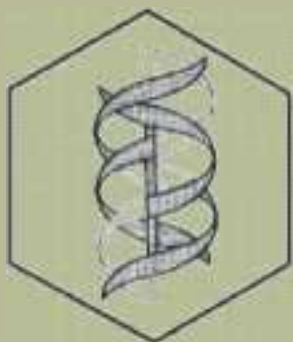


# REB 2006

---

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. 25

No. 2

JUNIO 2006

# COMITÉ EDITORIAL

## EDITOR EN JEFE

### JOSÉ VÍCTOR CALDERÓN SALINAS

Departamento de Bioquímica  
Centro de Investigación y de Estudios Avanzados

## EDITORES

### MARCO ANTONIO JUÁREZ OROPEZA

Facultad de Medicina  
Universidad Nacional Autónoma de México

### MINA KÖNIGSBERG FAINSTEIN

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

### GRACIELA MEZA RUIZ

Instituto de Fisiología Celular  
Universidad Nacional Autónoma de México

### JORGE JOEL REYES MÉNDEZ

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

### 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 Investigaciones Biomédicas, UNAM e  
Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición  
"Salvador Zubirán"

### ANA CECILIA ZAZUETA MENDIZÁBAL

Departamento de Bioquímica  
Instituto Nacional de Cardiología  
"Dr. Ignacio Chávez"

## 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

## ASISTENTE EDITORIAL

### MARIVEL ROJAS GARCÍA

Facultad de Medicina  
Universidad Nacional Autónoma de México

## CORRESPONSALES

### ROCÍO SALCEDA SACANELLES

**Coordinadora**  
Instituto de Fisiología Celular  
Universidad Nacional Autónoma de México

### MARÍA DE LOS ANGELES BOFFILL CÁRDENAS

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

### CARLOS CERVANTES VEGA

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

### JOSÉ CARLOS GARCÍA PIÑEIRO

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

### ALEJANDRO MARTÍNEZ MARTÍNEZ

Instituto de Ciencias Biomédicas  
Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, Chihuahua

### SERGIO SÁNCHEZ-ARMÁSSACUÑA

Departamento de Fisiología y Farmacología  
Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de San Luis Potosí

Publicación incluida por el Centro de Información Científica y Humanística de la Universidad Nacional Autónoma de México, en la base de datos Periódica, Iresie y Latindex.

**REVISTA DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA (REB)**, publicación trimestral. La presentación y disposición en conjunto y de cada página de la Revista de Educación Bioquímica son propiedad del editor. Derechos reservados © Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, A.C. Queda estrictamente prohibida la reproducción parcial o total por cualquier sistema o método mecánico o electrónico sin autorización por escrito del editor. Certificados de: Licitud de Título: 12000; Licitud de Contenido: 8397, expediente No. 1/432"2"/15792; Reserva al título en Derechos de Autor No. 04-2002-030616225500-102. (ISSN: 1665-1995); Reserva de título en Derechos de Autor para publicación electrónica No. 04-2005-092612014100-203 (ISSN: 187-3690). Diseño: Celia Virginia Sánchez Meza; Tiraje 750 ejemplares. Impresión: Departamento de Impresos de la Facultad de Medicina, UNAM. Distribuidor: Servicio Postal Mexicano, Reg. No. PP09-1001; UNAM-Departamento de Bioquímica y Facultad de Medicina. Distribución electrónica: Programa Universitario de Investigación en Salud (PUIS), UNAM (<http://computo.sid.unam.mx/Bioquimica> o bien <http://www.puis.unam.mx>). Correspondencia: Comité Editorial, Apartado Postal 70-281, Coyoacán, C. P. 04510, México, D. F. Correo electrónico [reb@bq.unam.mx](mailto:reb@bq.unam.mx).

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

# CONTENIDO

## COMITÉ EDITORIAL

## EDITORIAL

INVITACIÓN A CONSIDERAR LA LUCHA  
CONTRA LA OBESIDAD Y NO CONTRA  
EL OBESO

M. Eugenia Torres-Márquez.....39

## ARTÍCULOS

ÁCIDO LIPOTEICOICO: RECEPTORES Y  
MECANISMO DE TRANSDUCCIÓN

Gloria Gutiérrez-Venegas,  
Patricia Cardoso-Jiménez.....41

SEÑALIZACIÓN DE LA LEPTINA

María Eugenia Frigolet Vázquez Vela.....50

RECEPTORES PARA LA ANGIOTENSINA II  
DIFERENTES A LOS CLÁSICOS RECEPTORES  
MEMBRANALES AT<sub>1</sub> Y AT<sub>2</sub>;  
CARACTERÍSTICAS Y SU PAPEL EN EL  
FUNCIONAMIENTO CELULAR

