a la editorial.

Comentarista
J. Adolfo García Saínz
Instituto de Fisiología Celular
Universidad Nacional Autónoma de México



**Comercializadora
e
Importadora de
Productos Químicos
S.A. de C.V.**

Proveedores de Insumos Nacionales e Importados para la
Industria Farmacéutica, Química, Cosmética, Alimenticia,
Hospitalaria e Investigación

- * Biología Molecular * Fibrosis
- * Inmunología * Microbiología
- * Farmacología * Validación
- * Bioquímica * Virología
- * Equipos para Laboratorio * Inmuno química
- * Etc.

Somos tu mejor opción, cotizaciones en menos de
24 horas, Excelente tiempo de entrega,
contáctanos.

Calle 3 Privada Alicia Mz. 8 Lote 3 Col. Cuchilla Pantitlan,
México, D. F. Tel.5115-4708 Tel./Fax:5758-9726 E-Mail:
cipquim@hotmail.com

PREMIO NOBEL DE QUÍMICA 2003: RODERICK MACKINNON Y LA ULTRAESTRUCTURA DE LOS CANALES IÓNICOS.

El premio Nobel de Química 2003 fue otorgado a Peter Agre de la Universidad Johns Hopkins en Baltimore y Roderick MacKinnon de la Universidad Rockefeller en Nueva York por sus descubrimientos acerca de los "canales presentes en las membranas de las células". El trabajo de Agre, nacido en Minnesota, EUA en 1949, se centra en el estudio de los canales que permiten el paso de agua hacia el interior de las células. Por su parte MacKinnon, originario de Massachusetts, EUA y con sólo 47 años de edad, se hizo merecedor de dicha distinción por sus investigaciones acerca de la estructura y del mecanismo por el cual funcionan otro tipo de canales: los canales iónicos. Los canales iónicos son diminutos poros hidrofílicos que se encuentran en la membrana celular y cuya función básica es permitir el flujo de iones inorgánicos como potasio y sodio, entre otros. Aunque las aportaciones de Agre son muy sobresalientes, este artículo se enfocará exclusivamente en los estudios realizados por MacKinnon, debido a que el campo de investigación del que escribe estas líneas se relaciona más con el de este último galardonado.

Utilizando como herramientas principales la cristalografía de rayos X y la electrofisiología, MacKinnon ha logrado dilucidar la estructura tridimensional de los canales iónicos que permiten el flujo de potasio, así como determinar las regiones de la proteína asociadas con las características distintivas del funcionamiento de dichos canales. Los descubrimientos de MacKinnon representan un avance sin precedentes en el entendimiento de la biología y biofísica de los canales iónicos, labor que se inició con los trabajos pioneros de Hodgkin y Huxley en el axón gigante del calamar hace ya más de 50 años. La labor de MacKinnon resulta ser más sorprendente si se considera que en su todavía joven trayectoria de investigador, la tercera parte de los casi 70 artículos publicados hasta ahora son trabajos en *Nature* y *Science*, las dos revistas científicas de mayor impacto en el área. A continuación revisaremos algunos conceptos básicos que nos ayudarán a comprender el extraordinario trabajo de MacKinnon.

Los canales iónicos son complejos de proteínas que se encuentran en la membrana de todas las células, desde las bacterias hasta los organismos superiores como animales y plantas. En todas ellas, la función de los canales iónicos es la de permitir el flujo de iones entre el interior y el exterior

de la célula. Dentro de las diferentes clases de canales iónicos se encuentra la superfamilia de los canales activados por voltaje, integrada por los canales de sodio, de potasio, de calcio y de cloro; es decir, canales que permiten el flujo selectivo de iones Na^+ , K^+ , Ca^{2+} y Cl^- , respectivamente, en respuesta a cambios en el potencial de la membrana (V_m). La estructura proteica básica de este tipo de canales (obtenida en gran medida con base en estudios bioquímicos y de biología molecular) consiste de una subunidad principal codificada por un solo gen, denominada α . La subunidad α forma el poro hidrofílico que permite el flujo de iones y contiene regiones especializadas que determinan la selectividad del canal, así como la propiedad de detectar los cambios de V_m (sensor de voltaje). En algunos canales la subunidad α puede estar acompañada por subunidades accesorias como β , γ , y δ , las cuales son polipéptidos más pequeños que α y su función consiste en modular el funcionamiento de esta última. En el caso de los canales de K^+ , la cadena polipeptídica que forma la subunidad α puede atravesar la membrana dos, cuatro y hasta seis veces, dependiendo del subtipo de canal que se trate. A la parte de la proteína que atraviesa la membrana de un lado al otro se le conoce como segmento transmembranal y se numeran S1 a S6, según sea el caso. Para que un canal de K^+ sea funcional se requiere que se unan cuatro subunidades α . El arreglo de las cuatro subunidades en el plano de la membrana forma un poro central por el que se conducen los iones.

Después de realizar estudios de mutagénesis durante 10 años sin encontrar la respuesta de como funciona un canal de K^+ , MacKinnon decidió que la cristalografía podía proporcionarle la respuesta anhelada. El primer obstáculo que tuvo que librar fue el de aprender por sí mismo cristalografía, pues su formación era básicamente biofísica. Aunado a ello, la cristalización de canales iónicos plantea un problema adicional, pues se trata de proteínas hidrofóbicas, es decir, proteínas que aborrecen el agua. Para formar cristales, las proteínas deben purificarse y producirse en cantidades considerables (del orden de 2-50 mg/ml) en un ambiente rodeado por agua. La obtención de cristales es crucial para los estudios de difracción de rayos X. Por definición, los cristales contienen un patrón repetido de la misma molécula. La difracción de los rayos

X de una sola molécula no proporciona información suficientemente confiable. Así, después de haber invertido 3-4 años y librado una gran cantidad de obstáculos técnicos, MacKinnon y su grupo de investigación (constituido en un principio únicamente por su esposa y un investigador posdoctoral) lograron cristalizar proteínas de canales de K^+ , de los cuales registraron los patrones de difracción producidos por los rayos X, mismos que fueron interpretados matemáticamente por una computadora. Como resultado se obtuvo una imagen tridimensional de la estructura de la molécula. La resolución de la estructura molecular que MacKinnon ha obtenido de los canales de K^+ es de 2.0 Å (1 Å = 1×10^{-7} milímetros).

La estructura atómica revelada por los descubrimientos del grupo de MacKinnon ha respondido varias preguntas acerca de los mecanismos básicos de la función de los canales de K^+ , no obstante, en este artículo me concentraré únicamente en tres aspectos: sensor de voltaje, apertura del canal y selectividad iónica.

Sensor de Voltaje

El modelo con que se contaba hasta principios del 2003 para el funcionamiento del sensor de voltaje de los canales activados por voltaje proponía al segmento S4, caracterizado por la presencia de aminoácidos con carga positiva (argininas y lisinas, principalmente) cada tres residuos, como la estructura responsable de detectar los cambios en el V_m . Asimismo, se pensaba que el segmento S4 se encontraba rodeado por el resto de la proteína que forma la subunidad 1, protegiendo así la cargas positivas del ambiente hidrofóbico de los lípidos. Dicho modelo proponía además una orientación paralela del sensor de voltaje respecto al poro del canal. En respuesta a una despolarización, las cargas positivas del sensor de voltaje se desplazarían sobre su propio eje hacia la cara externa de la membrana celular, acoplado así el cambio en el V_m con la apertura del canal iónico. Sin embargo, los resultados obtenidos por MacKinnon con la cristalografía de rayos X de un canal de K^+ activado por voltaje plantean un modelo muy diferente (e inesperado) para el sensor de voltaje. La estructura tridimensional de dicho canal de K^+ (cristalizado de la arqueobacteria termófila *Aeropyrum pernyx*) confirmó que la estructura involucrada en el sensor de voltaje es en efecto el segmento S4 (aunque el extremo carboxilo del segmento S3 también contribuye a la estructura y al movimiento del sensor); sin embargo, su ubicación y orientación son completamente inesperados. Los resultados ubican al sensor de voltaje en un plano perpendicular al eje del poro del canal y rodeando el perímetro externo del canal, en la interfase lípido-agua de la membrana. El nuevo

modelo plantea que, en respuesta a un estímulo despolarizante, el sensor de voltaje se desplaza desde la superficie intracelular de la membrana hasta la superficie extracelular, a través de la bicapa lipídica, semejando un “golpe de remo”, el cual ejerce una fuerza sobre los segmentos S5 y S6 alejándolos del eje del poro, produciendo así la apertura del canal.

La observación de que las cargas de los aminoácidos que constituyen el sensor de voltaje se mueven en la interfase lípido-agua de la membrana y que la orientación del sensor mismo es perpendicular al eje del poro, originó varios cuestionamientos acerca de la viabilidad del nuevo modelo, y de hecho, se contraponen con evidencias electrofisiológicas que favorecen una orientación paralela al eje del poro y protegido del ambiente lipídico por el resto de la proteína que conforma la subunidad 1. No obstante, los resultados que fundamentan el modelo de MacKinnon lucen bastante contundentes, cuando menos para el caso de los canales de K^+ (1). Por supuesto, resultará interesante saber si este mismo modelo se conserva por ejemplo, en los canales de Na^+ y de Ca^{2+} .