Iván Pérez-Díaz, Marcia Hiriart,  
Jesús Alberto Olivares-Reyes,  
Guillermo Robles-Díaz.....55

## OTRAS COMUNICACIONES

PROBLEMA BIOQUÍMICO  
PARTICIPACIÓN DE LA CREATINA KINASA  
MITOCONDRIAL EN EL CONTROL DE LA  
FOSFORILACIÓN OXIDATIVA EN CORAZÓN  
DE RATA Y SU IMPLICACIÓN EN  
CONDICIONES PATOLÓGICAS

Karla Carvajal.....61

CRUCIBIOQ

AGUA Y pH

Yolanda Saldaña Balmori.....63

RESPUESTA AL PROBLEMA BIOQUÍMICO

Karla Carvajal.....65

SOLUCIÓN AL CRUCIBIOQ

Yolanda Saldaña Balmori.....66

## CONVOCATORIAS

XXVI CONGRESO NACIONAL DE LA SOCIEDAD  
MEXICANA DE BIOQUÍMICA, A. C. ....67

INSTRUCCIONES PARA LOS  
COLABORADORES DE LA REVISTA DE  
EDUCACIÓN BIOQUÍMICA.....68

# EDITORIAL

## INVITACIÓN A CONSIDERAR LA LUCHA CONTRA LA OBESIDAD Y NO CONTRA EL OBESO

Mundialmente más de mil millones de adultos tienen sobrepeso y más de 300 millones son obesos. Los datos suenan alarmantes cuando consideramos que los números van acompañados de un incremento en las consecuencias para la salud, como la diabetes y las enfermedades cardíacas o la hipertensión. Así que, nos podemos preguntar como lo hacen Hill y cols. en el 2003 (Science 299:853) ¿Por qué hay tantos obesos? ¿Quién tiene la culpa: la industria alimenticia, los obesos, los padres que no enseñan a sus hijos a comer menos y ejercitarse más o los científicos que no han encontrado una respuesta satisfactoria? La discusión tendrá conclusiones significativas si dejamos de asignar culpas y analizamos los hechos. Estos son:

- a) El incremento en la incidencia de la obesidad en la población no va acompañada de un aumento proporcional en el peso.
- b) El impulso de comer y las diferencias de peso, hasta cierto punto, están determinadas genéticamente.
- c) La obesidad puede (pudo) ser benéfica dependiendo del medio ambiente en el cual uno (o alguno de los ancestros) se encuentra (o se encontró).

El entendimiento de la interacción genes/medio ambiente que causa la obesidad requiere de un programa de estudio de investigación básica y clínica.

La ingesta de alimentos en los humanos se ve influida por factores emocionales, sociales y conductas aprendidas. Estas influencias sobrepasan los sistemas altamente conservados dentro del cerebro que sienten e integran las señales de los almacenes globales de energía, la ingesta energética reciente y la presencia de nutrientes específicos.

Es una creencia popular que el comer alimentos desgrasados es consistente con una disminución en la acumulación de ésta; no obstante, la búsqueda de una dieta saludable incluye grasa suficiente: la grasa que se consume o sintetiza *de novo* en las células se considera nueva; mientras que la grasa vieja es la que está almacenada en el tejido adiposo esperando ser utilizada. Existen evidencias (Cell Metabolism 1:319, 2005) de que la grasa

nueva puede activar un grupo de factores transcripcionales denominados receptores activados por proliferación del peroxisoma (PPAR) en el hígado, los cuales participan en el mantenimiento de los niveles de glucosa, grasa y colesterol.

En el hipotálamo, se reciben las señales de los almacenes de energía total de la grasa y de los cambios inmediatos en la disponibilidad de energía incluyendo los nutrientes en el intestino. También en éste se integran tales señales centrales y periféricas para entonces ejercer un control homeostático sobre la captación de alimento, los niveles de actividad física, el gasto energético y los sistemas endócrinos. El entendimiento de los circuitos neurales y las moléculas señal que las modulan ha progresado rápidamente a partir del descubrimiento de la leptina, cuyos mecanismos de acción son el tema de uno de los trabajos en éste número.

La susceptibilidad de respuesta al medio ambiente que lleva a la ganancia de peso varía considerablemente entre las personas, puesto que en la sociedad moderna se promueve el exceso de alimentación y la disminución del esfuerzo físico. Los humanos difieren en su capacidad para resistir la ganancia de peso debido a su facultad para convertir alimento en calor (termogénesis inducida por la dieta) (Science 307:1909, 2005) u otros eventos que llevan al catabolismo de grasas (lipolíticos) que serán el tema de revisión de un próximo número del REB.

En cuanto a la contribución ambiental a la obesidad, el grupo de Hill sugiere, con base a su estudio basado en encuestas realizadas en la Unión Americana, que si se disminuyera el balance energético en 100 Kcal/día (combinando la reducción en la ingesta energética y el incremento en la actividad física) se prevendría la ganancia de peso en la mayoría de la población. En hechos concretos, lo anterior equivaldría a caminar 15 min/día y/o comer unos pocos bocados menos en cada comida.

La consideración de que esto se aplica a la mayoría y no a toda la población es debido a que existe cierta determinación genética. Varias hipótesis (Science 299: 856, 2003) han planteado que, en la evolución de las poblacio-

nes era indispensable mantener reservas energéticas para periodos en los que la disponibilidad de alimentos era baja. Algunas poblaciones mantuvieron tales hábitos de vida, mientras que para otras fue necesario desarrollar un mecanismo de "desecho homeostático", que consiste en disipar energía en forma calor; en lugar de almacenarla como grasa. Este mecanismo habilitaba a los individuos a comer excesivamente alimentos de baja calidad para obtener los nutrientes esenciales sin la deposición de exceso de energía no esencial como grasa. El aumento de peso excesivo sería un obstáculo para la locomoción óptima, las capacidades de caza y la capacidad de pelear o huir.

La obesidad, nuevamente se pone de relevancia, tiene un componente multifactorial.

La información que se tiene a nivel molecular es universal; mientras que, la información a nivel nacional de las bases genéticas subyacentes al manejo de la regula-

ción de las vías metabólicas, se está realizando en varios institutos, centros de investigación y universidades del país. Algunos de estos proyectos de investigación (que se están llevando a cabo) consideran los factores ambientales. Evidentemente queda pendiente la implementación de programas de educación y la valoración de su efectividad, de acuerdo con la percepción y la capacidad que tenga la población para habilitarla. El dar continuidad a la investigación para prevenir esta epidemia creciente vale la pena tanto por el factor humano como por el factor social, pues la carga económica que impone a la sociedad no debe dejar de considerarse.

M. Eugenia Torres-Márquez  
Departamento de Bioquímica  
Facultad de Medicina UNAM  
metorres@servidor.unam.mx

# ÁCIDO LIPOTEICOICO: RECEPTORES Y MECANISMO DE TRANSDUCCIÓN\*

Gloria Gutiérrez-Venegas y Patricia Cardoso-Jiménez

## RESUMEN

Las infecciones bacterianas se caracterizan por las reacciones inflamatorias del hospedero a los agentes patógenos. Una posible explicación a este evento es la secreción de citocinas proinflamatorias por parte de las células del hospedero como respuesta a los componentes de la pared celular de bacterias Gram-positivas, en particular al ácido lipoteicoico (ALT). Durante las infecciones bacterianas, las células del hospedero reconocen al ALT a través de dos receptores: CD14 y el receptor tipo Toll 2 (TLR2). La unión del ALT al receptor TLR2 induce la activación de mecanismos de transducción y la secreción de citocinas como la interleucina-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), la interleucina-6 (IL-6) y el factor de necrosis tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ).

Como importancia clínica señalamos que el aumento en la incidencia de muertes por sepsis y choque séptico ocasionado por bacterias Gram-positivas, las cuales contienen ALT. El ALT al ser liberado por la bacteria promueve el daño de órganos. En esta revisión se describen los receptores del hospedero a los que se asocia ALT y los mecanismos de transducción involucrados en la expresión de citocinas proinflamatorias.