Apertura del canal

La estructura tridimensional del primer canal reportada por MacKinnon en 1998 (2), fue la del canal KcsA (canal de K^+ de *Streptomyces lividans*) y representa la configuración del canal en su estado cerrado. El análisis de rayos X mostró que el canal KcsA está compuesto de cuatro subunidades idénticas, cada una formada por dos segmentos transmembranales (S1 y S2), que al distribuirse en el plano de la membrana lipídica forman una especie de cono alojando el filtro de selectividad (véase más adelante) en la parte externa del poro. Ambos extremos del canal están formados por vestíbulos acuosos revestidos con aminoácidos hidrofóbicos. A la entrada de dichos vestíbulos se forman anillos de cargas negativas proporcionadas por aminoácidos ácidos, que sirven como “anzuelo” para atraer iones positivos hacia el poro. Debido a la similitud en la secuencia de aminoácidos del canal KcsA con la de todos los canales de K^+ conocidos a la fecha, sobre todo en la región del poro del canal, se puede inferir que la estructura del canal KcsA representa en gran medida el estado cerrado de los canales de K^+ en general. Cuatro años más tarde, MacKinnon publicó la estructura de un canal de K^+ cuando se encuentra en el estado abierto, a partir de lo cual se puede explicar el mecanismo de apertura de estos canales. Para obtener la estructura del canal abierto MacKinnon recurrió a un canal de K^+ activado por calcio cristalizado de la arqueobacteria *Methanobacterium thermoautotrophicum*. La cristalización del canal se llevó a cabo a concentraciones de calcio que inducen la apertura

del canal cuando éste se encuentra en la membrana de dicha bacteria. El análisis de la estructura del canal abierto mostró que las hélices (arreglo de la cadena polipeptídica en el interior de la membrana) que forman la pared interna del poro presentan un doblamiento de 30 grados en el lado intracelular de la proteína. El plegamiento de las hélices internas genera una cavidad que se hace continua con el citoplasma, permitiendo el libre acceso del flujo iónico entre este último y el filtro de selectividad. Dicho doblez se debe a un residuo de glicina, cuya cadena lateral le permite adoptar varios ángulos, por lo que este residuo confiere flexibilidad en puntos específicos de las estructuras proteicas. De esta manera, la glicina (que se encuentra conservada en todos los canales de K^+ activados por voltaje y por ligando) estaría funcionando como una bisagra que da lugar a los estados cerrado y abierto de los canales de K^+ . En la configuración abierta el poro es muy amplio, midiendo 12 Å en su punto más angosto, lo cual es consistente con experimentos electrofisiológicos previos que muestran la capacidad de cationes orgánicos tan grandes como los derivados cuaternarios del amonio (tetrabutilamonio, por ejemplo) para bloquear las corrientes de K^+ desde la cara intracelular del canal.

Selectividad iónica.

El papel catalítico de los canales de K^+ es el de conducir iones a través de la membrana celular. Tal función es desempeñada con un grado de eficiencia tan alto que permite el flujo de iones en el orden de 3×10^7 iones s^{-1} , lo cual se logra sin comprometer la selectividad del canal, ya que por cada 1000 iones K^+ que atraviesan el canal sólo un ión Na^+ logra tal fin. El filtro de selectividad de los canales de K^+ presenta una secuencia de aminoácidos que se conserva en todos los miembros de la familia: GYG (glicina-tirosina-glicina), la cual es absolutamente indispensable para la selectividad del canal. Los resultados obtenidos por MacKinnon revelaron que el filtro de selectividad del canal KcsA se ubica hacia la parte externa (extracelular) del canal y tiene sólo 3 Å de diámetro y 12 Å de longitud. Alrededor del punto medio de la membrana el poro se ensancha a casi 10 Å de diámetro formando una cavidad acuosa, cuyas paredes están revestidas por

aminoácidos hidrofóbicos. Las características de esta cavidad permiten estabilizar y mantener hidratados a los iones K^+ en el centro de la membrana. En el filtro de selectividad se pueden acomodar dos iones K^+ deshidratados en fila, separados ~ 7.5 Å uno de otro. Los átomos de las cadenas laterales de los aminoácidos que forman el filtro de selectividad (GYG) mimetizan las moléculas de agua alrededor del ión K^+ , de tal suerte que los iones difunden del agua hacia el filtro de selectividad, donde el costo energético de la deshidratación es compensado. Lo anterior no ocurre para otros iones como el Na^+ que es más pequeño; de hecho, en presencia de bajas concentraciones de K^+ (3 mM) y de una elevada concentración de Na^+ (150 mM), el filtro de selectividad sufre un cambio conformacional hacia un estado colapsado. En su conjunto, las características del filtro de selectividad propician un flujo iónico muy rápido basado en las fuerzas de repulsión electrostática entre los iones K^+ , mismas que se sobreponen a la fuerza de atracción entre los mismos iones y el filtro de selectividad.

Los trabajos de cristalografía realizados por MacKinnon representan un avance muy significativo para el entendimiento de la relación entre la estructura de los canales iónicos y su funcionamiento y al mismo tiempo, inician una nueva era en la que seguramente los resultados por venir serán todavía más sorprendentes.

REFERENCIAS

1. Jiang Y, Ruta V, Chen J, Lee A, y MacKinnon R (2003) The principle of gating charge movement in a voltage-dependent K^+ channel. *Nature* 423: 42-48.
2. Doyle DA, Morais Cabral J, Pfuetzner RA, Kuo A, Gulbis JM, Cohen SL, Chait BT, y MacKinnon R (1998) The structure of the potassium channel: molecular basis of K^+ conduction and selectivity. *Science* 280: 69-77.

Juan Carlos Gómora Martínez
Departamento de Biofísica, Instituto de Fisiología Celular
Universidad Nacional Autónoma de México

SEMANA DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA 2004

XII CONGRESO DE LA ASOCIACIÓN MEXICANA DE PROFESORES DE BIOQUÍMICA, A. C.

y

XXXI TALLER DE ACTUALIZACIÓN BIOQUÍMICA,

Organizado por el Departamento de Bioquímica,
Facultad de Medicina, U. N. A. M.

Fecha: del 9 al 13 de agosto de 2004

Lugar. Auditorio Raoul Fournier, Facultad de Medicina, U. N. A. M.

Informes e inscripciones:

Teléfonos: (55)5623-2170, (55)5623-2175 y Fax (55)5616-2419

Sra. Marivel Rojas García

XXXI TAB: comitetab@bq.unam.mx

XII Congreso: reb@laguna.fmedic.unam.mx

Visite nuestra página: <http://bq.unam.mx/%7Eevazquez/tab/>

Departamento de Bioquímica: <http://bq.unam.mx/>

Comités Organizadores

Del XXXI TAB

Dr. Oscar Flores Herrera

oflores@bq.unam.mx

Dr. Héctor Riveros Rosas

hriveros@servidor.unam.mx

Dr. Alejandro Sosa Peinado

asosa@bq.unam.mx

Dr. Edgar Vázquez Contreras

Del XII Congreso

Dra. Yolanda Saldaña Balmori

balmori@laguna.fmedic.unam.mx

Dra. Celia Virginia Sánchez Meza

sanchezvicky@hotmail.com

Dra. Rocío Salceda Sacanelles

rsalceda@ifc.unam.mx

XII CONGRESO DE LA ASOCIACIÓN MEXICANA DE PROFESORES DE BIOQUÍMICA, A. C. 2004

La Semana de Educación Bioquímica 2004, que se realizará en el Auditorio Raoul Fournier de la Facultad de Medicina en la Universidad Nacional Autónoma de México del 9 al 13 de agosto del presente año, tendrá en sus actividades durante los días 9 y 10 al XII Congreso de la Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, A. C. y los días 11, 12 y 13 se llevará a cabo el XXXI Taller de Actualización Bioquímica, ambas actividades organizadas con el apoyo del Departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina de la UNAM.

Una de las funciones de la Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, A. C., es la de dar servicio e información tanto a sus Asociados como a los que no lo sean, en lo relacionado con la enseñanza de la Bioquímica, con la publicación de la Revista de Educación Bioquímica y con la organización del Congreso Anual.

Al igual que en el año anterior y tal como se había previsto, el tema central del Congreso será: **“Diagnóstico de la Enseñanza de la Bioquímica en México”** ya que sólo a través de algunos años podremos reunir información que nos permita acercarnos a conocer la realidad al respecto; durante el Congreso habrá conferencias magistrales y presentaciones libres.

La Asociación tiene el compromiso ante los bioquímicos del país, de poseer y en su caso proporcionar información de las universidades o centros de enseñanza superior en donde existan las carreras de Agronomía, Biología, Ciencias Químicas, Enfermería, Medicina, Nutrición, Odontología, Psicología, Veterinaria, u otra en donde se enseñe bioquímica.

Por tal razón es importante conocer las características de la materia de Bioquímica en las diferentes escuelas o facultades del campo biológico arriba mencionadas, tal es el caso de: A) los planes de estudio, B) los diferentes programas, C) la duración de ellos, D) los materiales de

apoyo (libros, prácticas u otros), E) los índices de inscripción, F) los porcentajes de acreditación, G) de reprobación, H) de deserción, etc.

Para realizar el diagnóstico propuesto y con la finalidad de dar mejor servicio, nos estamos dirigiendo por este conducto a todos los involucrados en el proceso: ya sean directivos de la correspondiente carrera, jefes de Departamento de Bioquímica, coordinadores de la materia, organizadores de curso y profesores, para invitarles a que participen en el XII Congreso de la Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, A. C. presentando sus datos ya sea en forma oral o en cartel.

Para la participación es indispensable enviar un resumen que deberá ser escrito en letra Arial 10 a 11 puntos, con una extensión máxima de una cuartilla, a espacio sencillo y con un margen de 2.5 cm por lado. En el resumen se debe especificar: título (a mayúsculas), autores y adscripción, introducción, contenido, resultados, discusión y conclusiones. Le pedimos cuidar su presentación y ortografía pues los resúmenes serán publicados en las memorias que se elaborarán en ocasión del XII Congreso tal y como se envíen.

Al original de su trabajo, el cual no deberá tener borrones ni tachaduras, se anexarán de tres copias del mismo, además de la forma de registro y de la fotocopia del pago de su inscripción al Congreso deberá enviarse sin doblar por correo al apartado postal de la Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica o entregarlos personalmente a la Sra. Marivel García Rojas, en las oficinas de la Asociación en el Departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina, UNAM. Los trabajos también podrán enviarse por correo electrónico a cualquiera de las direcciones abajo mencionadas; no se aceptarán envíos por Fax. Se sugiere que la presentación del resumen se apegue al siguiente ejemplo:

LOS APOYOS DIDÁCTICOS EN LA ENSEÑANZA DE BIOQUÍMICA EN LA FACULTAD DE AGRONOMÍA DE LA UNIVERSIDAD DEL DESIERTO.

Isabel Trujillo Mier, Mariano Rodríguez Anaya y Carlos Báez Macías. Departamento de Bioquímica, Facultad de Agronomía, Universidad del Desierto. Av. Lluvia No.22, Acueducto, S. L. P.

RESUMEN...