**PALABRAS CLAVE:** Bacterias Gram-positivas, ácido lipoteicoico, receptor tipo Toll.

## ABSTRACT

Bacterial infections are characterized by certain inflammatory reactions of the host by pathogens. A possible explanation for these findings is the secretion of proinflammatory cytokines by host cells triggered by cell wall components released from the bacteria. These responses have been demonstrated by the lipoteichoic acid (LTA) of Gram-positive bacteria. During bacterial infection, the cells recognize the cell wall components through two distinct receptors, CD14 and Toll like-receptor 2 (TLR2). The recognition and binding between TLR2 receptor and LTA induced activation of signaling transduction pathways that lead to the secretion of proinflammatory cytokines, including IL-1 $\beta$ , IL-6 and TNF- $\alpha$  from macrophages. LTA can be considered a virulence factor that has an important role in infections caused by Gram-positive bacteria. With regard to clinical significance, these infections cause sepsis and death associated to septic shock in the presence of Gram-positive bacteria, which contain LTA, toxic molecules that are released by the bacteria and become primary factors in organ damage and in infectious disease etiology. In this review, we describe LTA-associated host receptors and the transduction mechanisms involved in proinflammatory cytokine expression.

**KEY WORDS:** Gram-positive bacteria, lipoteichoic acid, TLR receptors, cytokines.

## INTRODUCCIÓN

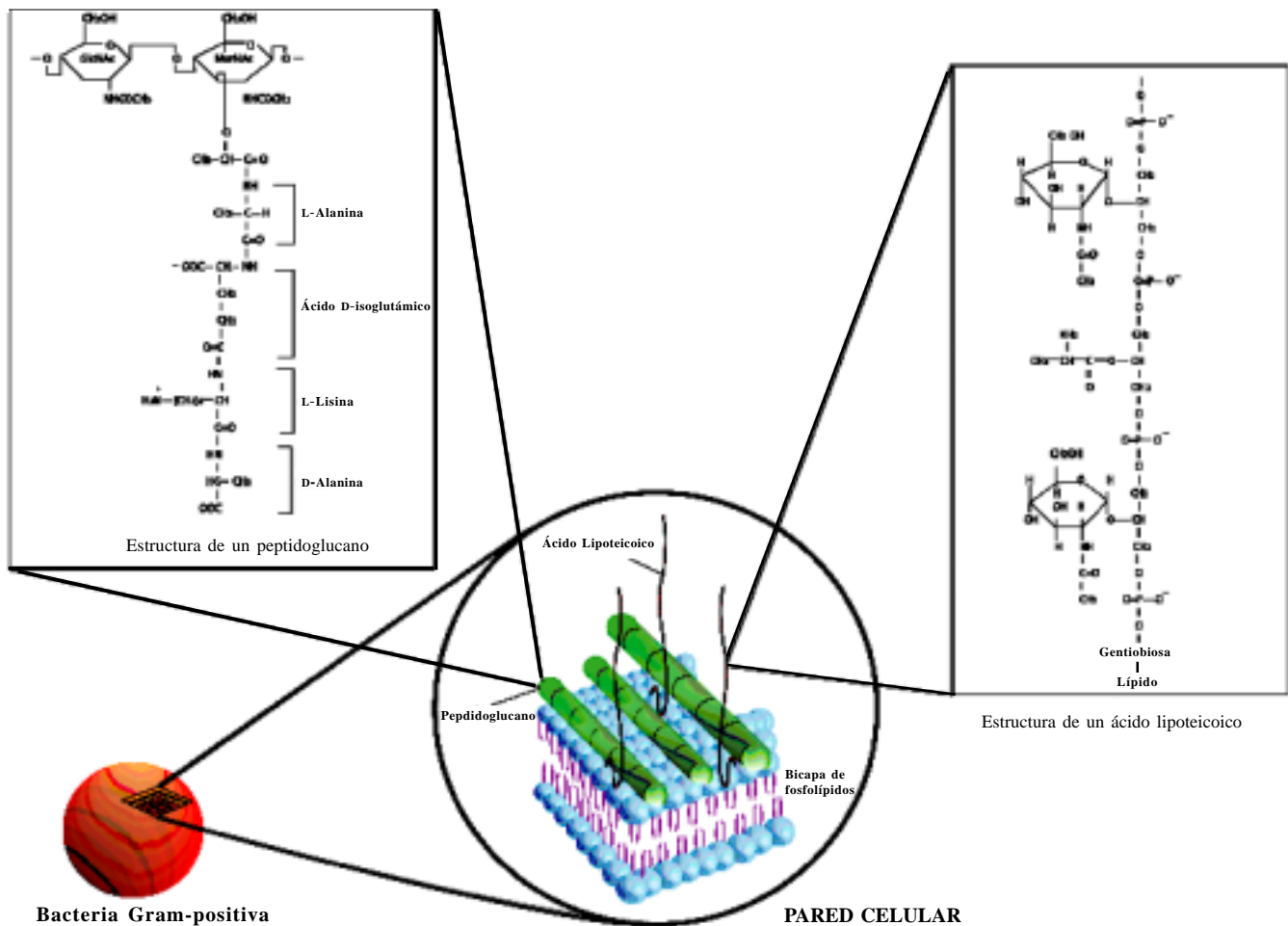
En la Unión Americana se presentan al año aproximadamente 500,000 casos de sepsis y del síndrome de disfunción multiorgánica (1). En la terapia intensiva pediátrica de la ciudad de México la disfunción multiorgánica fue causa de 20 a 30% de las defunciones en el año del 2002.