Fecha límite para el envío de resúmenes: **8 de Julio de 2004.**

Rojas García en el Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, UNAM.

INFORMES: reb@bq.unam.mx Teléfono: 01 (55) 5623-2170 Fax: 01(55) 5618-2419

COSTOS

Socios:

Inscripción y pago de

Membresía anual MN \$ 300.00

No socios:

Inscripción MN \$ 350.00

El pago deberá hacerse en Sucursales del Banco BBVA Bancomer a nombre de la Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, A. C. en la cuenta 0133718123 Sucursal Perisur (3517).

Enviar sus resúmenes junto con una copia de su depósito con sellos bancarios visibles, a: Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, A. C. al Apartado Postal 70-281, C. P. 04510, México, D. F. o entregar a Sra. Marivel

COMITÉ ORGANIZADOR DEL CONGRESO

Dra. Yolanda Saldaña Balmori

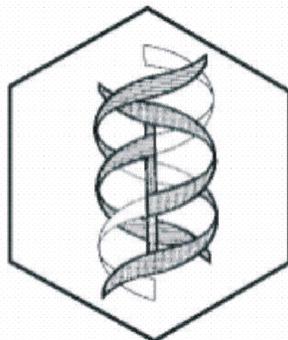
balmori@laguna.fmedic.unam.mx

Dra. Virginia Sánchez Meza

sanchezvicky@hotmail.com

Dra. Rocío Salceda Sacanelles

rsalceda@ifc.unam.mx



XII Congreso de la Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, A. C.

9 y 10 de agosto de 2004, Auditorio Raoul Fournier, Facultad de Medicina, UNAM

FORMA DE REGISTRO

Nombre _____ Apellidos _____
 Miembro de la Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, A. C. Si No
 Jefe de Departamento Coordinador de la materia Profesor
 Nombre de la materia _____
 Departamento _____
 Escuela o Facultad _____
 Universidad _____
 ¿Conoce la Revista de Educación Bioquímica (REB), antes BEB? Si No
 ¿La recibe? Si No En caso de no recibirla ¿le gustaría recibirla? Si No

La REB estará disponible en Internet en próxima fecha, para incluirlo en el directorio envíenos su o sus:

Correo(s) E: _____

Domicilio Institucional

Calle y Número _____
 Colonia _____ Ciudad _____
 Estado _____ C. P. _____ Teléfono _____ Fax _____

Domicilio Particular

Calle y Número _____
 Colonia _____ Ciudad _____
 Estado _____ C. P. _____ Teléfono _____ Fax _____
 Sitio donde desea recibir su correspondencia: Domicilio institucional Domicilio particular

Trabajos enviados al Congreso

Número de resúmenes enviados: _____

Título de el o los trabajos:

Indique la forma en que desee hacer su presentación: Oral Cartel Indistinto

Pago realizado a la Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, A. C. MN \$

PROGRAMA

Lunes 9 de agosto de 2004

- 8:00 11:00 h **Registro e Inscripciones.**
- 11:00 11:15 h **INAUGURACIÓN de la Semana de Educación Bioquímica 2004**
Dr. José Narro Robles, Director de la Facultad de Medicina, UNAM
- 11:15 12:15: h **Conferencia**
EL TRIPANOTIÓN Y LA TRIPANOTIÓN REDUCTASA DE *Entamoeba histolytica*: UN NUEVO “BLANCO” A DROGAS.
Dr. Raúl N. Ondarza Vidaurreta, Departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina, UNAM y Centro de Investigación en Enfermedades Infecciosas, Instituto Nacional de Salud Pública.
- 12:15 12:30 h **RECESO**
- 12:30 13:30 h **Conferencia**
ESTRATEGIA DE EVALUACIÓN CURRICULAR EN BIOQUÍMICA
Dr. Federico Martínez Montes, Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, UNAM
- 13:30 14:30 h **Presentaciones de trabajos (15-20 min cada uno).**
- 14:30 - 16:00 h **RECESO**
- 16:00 17:00 h **Conferencia**
LAS MITOCONDRIAS EN LA HERENCIA MATERNA
Dra. Graciela Meza Ruíz, Instituto de Fisiología Celular, UNAM.
- 17:00 17:30 h **RECESO**
- 17:30 18:30 h **Presentación del Observatorio de Visualización, UNAM “Ixtli” en la**
Dirección General de Servicios de Cómputo Académico, UNAM

Martes 10 de agosto de 2004

- 11:00- 12:00 h **Conferencia**
ANDRÓGENOS Y PROGESTINAS SINTÉTICAS EN CÁNCER DE MAMA
Dr. Gregorio Pérez Palacios, Coordinador de Investigación, Facultad de Medicina, UNAM
- 12:00- 13:00 h **Conferencia**
CIENCIA Y EDUCACIÓN: EL CONFLICTO HUMANO-TECNOLÓGICO
Dr. Leopoldo de Meis, Departamento de Bioquímica Médica, Instituto de Ciencias Biomédicas, Universidad Federal de Río de Janeiro, Brasil
- 13:00- 13:15 h **Receso**
- 13:15- 14:30 h **Presentaciones de trabajos (15-20 min cada uno.)**
- 14:30 - 16:00 h **RECESO**
- 16:00 18:00 h **Presentaciones de trabajos (15-20 min cada uno.)**
- 18:00 19:00 h **CARTELES**
- 19:00 h **CLAUSURA del XII Congreso de la Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, A. C.**

ASOCIACIÓN MEXICANA DE PROFESORES DE BIOQUÍMICA, A C.

CONVOCATORIA PARA NUEVOS SOCIOS

Se invita a los profesores de Bioquímica y ciencias afines, de los distintos centros educativos del país a inscribirse como miembros activos.

Requisitos:

- 1.- Ser Profesor de Bioquímica o materia afín
- 2.- Presentar carta solicitud
- 3.- Ser propuesto por dos socios activos
- 4.- Presentar *curriculum vitae* el cual será evaluado por la Comisión de Admisión
- 5.- Pago de registro MN \$ 200.00 (el pago deberá hacerse en las sucursales del Banco BBVA Bancomer a nombre de la Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, A C en la cuenta 0133718123 Sucursal Perisur (3517) en México, D F y entregar comprobante)

Beneficios:

- 1.- Durante la asistencia al Congreso Anual de la Asociación:
 - a) Actualización en diversos temas.
 - b) Establecer lazos de comunicación entre los docentes a nivel nacional.
 - c) Información editorial de libros de bioquímica.
 - d) El pago anual de su membresía incluye un descuento en el pago de la inscripción al Congreso.
- 2.- Acceso a información de interés:
 - a) Derecho a recibir la Revista de Educación Bioquímica (REB).
 - b) Acceso a un banco de preguntas de la materia.
 - c) Apoyos didácticos para la impartición de la clase.
 - d) Nombres y direcciones de los miembros de la Asociación.
 - e) Acceso al directorio de Departamentos de Bioquímica de diferentes universidades.
 - f) Disponer, una vez elaborado, de un catálogo de información de programas de bioquímica.
- 3.- Asesoría para la elaboración de posibles publicaciones en la REB.
- 4.- Vínculo entre la Sociedad Mexicana de Bioquímica, A C y las universidades del país, para la organización de cursos de difusión, seminarios, pláticas o conferencias.

XXXI TALLER DE ACTUALIZACIÓN BIOQUÍMICA

Departamento de Bioquímica Facultad de Medicina, UNAM

Auditorio Raúl Fournier, del 11 al 13 de agosto de 2004.

| MIÉRCOLES | JUEVES | VIERNES |
|--|---|--|
| 8:30-9:30 Registro e Inscripciones | 9:00-10:10 Dr. Rogelio Hernández Instituto Nacional de la Nutrición <i>"Inmunopatología de la tuberculosis pulmonar experimental"</i> | 9:00-10:10 Dr. Guillermo Elizondo: CINVESTAV, IPN <i>"Uso de Ratones Transgénicos en la Farmacología y Toxicología"</i> |
| 9:30-10:00 INAUGURACIÓN | | |
| 10:00-11:15 Dr. Leopoldo De Meis Universidad Federal de Río de Janeiro, Brasil <i>"El mecanismo de transducción de energía en sistemas biológicos"</i> | 10:10-11:20 Dr. Julio Polaina Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Valencia, España <i>"Ingeniería molecular de enzimas implicadas en la digestión de carbohidratos"</i> | 10:10-11:20 Dr. Luis Vaca Instituto de Fisiología Celular, UNAM <i>"RNA interferente: una herramienta y un novedoso mecanismo de regulación génica"</i> |
| 11:15-11:40 RECESO | 11:20-11:40 RECESO | 11:20-11:40 RECESO |
| 11:40-12:50 Dr. Alfredo Saavedra Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo <i>"Papel patofisiológico del óxido nítrico mitocondrial"</i> | 11:40-12:50 Dr. Gustavo Viniegra Universidad Autónoma Metropolitana: Iztapalapa <i>"La ingeniería metabólica requiere una nueva didáctica de la bioquímica (el caso de la glucólisis)"</i> | 11:40-12:50 Dr. Félix Recillas Instituto de Fisiología Celular, UNAM <i>"Participación de la estructura de la cromatina en la regulación de la expresión génica"</i> |
| 12:50-14:00 Dr. Ricardo Tapia Instituto de Fisiología Celular, UNAM <i>"Mecanismos de Neurodegeneración"</i> | 12:50-14:00 Dra. Rosario Muñoz Facultad de Química, UNAM <i>"Genio y figura de la betaina aldehído deshidrogenasa"</i> | 12:50-14:00 Dra. Estela Sánchez Facultad de Química, UNAM <i>"Mecanismos de control traduccional en plantas"</i> |
| 14:00-16:00 COMIDA | 14:00-16:00 COMIDA | 14:00-14:20 CLAUSURA |
| 16:00-17:00 Dr. Leopoldo De Meis Universidad Federal de Río de Janeiro, Brasil <i>"La mitocondria en 3 actos"</i> Proyección de audiovisual comentado por el propio autor. (Auditorio Guevara Rojas, Fac. Medicina, UNAM) | 16:00-17:00 Dr. Gustavo Viniegra UAM: Iztapalapa <i>"La ingeniería metabólica requiere una nueva didáctica de la bioquímica (el caso de la glucólisis)". Segunda Parte</i> | |
| | 17:00-18:00 Dr. Fernando Basurto Universidad del Estado de Morelos Presentación: <i>"La Guía Interactiva de Química"</i> | 17:00-18:00 Dra. Geneviève Lucet Dir. Gral. Computo Académico, UNAM <i>"Realidad Virtual como una herramienta para el desarrollo de las ciencias Biomédicas III"</i> Sala Ixtli, en DGSCA |
| 18:30-19:30 Dra. Geneviève Lucet Dir. Gral. Computo Académico, UNAM <i>"Realidad Virtual como una herramienta para el desarrollo de las ciencias Biomédicas I"</i> Sala Ixtli, en DGSCA | 18:30-19:30 Dra. Geneviève Lucet Dir. Gral. Computo Académico, UNAM <i>"Realidad Virtual como una herramienta para el desarrollo de las ciencias Biomédicas II"</i> Sala Ixtli, en DGSCA | |

VOCABULARIO INGLÉS ESPAÑOL DE BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR

(3^a entrega)

GONZALO CLAROS,¹ VERÓNICA SALADRIGAS² Y DIEGO GONZÁLEZ-HALPHEN³

Artículo reproducido con autorización de Panacea@, Boletín de Medicina y Traducción 2003; 4 (12) 136-142.
<http://www.medtrad.org/panacea/PanaceaPDFs/Junio2002.htm>

Abzyme: aczima.

Anticuerpo con actividad catalítica (por ejemplo, actividad de ribonucleasa).

Observación: el término *abzyme* por *antibody enzyme* se debería verter al español respetando la abreviatura española de anticuerpo y no la inglesa; es decir, la *ab* de *antibody* debería convertirse en la *ac* de *anticuerpo*.

annealing: hibridación, apareamiento.

Unión de dos hebras de ácido nucleico por complementariedad de bases; por ejemplo, el apareamiento de dos hebras de ADN para formar una doble hélice.

antizymes: antizimas.

Familia de proteínas pequeñas que se unen y desestabilizan a la enzima ornitina-d Descarboxilasa (ODC). La antizima se induce en presencia de poliaminas y se une a la ODC para formar heterodímeros que carecen de actividad enzimática. No son «antienzimas».

back mutation: retromutación.

→ REVERSION.

base analog: análogo de base.

Base púrica o pirimidínica que presenta una estructura ligeramente distinta de la de una base convencional, de modo que si ocupa el lugar de esta última en el momento en que se sintetiza una hebra de ácido nucleico puede dar lugar a mutaciones por transición. Son ejemplos de análogos de base la aminopurina, la azaguanina, el 5-bromouracilo y la mercaptopurina. Los análogos de nucleósidos se comportan de manera parecida. Véase BASE-PAIR SUBSTITUTION.

base-pair substitution: sustitución, sustitución de bases.

Tipo de mutación en la que se sustituye un par de bases por otro en la secuencia de un ácido nucleico. Las sustituciones se clasifican a su vez en transiciones y transversiones.

a) Transition (transición): sustitución de una base púrica por otra púrica (A por G o G por A) o de una base pirimidínica por otra pirimidínica (T por C o C por T) de modo que el eje púrico-pirimidínico se preserva. Se debe a fenómenos como la tautomería o la desaminación, o a la presencia de análogos de precursores de nucleótidos en el medio (por ejemplo, los análogos de base).

b) Transversion (transversión): en este caso, una purina se sustituye por una pirimidina y viceversa, de modo que el eje púrico-pirimidínico se invierte.

catalytic monoclonal antibody: anticuerpo monoclonal catalítico.

→ ABZYME.

chimaera: quimera.

→ CHIMERA.

chimaeric: híbrido, recombinado, quimérico, mixto.

→ CHIMERIC.

chimera: quimera.

1.Gen. Organismo compuesto de una mezcla de tejidos o de células de genotipo distinto, derivados de cigotos diferentes. No es exactamente lo mismo que un mosaico. Véase MOSAIC.

2.Bot. Organismo mixto formado por vía vegetativa a expensas de otros dos concrecentes por injerto. Las quimeras proceden de los tejidos de soldadura entre un injerto (por ejemplo, *S. nigrum*) y un patrón (por ejemplo, *S. lycopersicum*), cuando en los tejidos soldados se forma una yema de constitución celular mixta. Estos híbridos también reciben el nombre de «híbridos quiméricos».

chimeric: híbrido, recombinado, quimérico, mixto.

Adjetivo inglés que admite distintas traducciones según el contexto.

1 Doctor en Ciencias. Departamento de Biología Molecular y Bioquímica, Universidad de Málaga (España). Dirección para correspondencia: claros@uma.es. 2 Doctora en Ciencias Biológicas, con especialización en Biología Molecular por la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires (Argentina). Traductora y revisora. Novartis Pharma AG, Basilea (Suiza). 3 Investigador Titular B de tiempo completo, Departamento de Genética Molecular, Instituto de Fisiología Celular, Universidad Nacional Autónoma de México, México D. F. (México).

a) chimeric antibody: anticuerpo híbrido. Véase CHIMERIC ANTIBODY.

b) chimeric DNA: ADN recombinado. Véase RECOMBINANT DNA.

c) chimeric plasmid: plásmido mixto. Véase HYBRID PLASMID.

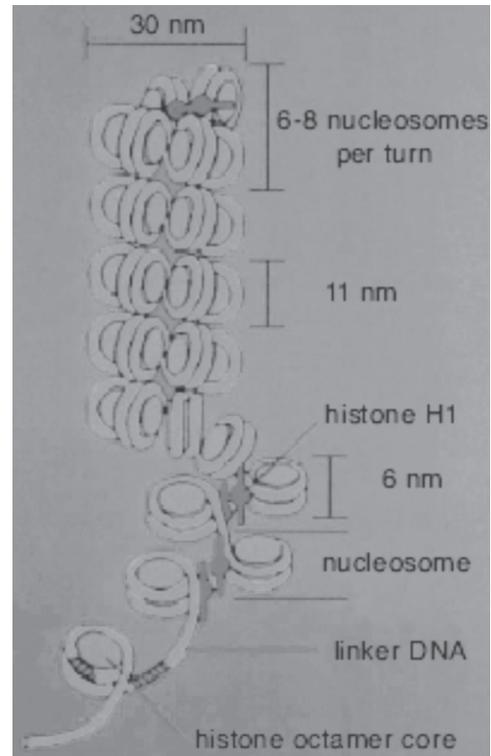
Observación: la traducción literal por «quimérico» tiene el inconveniente de que este adjetivo califica, en sentido general, a todo aquello que sea fingido o sin fundamento, o de naturaleza fabulosa y no real, que no es precisamente el significado que tiene la voz inglesa *chimaeric* en el ámbito de la biología molecular. En biología molecular se utiliza casi siempre con el significado de «híbrido» (o «mixto») o «recombinado». En botánica, designa todo aquello perteneciente o relativo a la quimera (híbridos quiméricos). Véase CHIMERA.

chimeric antibody: anticuerpo híbrido.

Anticuerpo obtenido por recombinación de genes de anticuerpos de distinto origen (por ejemplo, humano y murino), de modo que posee características estructurales de ambos.

chromatin: cromatina.

Fibras de ADN y de proteína presentes en el núcleo de la mayoría de las células eucariontes que están en interfase. Cada fibra consta de una única y larga molécula de ADN genómico asociado a histonas, otras proteínas y ARN; está organizada en subunidades llamadas nucleosomas, más o menos condensadas en estructuras de 30 o 10 nm de diámetro (véase la figura 1). En la metafase de las células en división mitótica o meiótica, la fibra en forma de solenoide de 30 nm ya duplicada se pliega y enrolla adicionalmente para formar supersolenoides de mayor diámetro (400-600 nm) que conforman un cromosoma de dos cromátidas unidas por el centrómero. La cromatina, como sustancia que constituye el núcleo interfásico, fue clasificada en un principio en dos categorías distintas según su reacción a la tinción. La cromatina mayoritaria se denominó eucromatina y la que se teñía de forma distinta se llamó heterocromatina. Hoy día se distinguen por otras propiedades: la heterocromatina consta de fibras de nucleoproteína muy condensadas, casi como los cromosomas en la mitosis (lo cual impide la transcripción de genes), se duplica de forma desfasada de la eucromatina y puede contener secuencias extremadamente repetidas; la eucromatina consta de fibras menos condensadas que un cromosoma mitótico. Los genes se transcriben siempre a partir de la eucromatina.



Observación: la cromatina se definió a fines del siglo XIX como «la sustancia que constituye el núcleo interfásico y muestra ciertas propiedades de tinción» (Flemming, 1882). Hoy día esta denominación se utiliza mayoritariamente en relación con la organización molecular del material hereditario de los organismos eucariontes.

codon bias: preferencia codónica.

Traducción ineficiente de un ARNm en un sistema celular heterólogo (por ejemplo, de un ARNm de un gen de mamífero en células de *E. coli*) debido a que el ARNm contiene codones sinónimos cuyos ARNt son poco abundantes en el sistema celular en que se ha de traducir. Los codones sinónimos no se usan con igual frecuencia en todas las especies; por ejemplo, el codón «CCC» de la prolina está prácticamente ausente en los genes homólogos de *E. coli*. Véase SYNONYMOUS CODONS.

codon preference: preferencia codónica.

→ CODON BIAS.

codon usage: uso de codones.

→ CODON BIAS.

core DNA: ADN central.

Segmento de ADN nucleosómico de 146 pares de bases resistente a la digestión de los nucleosomas por parte de la

nucleasa microcócica. Algunos lo denominan «ADN nucleosómico», pero en realidad el ADN de los nucleosomas es un poco más largo y su tamaño puede variar considerablemente con respecto al valor típico de 200 pares de bases que se le otorga (por ejemplo, entre 154 y 260 pb); en cambio, el tamaño de este fragmento de ADN es constante (146 pb). Véase CHROMATIN, CORE PARTICLE, HISTONE, LINKER DNA y NUCLEOSOME.

core particle: partícula central.