Por mucho tiempo se consideró que estos padecimientos eran ocasionados por bacterias Gram-negativas como *Pseudomonas* y *Enterococcus*, en particular por los componentes de su pared celular como son los lipopolisacáridos (LPS). Actualmente se sabe que los LPS por sí mismos no pueden producir todas las características del

síndrome de disfunción multiorgánica y que se requiere de la participación de bacterias Gram-positivas, las cuales carecen de LPS (2). Tal es el caso de *Staphylococcus aureus* que es una bacteria Gram-positiva y que a pesar de que carece de LPS está asociada al desarrollo de las siguientes enfermedades: neumonía, meningitis,

\*Recibido: 22 de noviembre de 2005 Aceptado: 6 de junio de 2006

Laboratorio de Bioquímica, División de Estudios de Posgrado e Investigación. Facultad de Odontología. Universidad Nacional Autónoma de México D.F. C.P. 04510. Teléfono y Fax 56 22 55 54. Correo E: [gloria@fo.odonto.unam.mx](mailto:gloria@fo.odonto.unam.mx)



**Figura 1.** Ilustración de la estructura general de la pared celular de las bacterias Gram-positivas. La pared celular está compuesta de peptidoglucano formado por péptidos unidos al disacárido del ácido N-acetilmurámico (MurNAc), N-acetilglucosamina (GlcNAc). De la membrana celular interna se proyecta la estructura del ácido lipoteicoico (ALT).

endocarditis y septicemia, lo que sugiere que esta bacteria presenta otros factores de virulencia. Los peptidoglucanos y el ácido lipoteicoico (ALT) son dos de los principales componentes de las bacterias Gram-positivas que tienen actividades relacionadas con el desarrollo de sepsis (Fig. 1). En modelos experimentales tanto *in vivo* como *in vitro*, han mostrado que el ALT estimula respuestas inflamatorias, y que de igual forma estos componentes se encuentran asociados a infecciones específicas.

Se han identificado tres eventos ocasionados por bacterias Gram-positivas y que conducen a la liberación de citocinas por parte de diferentes células del hospedero como monocitos, macrófagos y células dendríticas. El

primero se produce por la presencia de componentes provenientes de las bacterias Gram-positivas, seguida de la interacción con receptores presentes en las células inmunes y finalmente por la activación de mecanismos de transducción que conducen a la expresión de moléculas proinflamatorias.

En esta revisión se describirá a los receptores involucrados en el reconocimiento del ALT, la activación de señales de transducción y la expresión de mediadores inflamatorios.

## HISTORIA

Los ácidos teicoicos (del griego: teichos: pared) se detectaron en el año de 1958 por Baddiley y colaboradores mientras investigaban el papel de las moléculas citidina difosfato-glicerol

(CDP-glicerol) y citidina difosforibitol (CDP-ribitol) (Fig. 1), que están presentes en las bacterias Gram-positivas (3). Las primeras moléculas que se aislaron de la pared celular mostraron ser polímeros del ribitol fosfato o del glicerol-fosfato que usualmente contienen residuos glucosil, ésteres de alanina o ambos. Debido a la diferencia estructural que presentaban estas moléculas, el término ácido teicoico se redefinió para incluir a todas las moléculas que contenían glicerol-fosfato o residuos de ribitol-fosfato presentes en la pared bacteriana, en la membrana o en polímeros capsulares.

El grupo de ácidos teicoicos de poliglicerol-fosfato se diferenció y denominó ácidos teicoicos intracelulares

porque se extraían de bacterias que no contenían pared celular (4). Posteriormente los ácidos teicoicos se detectaron en la membrana citoplasmática y se renombraron como ácidos teicoicos de membrana. Un tercer cambio a la denominación de los ácidos teicoicos, se sugirió ocho años después en la que se detectaron complejos de ácidos teicoicos y se describieron como compuestos anfifílicos en donde la estructura del poliglicerol-fosfato se une de forma covalente a los glucolípidos de membrana por unión fosfodiéster. De esta forma se caracterizaron a los ácidos lipoteicoicos como moléculas anfifílicas ancladas a la membrana citoplasmática por interacciones hidrofóbicas mientras que los ácidos teicoicos son moléculas que están covalentemente unidos al peptidogluclano de la pared celular (5).