Unidad que se libera durante la digestión de los nucleosomas con la nucleasa microcócica (también llamada «núcleo» en ciertos libros de texto); consta de un segmento de ADN nucleosómico de 146 pares de bases que se enrolla alrededor del núcleo octamérico intacto de histonas. Las partículas centrales son más pequeñas que los nucleosomas. Véase CHROMATIN, CORE DNA, HISTONE, LINKER DNA y NUCLEOSOME.

deletion: deleción.

Pérdida de uno o más pares de bases en una molécula de ácido nucleico.

Observación: no debe escribirse con doble ce. Esta voz nos viene del inglés a través del latín *deletio*. Vertida al castellano da «deleción» y no «delección».

DNase: desoxirribonucleasa, ADNasa.

→ DEOXYRIBONUCLEASE.

Observación: curiosamente en inglés se da preferencia a la grafía *DNase* por sobre *DNase* o *DNAse*.

deoxyribonuclease: desoxirribonucleasa.

Nucleasa que hidroliza los enlaces fosfodiéster del ADN. Véase ENDONUCLEASE y EXONUCLEASE.

duplication: duplicación.

Repetición de una secuencia de bases en una molécula de ácido nucleico.

endodeoxyribonuclease: endodesoxirribonucleasa.

→ DEOXYRIBONUCLEASE, ENDONUCLEASE.

endonuclease: endonucleasa.

Enzima que hidroliza los enlaces fosfodiéster internos de un ácido nucleico y lo fragmenta en oligonucleótidos. Cuando el sustrato es el ADN se denomina «endodesoxirribonucleasa» y si es el ARN se llama «endorribonucleasa». Son endonucleasas las hidrolasas de ésteres de las subclases EC 3.1.21 a EC 3.1.31.

exonuclease: exonucleasa.

Enzima que hidroliza los enlaces fosfodiéster finales de los ácidos nucleicos, es decir, los de las posiciones 5' o 3' y lo fragmenta en sus nucleótidos constituyentes. Cuando el sustrato es el ADN se denomina «exodesoxirribonucleasa» y si es el ARN se llama «exorribonucleasa». Son exonucleasas las hidrolasas de ésteres de las subclases EC 3.1.11 a EC 3.1.16.

exodeoxyribonuclease: exodesoxirribonucleasa.

→ RIBONUCLEASE, EXONUCLEASE.

exogenous DNA: ADN exógeno.

ADN procedente del exterior de un organismo. Se trata en general de un ADN heterólogo. Véase HETEROLOGOUS y HOMOLOGOUS.

foreign DNA: ADN foráneo.

→ EXOGENOUS DNA.

forward mutation: mutación primaria, mutación directa.

Transformación de un alelo normal (*wild type*) en un alelo anómalo (*mutant*).

Observación: si se va a traducir por «mutación» a secas, recuérdese que las retromutaciones (*back mutations*) también son mutaciones. Véase MUTATION.

frameshift mutation: mutación del marco de lectura.

Adición o sustracción de un nucleótido en una hebra de ADN en formación (lo cual puede deberse a la presencia de sustancias intercalares que actúan como mutágenos en la hebra que sirve de plantilla, como los colorantes de acridina) que redundan en un cambio del marco de lectura. Por consiguiente, el ARNm transcrito a partir del alelo mutado (con un nucleótido de más o de menos) será leído sin problemas hasta el punto de inserción o sustracción del nucleótido, pero a partir de allí, como el marco de lectura es diferente, los codones cobrarán otro significado, se incorporarán otros aminoácidos en la proteína o aparecerán codones de terminación prematura de la síntesis de esa proteína.

Observación: poco sentido tendría, y sería redundante, traducirlo por «mutación de cambio del marco de lectura» por cuanto la palabra «mutación» deriva del latín «*mutatio*, -onis», que significa precisamente «cambio».

genetic recombination: recombinación genética.

→ RECOMBINATION.

heterologous: heterólogo.

1. Compuesto de distintos elementos o de elementos similares en distintas proporciones.

2. Dícese de todo aquello derivado o procedente de una

especie distinta de la especie de referencia (células heterólogas, ADN heterólogo, tejido heterólogo, suero heterólogo).

heterologous DNA: ADN heterólogo.
→ HETEROLOGOUS.

histone: histona.

Cualquiera de las proteínas básicas de peso molecular variable entre 11 y 21 kDa que constituyen la mitad de la masa de los cromosomas de las células eucariontes (salvo los espermatozoides). Se clasifican en cinco tipos: H1, H2A, H2B, H3, H4, de los cuales la H1 se asocia con el ADN conector y el resto con el ADN nucleosómico. Las histonas H3 y H4 son unas de las proteínas más conservadas que se conocen, señal de que cumplen funciones idénticas en todos los organismos eucariontes. Véase CORE DNA, LINKER DNA y NUCLEOSOME.

homologous: homólogo.

1. Dícese de los órganos o tejidos que están en una posición anatómica o tienen una estructura parecida en especies con un ancestro en común, aunque sus funciones puedan ser distintas.
2. Dícese de los cromosomas que se aparean durante la meiosis (véase HOMOLOGOUS CHROMOSOME).
3. Dícese de los biopolímeros (como las proteínas) que tienen estructura semejante o desempeñan funciones idénticas o similares aunque provengan de especies distintas, por derivar, quizás, de un ancestro común.

hybrid DNA: ADN híbrido, ADN recombinado.

1. ADN híbrido. ADN bicatenario artificial obtenido por apareamiento de dos hebras que presentan complementariedad total o parcial de bases.
2. ADN recombinado. Véase recombinant DNA.

hybrid plasmid: plásmido mixto.

Cualquier plásmido obtenido por recombinación a partir de ácidos nucleicos derivados de microorganismos entre los cuales no suele haber intercambio de información genética (por ejemplo, entre *E. coli* y *S. cerevisiae*). Véase SHUTTLE PLASMID.

insertion: inserción.

Introducción de uno o más pares de bases en una molécula de ácido nucleico. Es un tipo de mutación que suelen producir los colorantes de acridina o los transposones.

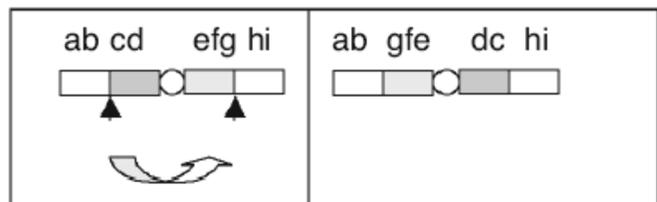
insertion sequence: secuencia de inserción.
→ TRANSPOSABLE ELEMENT.

intergenic suppressor mutation: mutación supresora intergénica.
→ SUPPRESSOR MUTATION.

intragenic suppressor mutation: mutación supresora intragénica.
→ SUPPRESSOR MUTATION.

inversion: inversión.

Giro de 180° de un determinado segmento cromosómico, con el resultado de que la secuencia de un gen en el segmento en cuestión queda invertida con respecto a la del resto del cromosoma. Estas inversiones pueden incluir o no el propio centrómero (círculo blanco en el medio de los segmentos de la figura 2).



Jumping gene: transposón.
→ TRANSPOSABLE ELEMENT.

linker DNA: ADN conector.

Segmento de ADN que conecta los nucleosomas entre sí en los organismos eucariontes. Su longitud varía típicamente entre 30 y 40 pares de bases, pero puede ser mayor. Se trata de un concepto teórico pues en la práctica las regiones nucleosómicas e internucleosómicas del ADN son continuas. Véase CHROMATIN, CORE DNA, HISTONE y NUCLEOSOME.

missense mutation: mutación de aminoácido.

Mutación puntual que cambia un codón codificante (*sense codon*) por otro que especifica un aminoácido distinto en el ARNm transcrito. La proteína correspondiente contendrá, pues, un aminoácido diferente del original y ello afectará a su función según el sitio en que se produjo la mutación y la naturaleza del reemplazo de aminoácidos. Cualquier sustitución de aminoácidos constituye una *missense mutation*, pero en la práctica éstas sólo se manifiestan fenotípicamente si producen una modificación de la actividad de la proteína. Véase SENSE CODON y POINT MUTATION.

Observación: los libros de texto y glosarios específicos recogen traducciones tan variopintas como «mutación de cambio de sentido», «mutación de sentido equivocado», «mutación sustitutiva», etc., sin que ninguna haya sido

consagrada por el uso todavía. La última («mutación sustitutiva») puede prestarse a confusión, puesto que en la jerga genética se llaman «sustituciones» los reemplazos de nucleótidos o de bases dentro de un gen sin que ello cause necesariamente un cambio de aminoácido en la proteína correspondiente, como en este caso. Véase BASE-PAIR SUBSTITUTION y FRAMESHIFT MUTATION.

mobile genetic element: elemento transponible.
→ TRANSPOSABLE ELEMENT.

mosaic: mosaico.
Organismo constituido por células de diferente constitución génica o cromosómica pese a derivar del mismo cigoto (a diferencia de la quimera). Véase CHIMERA.

NMD: NMD.
→ NONSENSE MEDIATED DECAY.

nonsense mediated decay (NMD): degradación mediada por mutaciones terminadoras.
Proceso de eliminación de ARNm portadores de una mutación terminadora (*nonsense mutation*) o de una mutación del marco de lectura (*frameshift mutation*) que derivan en la creación de codones de finalización precoz de la síntesis de una proteína. De no eliminarse estos ARNm se producirían polipéptidos defectuosos (incompletos) al ser traducidos. Se trata de un fenómeno asociado a la ribointerferencia o a la HDGS. Véase HOMOLOGY-DEPENDENT GENE SILENCING (HDGS), NONSENSE MUTATION, RNA INTERFERENCE.

nonsense mutation: mutación terminadora.
Mutación puntual que convierte un codón codificante en un codón de terminación en el ARNm transcrito. De esta manera, una mutación puntual en el codón UAU (tyr) que lo transforme en UAG (codón de terminación, denominado «ámbar» por motivos históricos) redundará en la interrupción de la síntesis de una proteína en el lugar donde debería insertarse la tirosina en el polipéptido original (*wild-type*). Un cambio de marco de lectura puede conllevar asimismo la aparición de un codón de terminación. Véase FRAMESHIFT MUTATION, NONSENSE CODON, POINT MUTATION y SENSE CODON.

non-synonymous codons: codones no sinónimos.
Dícese de los codones que codifican aminoácidos distintos. Véase SYNONYMOUS CODONS.

nuclease: nucleasa.

Cualquier enzima de la subclase EC 3.1 que hidroliza los enlaces éster de los ácidos nucleicos. Se clasifica a su vez en endonucleasa o exonucleasa, según la posición del enlace fosfodiéster que hidroliza, y en ribonucleasa o desoxirribonucleasa, según el ácido nucleico que sirva de sustrato. Existen nucleasas que reconocen específicamente los ácidos nucleicos monocatenarios o bicatenarios e incluso las hélices híbridas de ADN y ARN. Véase ENDONUCLEASE, EXONUCLEASE, DEOXYRIBONUCLEASE y RIBONUCLEASE.

nucleosome: nucleosoma.
Subunidad estructural de la cromatina. Consta de un octámero de histonas y de un segmento de ADN de aproximadamente 200 pares de bases que se enrolla sobre el octámero dando casi dos vueltas alrededor de él, como un hilo a su carrete. El octámero está compuesto a su vez de dos moléculas de cada una de las histonas H2A, H2B, H3 y H4. Véase CHROMATIN, CORE DNA, CORE PARTICLE, HISTONE y LINKER DNA.

ornithine decarboxylase antizyme: antizima de la ornitina descarboxilasa.
Véase ANTIZYMES.

plantibody: fitoanticuerpo.
Anticuerpo de origen humano o mamífero sintetizado por una planta transgénica.

paramutation: paramutación.
Silenciamiento de la expresión de un alelo activo por parte de otro inactivo situado en el mismo locus en ciertos heterocigotos. Los alelos que inducen el silenciamiento se llaman «paramutágenos» (*paramutagenic*), el alelo sensible al silenciamiento se llama «paramutable» (*paramutable*) y las formas alteradas del alelo paramutable se denominan «paramutadas» o «paramutantes» (*paramutant*). La paramutación produce en un aumento progresivo de metilaciones de citosinas en el alelo paramutable. Se trata de un fenómeno de naturaleza epigenética, estable y heredable (pues los alelos no se reactivan durante la meiosis o la mitosis), descubierto en el maíz. Véase HOMOLOGY-DEPENDENT GENE SILENCING (HDGS) y LOCUS.

phosphodiester bond: enlace fosfodiéster.
Unión establecida mediante dos enlaces éster entre una molécula de ácido fosfórico (H₃PO₄) y dos radicales R' y R". Estos radicales son grupos químicos que contienen carbonos. En los enlaces fosfodiéster de las hebras de los ácidos nucleicos participan el carbono de la posición 5' de la pentosa (ribosa o desoxirribosa) y el carbono de la

posición 3' de la pentosa contigua. Estos enlaces son asimismo característicos de los glicerofosfolípidos.

point mutation: mutación puntual.

Cambio de una base por otra en un triplete de nucleótidos (codón) que deriva en la codificación de un aminoácido distinto (*missense mutation*) o en la creación de un codón de terminación prematura de la síntesis de una proteína (*nonsense codon*). Véase NONSENSE CODON, NONSENSE MUTATION y MISSENSE MUTATION.

reading frame shift: cambio de marco de lectura.

→ FRAMESHIFT MUTATION.

recombinant: recombinante, recombinado.

Palabra inglesa que puede traducirse de dos maneras distintas según funcione como sustantivo o adjetivo.

recombinant (recombinante): a) *sust.* Cualquier organismo cuyo genoma sea el resultado de una recombinación. En este caso es lícita la traducción literal por «recombinante» que utilizan los genetistas para referirse a ciertas cepas de bacterias, de la misma manera que traducimos *mutant* por «mutante» o *transformant* por «transformante». Véase RECOMBINATION.

recombinant (recombinado): b) *adj.* Califica a los organismos señalados en a) o a un ácido nucleico obtenido por recombinación. Véase RECOMBINANT DNA.

recombinant DNA: ADN recombinado.

En el ámbito de la biotecnología y la ingeniería genética, el término *recombinant DNA* suele reservarse para designar específicamente al ADN bicatenario artificial que se obtiene por unión covalente de dos o más fragmentos de ADN bicatenario y se inserta en un vector de clonación. Véase RECOMBINANT y RECOMBINATION.

recombination: recombinación.

Proceso mediante el cual una o más moléculas de ácido nucleico se reorganizan para generar nuevas asociaciones o secuencias de genes, alelos u otras secuencias de nucleótidos; puede implicar, por ejemplo, el intercambio físico de material entre dos moléculas (como es el intercambio de segmentos cromosómicos en la recombinación genética propiamente dicha), la unión covalente de dos moléculas para formar una sola, la inversión de un segmento dentro de una molécula.

replicate, to: replicar(se), duplicar(se).

Reproducción exacta de una molécula de ácido nucleico monocatenario o bicatenario.

Observación: en realidad no habría necesidad de traducirlo literalmente por «replicar(se)», como suele leerse en los libros de texto, por cuanto el significado molecular del verbo *to replicate*, según consta en el Oxford Dictionary of Biochemistry and Molecular Biology («to make an exact copy of something, as in the replication of DNA»), es el mismo del verbo duplicar(se). En el *Diccionario de uso* de María Moliner (DUE) la acepción primera de este verbo entraña incluso la idea de multiplicación: «1 tr. y prnl. Hacer[se] una cosa doble. tr. Hacer una o más copias de algo. tr. y prnl. Multiplicar[se] por dos una cantidad. Contra-, sobre-. Desdoblar, doblar, geminar, reduplicar». No obstante, decir que los ácidos nucleicos se replican o hablar de la replicación de un ácido nucleico es tan frecuente entre los biólogos moleculares que va ser difícil erradicar esta costumbre. Por ahora, ninguna acepción de la voz «replicar» en el DRAE justifica este uso tan extendido, ni siquiera la cuarta: «tr. ant. Repetir lo que se ha dicho.»

reverse mutation: retromutación.

Transformación de un alelo anómalo o mutado (*mutant*) en el alelo silvestre o primitivo (*wild type*). Se trata de una mutación que revierte el efecto de la mutación primaria que había causado la inactivación del gen o su transformación en el alelo anómalo, de suerte que se recupera la actividad enzimática o del producto génico en cuestión. Todas las retromutaciones son reversiones, pero no todas las reversiones son retromutaciones. Véase REVERSION.

reversion: reversión.

En sentido amplio, es la restauración parcial o completa del fenotipo normal de un mutante. Se produce por dos fenómenos distintos: la retromutación y la mutación supresora. Véase REVERSE MUTATION y SUPPRESSOR MUTATION.

revertant: revertiente.

1. *Adj.* Referido a un alelo que ha sido objeto de una reversión. Véase BACK MUTATION.

2. *Sust.* Organismo que alberga dicho alelo y ha recuperado el fenotipo normal.

ribonuclease: ribonucleasa.

Nucleasa que hidroliza los enlaces fosfodiéster del ARN. Véase ENDONUCLEASE y EXONUCLEASE.

RNase: ribonucleasa.

→ RIBONUCLEASE.

same-sense codons: codones sinónimos.

→ SYNONYMOUS CODON.

second site mutation: mutación supresora intragénica.

→ SUPPRESSOR MUTATION.

sense codon: codón codificante.

Codón que codifica un aminoácido. Véase NONSENSE CODON.

shuttle plasmid: plásmido versátil, plásmido lanzadera.

Plásmido mixto que funciona como vector de clonación en células de origen diverso.

Observación: ninguna acepción de la voz «lanzadera» en el DRAE justifica su traducción por «plásmido lanzadera», ni siquiera la sexta: «Medio de transporte rápido, de ida y vuelta y periodicidad frecuente, entre dos ciudades», pero es una denominación relativamente frecuente en los libros de texto especializados. Véase HYBRID PLASMID.

shuttle vector: vector versátil, vector lanzadera.

→ SHUTTLE PLASMID.

suppression: supresión.

→ SUPPRESSOR MUTATION.

suppressor mutation: mutación supresora.

Mutación que compensa otra mutación con la consiguiente restauración casi total o parcial del fenotipo normal en el doble mutante. Se distinguen dos categorías: intergénicas (*intergenic suppressor mutations*) e intragénicas (*intragenic suppressor mutations*). Las intergénicas están localizadas en un gen distinto del gen en el que se produjo la mutación primaria (tal sería el caso si, por ejemplo, ocurriera una mutación en el anticodón del ARNt correspondiente a un codón mutado del ARNm, de modo que ahora el ARNt es capaz de leer ese codón e insertar un aminoácido de función equivalente en la proteína que confiere el fenotipo). Las intragénicas están localizadas en el mismo gen en el que se produjo la mutación primaria (tal sería el caso de las mutaciones que restauran el marco de lectura original o producen una sustitución de aminoácido en un sitio distinto de donde se produjo la primera mutación, de suerte que compensa la desaparición del primero). La mutación supresora se diferencia de la retromutación propiamente dicha en que no restituye completamente la función génica primitiva, sino que en los dobles mutantes sólo ocurre una reversión parcial del fenotipo primitivo. Véase REVERSE MUTATION y REVERSION.

synonymous codons: codones sinónimos.

Codones que codifican el mismo aminoácido (son codones sinónimos, por ejemplo, UUU y UUC, pues ambos codifican la fenilalanina).

transition: transición.

→ BASE-PAIR SUBSTITUTION.

transposable element: elemento transponible.

Secuencias de ADN con capacidad de mudarse de un sitio a otro de los genomas de los organismos eucariontes y procariontes. Se distinguen varias categorías. En los cromosomas y plásmidos de las bacterias, por ejemplo, las hay relativamente sencillas, como las denominadas «secuencias de inserción» (fragmento de ADN con el gen de la enzima transposasa responsable de la transposición), y más complejos, como son los transposones compuestos de tipo Tn, que se caracterizan por llevar información genética adicional (por ejemplo, genes de resistencia a fármacos), además de los genes para la propia transposición.

Observación: Bárbara MacClintock descubrió estos elementos en el maíz a mediados del siglo XX. Su descubrimiento, que sólo fue reconocido años más tarde, le valió el Premio Nobel de Fisiología y Medicina en 1983.

transposition: transposición.

1. Proceso de inserción de una copia de un elemento transponible en otro sitio del genoma; si la copia original permanece en el sitio de inserción primitivo se llama *replicative transposition*. En cambio, si el transposón se mueve como una entidad física de un sitio a otro sin duplicarse se llama *nonreplicative transposition*.

2. Movimiento de un segmento cromosómico hacia un lugar distinto dentro del mismo o de otro cromosoma, sin intercambios recíprocos.

3. Cambio de posición de algunos pares de bases en la misma secuencia de ADN, como se ilustra en la Figura 3.

| | | |
|---------|---|---------|
| AGTCATC | → | AGTCTCA |
| TCAGTAG | | TCAGAGT |

Transposon: transposón.

→ TRANSPOSABLE ELEMENT.

transversion: transversión.

→ BASE-PAIR SUBSTITUTION.

Agradecimientos A los doctores Fernando Navarro ^a y Ruth Heinz, ^b Ángel Herráez ^c y Teresa Segué ^d por los comentarios y sugerencias recibidos en relación con el contenido de esta tercera entrega del Vocabulario de

bioquímica y biología molecular. Al Dr. X. Fuentes Arderiu por facilitarnos un ejemplar del *Diccionario inglés-castellano-catalán-euskera-gallego de biología y patología moleculares (SEQC)*.

Notas

a. Médico especialista y traductor. Cabrerizos, Salamanca (España).

b. Profesora auxiliar del Departamento de Fisiología, Biología Molecular y Celular de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad de Buenos Aires (Republica Argentina).

c. Profesor titular de Bioquímica y Biología Molecular en la Universidad de Alcalá de Henares, Madrid (España).

d. Profesora titular de Bioquímica y Biología Molecular en la Universidad Rovira i Virgili, Tarragona (España).

BIBLIOGRAFÍA

- Diccionario inglés-castellano-catalán-euskera-gallego de biología y patología moleculares (SEQC). Documento H, Fase 3. Versión 1. Barcelona: Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular, 1997.
- Enzyme Nomenclature. Nomenclature. Committee of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology (NC-IUBMB). Recommendations of the Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology on the Nomenclature and Classification of Enzyme-Catalysed Reactions. <<http://www.chem.qmw.ac.uk/iubmb/enzme/>> [consulta: 12.4.2003].
- Font Quer P. Diccionario de botánica. Tomos I y II. Barcelona: Labor, 1993.
- Glick D M Glossary of Biochemistry and Molecular Biology; 2002. <http://www.portlandpress.com/pp/books/online/glick/> [consulta: 8.5.2003]
- Hine R. The Facts On File Dictionary of Cell and Molecular Biology. Nueva York: Checkmark Book, 2003.
- King R C, Standsfield W D. A dictionary of genetics (6.^a ed.). Nueva York: Oxford University Press, 2002.
- Lacadena J R Genética General. Conceptos fundamentales. Madrid: Síntesi, 1999.
- Lewin B. Genes VII. Nueva York: Oxford University Press, 2000.
- McClintock B. The significance of responses of the genome to challenge. Nobel lecture, 8 December, 1983. <<http://www.nobel.se/medicine/laureates/1983/mcclintock-lecture.pdf>> [consulta: 12.5.2003].
- Moliner M. Diccionario de uso del español (DUE) (2.^a ed.). (versión 2.0 en CD-ROM). Madrid: Gredos, 2001.
- Navarro F A Diccionario crítico de dudas inglés-español de medicina. Madrid: McGraw-Hill Interamericana, 2000.
- Oxford Dictionary of Biochemistry and Molecular Biology, Revised edition. Oxford: Oxford University Press, 2000.
- Perera J, Tormo A, García J L. Ingeniería Genética (vol. II). Madrid: Síntesis, 2002.
- Singer M, Berg P. Genes y genomas, una perspectiva cambiante. Barcelona: Omega, 1993.
- Singleton P, Sainsbury D. Dictionary of Microbiology and Molecular Biology (3.^a ed.). Chichester: John Wiley & Sons, 2001.

CORRESPONSALES DE LA REVISTA DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA

Si eres miembro de la Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, A C o suscriptor de la REB 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 la REB sea leída.

También nos interesa conocer y publicar las noticias más significativas que en nuestro campo ocurran en los diferentes lugares, ya sean cursos, seminarios, 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 de la REB son profesores y/o investigadores, que sin formar parte del Comité Editorial, coadyuvan en las actividades de la revista. El corresponsal deber 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 de la REB de su localidad y comunicación inmediata de los cambios en él.

5.1.c) Colaboración en la promoción, difusión y distribución de la REB 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, Apartado Postal 70-253, México, 04510, DF, MÉXICO, o bien al teléfono 5622-5669 y Fax: 5622-5607; correo E: rsalceda@ifc.unam.mx

Dra. Rocío Salceda Sacanelles
Coordinadora de Corresponsales de la REB

ÍNDICE ANUAL DE LA REVISTA DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA 2003

AUTORES DE EDITORIALES

Escobar Pérez Laura. Mi experiencia con el premio Nobel de Química 2003. REB 22(4): 181-182

Juárez Oropeza Marco Antonio. La Bioquímica, las ciencias genómica y la comunicación. REB 22(1): 51-52

Saldaña Balmori Yolanda. Las habilidades intelectuales del estudiante de Bioquímica. REB 22 (3): 115-116

Vaca Domínguez Luis Alfonso y Zentella Dehesa Alejandro. 50 años del modelo ADN propuesto por Watson y Crick: un breve artículo con grandes efectos. REB 22(1): 1

AUTORES DE LOS ARTÍCULOS

Cameron C Luiz, Machado Marco y Meza Ruiz Graciela. Las miosinas en el movimiento celular I, estructuras y propiedades cinéticas. REB 22 (2): 53-59

Díaz Adelaida. La estructura de las catalasas. REB 22(2): 76-84

Flores-Herrera Oscar, Martínez Montes Federico y Pardo Juan Pablo. El plegamiento de los priones. REB 22(1): 25-34

García-Contreras Rodolfo y Romero Irma. Las pirofosfatasa: Avances recientes. REB 22(4): 183-190

García Lara Silverio, Burt Andrew J, Serratos J Antonio, Díaz Pontones David M, Arnason John T y Bergvinson David J. Defensas naturales en el grano de maíz al ataque de *Sitophilus zeamais* (Motsch, coleoptera: Curculionidae): Mecanismos y bases de la resistencia. REB 22(3): 138-145

González-Segura Lilian y Muñoz-Clarés Rosario A El papel de los residuos de cisteína en la estructura y función de las proteínas. REB 22(1): 2-10

Hernández-Alcántara Gloria. En busca de nuevos fármacos contra algunos tripanosomátidos. REB 22(1): 19-24

Huerta Zepeda Alejandra y Durán-Vargas Socorro. Metabolismo de las lipoproteínas y el receptor de la lipoproteína de baja densidad (LDL-R). REB 22(4): 198-205

Lara Núñez Aurora y Rodríguez Sotres Rogelio. Plástidos no fotosintéticos su papel metabólico y los intercambiadores de su membrana interna. REB 22(3): 130-137

Manzano León Natalia, Guadarrama-Díaz Margarita y Mas-Oliva Jaime. Diferentes funciones de las proteínas de la familia BAR. REB 22(4):206-211

Meza Ruiz Graciela. Las miosinas en el movimiento celular II. Distribución e implicaciones funcionales. REB 22(2): 60-66

Ruiz-López Cielo y Gutiérrez-Venegas Gloria. Receptores Toll y mecanismo de transducción en la inmunidad innata. REB 22(2): 67-75

Soriano de Richards Eva. Los metabolitos de las plantas y las células cancerosas I. Los flavonoides. REB 22(4): 191-197

Varela Gómez Marcela Lilian. Estructura, cinética y papel de la piruvato fosfato dicinasa: Una enzima blanco para el diseño de fármacos y clave en la fotosíntesis C₄. REB 22(1): 11-18

Zaldívar Cruz Juan Manuel y Gregorio Godoy Hernández. El licopeno es el sustrato para la biosíntesis de bixina. REB 22 (3): 146-154

Zentella Dehesa Alejandro y Alcántara Hernández Rocío. Importancia de los dominios de interacción proteica en la formación de complejos en los sistemas de transducción. REB 22 (3): 117-129

AUTORES DE OTRAS COMUNICACIONES

Claros Gonzalo y Saladrigas Verónica. Vocabulario Inglés-Español de Bioquímica y Biología Molecular (2.^a entrega). REB 22(3): 169-178

Claros Gonzalo, Saladrigas Verónica y González-Halphen Diego. Vocabulario Inglés-Español de Bioquímica y Biología Molecular (3.^a entrega). REB 22(4): 231-238

Convocatoria al XII Congreso de Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, A. C. REB 22(4): 225-229

Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina UNAM. Programa del XXXI del Taller de Actualización Bioquímica. REB 22(4): 230

Flores Herrera Oscar, Sosa Peinado Alejandro, Riveros Rosas Héctor y Vázquez Contreras Edgar. Informe del XXX Taller de actualización Bioquímica. REB 22(3): 162-166

García Saínz J. Adolfo. (Comentarista). Biología Celular y Molecular. Editores: Luis Felipe Jiménez y Horacio Merchant. REB (4): 219-220

Gómora Martínez Juan Carlos. Premio Nobel de Química 2003: Roderick Mackinnon y la ultraestructura de los canales iónicos. REB 22(4): 221-223

Mendoza Cózalt David y Moreno Sánchez Rafael. Problema Bioquímico II y su respuesta. Bioenergética, transporte de cadmio en cloroplasto. REB 22 (2): 86, 92 y 93

Moreno Sánchez Rafael y Emma Saavedra. Problema Bioquímico y su respuesta. Cinética Enzimática. Inhibición por sustrato. REB 22(1): 35, 38 y 39

Rodríguez Zavala José S. Problema Bioquímico y su respuesta. Estructura-Función de proteínas. REB 22(4): 212, 215-217

Saavedra Emma. Problema Bioquímico I y su respuesta. Biología Molecular. Análisis de secuencias de DNA en bases de datos disponibles en el Internet. REB 22(2): 85, 89-91

Saladrigas Verónica y Claros Gonzalo. Vocabulario Inglés-Español de Bioquímica y Biología Molecular (1.^a entrega). REB 22 (2): 95-111

Saldaña Balmori Yolanda. CRUCIBIOQ y su Solución. Metabolismo del Colesterol. REB 22(1): 36, 37 y 39

Saldaña Balmori Yolanda. CRUCIBIOQ y su Solución. Metabolismo de aminoácidos. REB 22(2): 87, 88 y 94

Saldaña Balmori Yolanda. CRUCIBIOQ y su Solución. Química de los ácidos nucleicos. REB 22(3): 156, 157 y 161

Saldaña Balmori Yolanda. CRUCIBIOQ y su Solución. Metabolismo de nucleótidos. REB 22(4): 213, 214-218

Saldaña Balmori Yolanda, Sánchez Meza Virginia y Morales López Sara. Informe del XI Congreso de Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, A. C. REB 22(3): 167-168

Uribe Carvajal Salvador. Diez años de la maestría en biología experimental del Instituto de Investigaciones Químico-Biológicas de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. REB 22(1): 40-41

Varela Gómez Marcela. Problema Bioquímico y su respuesta. Cinética Enzimática: Inhibición por producto. REB 22 (3): 155, 158-160

TÍTULOS DE EDITORIALES

50 años del modelo ADN propuesto por Watson y Crick: un breve artículo con grandes efectos. Vaca Domínguez Luis Alfonso y Zentella Dehesa Alejandro. REB 22(1): 1

Bioquímica, las ciencias genómica y la comunicación. La . Juárez Oropeza Marco Antonio. REB 22(1): 51-52

habilidades intelectuales del estudiante de Bioquímica. Las. Saldaña Balmori Yolanda. REB 22 (3): 115-116

experiencia con el premio Nobel de Química 2003. Mi. Escobar Pérez Laura. REB 22(4): 181-182

TÍTULOS DE LOS ARTÍCULOS

Defensas naturales en el grano de maíz al ataque de *Sitophilus zeamais* (Motsch, coleoptera: Curculionidae): Mecanismos y bases de la resistencia. García

Lara Silverio, Burt Andrew J, Serratos J Antonio, Díaz Pontones David M, Arnason John T y Bergvinson David J. REB 22(3): 138-145

Diferentes funciones de las proteínas de la familia BAR. Manzano León Natalia, Guadarrama-Díaz Margarita y Mas-Oliva Jaime. REB 22(4): 206-211.

dominios de interacción proteica en la formación de complejos en los sistemas de transducción. Importancia de los. Zentella Dehesa Alejandro y Alcántara Hernández Rocío. REB 22 (3): 117-129

Estructura, cinética y papel de la piruvato fosfato dicinasa: Una enzima blanco para el diseño de fármacos y clave en la fotosíntesis C₄. Varela Gómez Marcela Lilian. REB 22(1): 11-18

estructura de las catalasas. La. Díaz Adelaida. REB 22(2): 76-84

licopeno es el sustrato para la biosíntesis de bixina. El. Zaldívar Cruz Juan Manuel y Godoy Hernández Gregorio. REB 22 (3): 146-154

Metabolismo de las lipoproteínas y el receptor de la lipoproteína de baja densidad (LDL-R). Huerta Zepeda Alejandra y Durán-Vargas Socorro. REB 22(4):198-205

metabolitos de las plantas y las células cancerosas I. Los flavonoides. Los. Soriano de Richards Eva. REB 22(4): 191-197

miosinas en el movimiento celular I, estructuras y propiedades cinéticas. Las. Cameron C Luiz, Machado Marco y Meza Ruiz Graciela. REB 22 (2): 53-59

miosinas en el movimiento celular II. Distribución e implicaciones funcionales. Las. Meza Ruíz Graciela. REB 22(2): 60-66

nuevos fármacos contra algunos tripanosomátidos. En busca de. Hernández-Alcántara Gloria. REB 22(1): 19-24

pirofosfatasa: Avances recientes. Las. García-Contreras Rodolfo y Romero Irma. REB 22(4): 183-190

plegamiento de los priones. El. Flores-Herrera Oscar, Martínez Montes Federico y Pardo Juan Pablo. REB 22(1): 25-34

Plástidos no fotosintéticos su papel metabólico y los intercambiadores de su membrana interna. Lara Núñez Aurora y Rodríguez Sotres Rogelio. REB 22(3): 130-137

Receptores Toll y mecanismo de transducción en la inmunidad innata. Ruíz-López Cielo y Gutiérrez-Venegas Gloria. REB 22(2): 67-75

residuos de cisteína en la estructura y función de las proteínas. El papel de los. González-Segura Lilian y Muñoz-Clarés Rosario A. REB 22(1): 2-10

TÍTULOS DE OTRAS COMUNICACIONES

Biología Celular y Molecular. Editores: Luis Felipe Jiménez y Horacio Merchant. García Sáinz J. Adolfo. (Comentarista). REB (4): 219-220

Convocatoria al XII Congreso de Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, A. C. REB 22(4): 225-228

CRUCIBIOQ y su solución. Metabolismo de aminoácidos. Saldaña Balmori Yolanda. REB 22(2): 87, 88 y 94

CRUCIBIOQ y su solución. Metabolismo del Colesterol. Saldaña Balmori Yolanda. REB 22(1): 36, 37 y 39

CRUCIBIOQ y su solución. Metabolismo de nucleótidos. Saldaña Balmori Yolanda. REB 22(4): 213, 214 y 218

CRUCIBIOQ y su solución. Química de los ácidos nucleicos. Saldaña Balmori Yolanda. REB 22(3): 156, 157 y 161

Diez años de la maestría en biología experimental del Instituto de Investigaciones Químico-Biológicas de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Uribe Carvajal Salvador. REB 22(1): 40-41

Informe del XI Congreso de Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, A. C. Saldaña Balmori Yolanda, Sánchez Meza Virginia y Morales López Sara. REB 22(3): 167-168

Informe del XXX Taller de Actualización Bioquímica Flores Herrera Oscar, Sosa Peinado Alejandro, Riveros

Rosas Héctor y Vázquez Contreras Edgar. REB 22(3): 162-166

Premio Nobel de Química 2003: Roderick Mackinnon y la ultraestructura de los canales iónicos. Gómora Martínez Juan Carlos. REB 22(4): 221-223

Problema Bioquímico II y su respuesta. Bioenergética, transporte de cadmio en cloroplasto. Mendoza Cózalt David y Moreno Sánchez Rafael. REB 22 (2): 86, 92 y 93

Problema Bioquímico I y su respuesta. Biología Molecular. Análisis de secuencias de DNA en bases de datos disponibles en el Internet. Saavedra Emma. REB 22(2): 85, 89-91

Problema Bioquímico y su respuesta. Cinética Enzimática: Inhibición por producto. Varela Gómez Marcela. REB 22 (3): 155, 158-160

Problema Bioquímico y su respuesta. Cinética Enzimática. Inhibición por sustrato. Moreno Sánchez Rafael y Emma Saavedra. REB 22(1): 35, 38 y 39

Problema Bioquímico y su respuesta. Estructura-función de proteínas. Rodríguez Zavala José S. REB 22(4): 212, 215-217

Taller de Actualización Bioquímica. Programa del XXXI. Departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina UNAM. REB 22(4): 230

Vocabulario Inglés-Español de Bioquímica y Biología Molecular (1ª entrega). Saladrigas Verónica y Claros Gonzalo. REB 22 (2): 95-111

Vocabulario Inglés-Español de Bioquímica y Biología Molecular (2ª entrega). Claros Gonzalo y Saladrigas Verónica. REB 22(3): 169-178

Vocabulario Inglés-Español de Bioquímica y Biología Molecular (3ª entrega). Claros Gonzalo, Saladrigas Verónica y González-Halphen Diego. REB 22(4): 231-238

INSTRUCCIONES PARA LOS COLABORADORES DE LA REVISTA DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA

La REB 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 el procesador de textos **Word**, 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: nombre 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:

Word K J (1992) Tolerance to alloantigens. En: The molecular biology of immunosuppression. Editor: Thomson A W. John Willey and Sons Ltd, pp81-104.

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 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 2002. En caso de emplear figuras previamente publicadas, deberá obtenerse 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 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

- 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.
- El contenido deberá ser desarrollado en forma resumida y de una manera explícita.
- El trabajo deberá enviarse igual que como se especifica con el inciso I-1.
- 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 a la Revista de Educación Bioquímica, Apartado Postal 70-281, México 04510, DF o bien por intermedio del corresponsal de la REB en su localidad.

POSGRADO EN CIENCIAS BIOQUÍMICAS UNAM

POSGRADO RECONOCIDO COMO DE EXCELENCIA INTERNACIONAL EN
MAESTRÍA Y DOCTORADO POR EL CONACYT

**Acércate y conoce las áreas de investigación en las que
puedes realizar tu Maestría y/o Doctorado**

FACULTAD DE QUÍMICA

- Biotecnología y Bioingeniería de Alimentos
- Bioquímica y Biología Molecular de Plantas
- Bioquímica Clínica
- Biomedicina Molecular

INSTITUTO DE FISIOLÓGÍA CELULAR

- Bioenergética de membranas
- Estructura y función de proteínas
- Transducción de señales
- Biofísica de canales iónicos
- Fisiopatología molecular

INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA

- Biología Estructural
- Biología Molecular
- Biología Molecular de Plantas
- Biología del Desarrollo
- Genética
- Genómica

Consulta nuestra página en:
www.posgrado.unam.mx/mdcbq

o dirígete a la

**Facultad de Química: Edificio de Alimentos y Biotecnología 1er. piso, Conjunto “E”,
Circuito de la Investigación Científica, Cd. Universitaria, 04510, D.F.**

Leticia García Gutiérrez: teléfono y fax: 56 22 52 99

e-mail: lgarcia@dgep.posgrado.unam.mx

o al

**Instituto de Biotecnología: Unidad de Docencia y Formación de Recursos Humanos
Chamilpa, Cuernavaca, Morelos**

Apartado Postal 510-3, Cuernavaca, Mor. c.p. 62271

Ing. Jalil Saab: teléfono 56 22 78 59

e-mail jalil@ibt.unam.mx