Muchas bacterias Gram-positivas contienen ambos polímeros, pero el ácido lipoteicoico es el que predomina y su biosíntesis es menos dependiente de las condiciones de crecimiento bacteriano, en comparación con los ácidos teicoicos.

Como posibles funciones del ALT se ha propuesto que regula la función de las autolisinas (enzimas que ocasionan pequeños orificios en la pared celular). La naturaleza anfifílica del ALT parece ser muy importante para esta actividad ya que ésta se pierde al tratamiento con detergentes. Se ha demostrado en estudios *in vitro* que para llevar a cabo esta función es necesaria la formación de micelas (6).

Otra característica del ALT es su naturaleza polianiónica que le permite tener un papel clave en el mantenimiento del balance catión-divalente sobre la superficie celular, posiblemente, a través de la pared celular, mediante una interacción de intercambio iónico (6).

Un posible papel del ALT, que comparte con lipoglicanos, es que participan como mediadores de interacciones célula-célula, célula-sustrato, y la consecuente virulencia de la bacteria.

El ALT también se ha identificado como el responsable de la hidrofobicidad de la superficie en los *Streptococcus* del grupo A, en los cuales participa en la adherencia de la bacteria a la fibronectina en la superficie de células epiteliales, así como la adherencia de los *Staphylococcus saprophyticus* a las células uroepiteliales, en *Staphylococcus epidermidis* a los coágulos de fibrina-plaquetas y en *Staphylococcus aureus* con las células de mucosas, epiteliales y mesoepiteliales (7).

Todos los macroanfilos tienen un gran potencial de contribuir a la hidrofobicidad de la superficie y además de actuar como un puente entre ligandos y bacterias.

#### DIFERENCIAS ENTRE EL LPS Y ALT

Los LPS denominados también como endotoxinas, son moléculas anfifílicas presentes en las bacterias Gram-negativas. Estas bacterias se caracterizan porque la pared celular del peptidogluclano está rodeada de una membrana externa y a nivel de esta membrana se encuentra el LPS; esta molécula participa en la fisiología de las membranas y es esencial en el crecimiento y supervivencia bacteriana. El LPS es el blanco principal de interacción entre los antibióticos y los componentes del sistema inmune. Los LPS cuando son liberados juegan un papel importante en la patogénesis y la manifestación de infecciones de bacterias Gram-negativas y en particular en el choque séptico.

Por otra parte el ALT es un componente de la pared celular de las bacterias Gram positivas, bacterias que se caracterizan porque rodeando a la membrana citoplasmática se encuentra la pared celular de peptidogluclanos que a diferencia de las bacterias Gram-negativas, es más gruesa. Aunque al LPS se le ha considerado como el principal factor de virulencia bacteriano. En fechas recientes se ha demostra-

do que el ALT comparte muchas propiedades patofisiológicas con el LPS y que actúa como un potente agonista con propiedades antiinflamatorias y que juega un papel clave en la patofisiología del choque séptico (8). En la tabla 1 se muestran algunas de las principales diferencias que se presenten entre estas moléculas.

#### Composición y efectos del ALT

El ALT es un componente único de la pared celular de las bacterias Gram-positivas, es un polímero de glicerol-fosfato que contiene azúcar y dos grupos acilo, estos últimos le confieren la propiedad de anclarse en la membrana celular (Fig. 1). En la tabla 2 se muestran las diferencias en los lípidos de anclaje entre las diferentes especies. Una forma no acetilada del ALT es el ácido teicoico, que está unido covalentemente al peptidogluclano de la pared celular de las bacterias Gram-positivas. Desde 1993, el ALT se extrae con fenol seguido de una cromatografía de interacción hidrofóbica. Sin embargo, algunos reportes han señalado que durante la extracción del ALT puede haber contaminación con algún otro componente de la pared celular bacteriana como LPS o peptidogluclanos.

En estudios *in vitro* se demostró que los monocitos expresan interleucina-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), interleucina-6 (IL-6) y el factor de necrosis tumoral (TNF- $\alpha$ ) en respuesta al tratamiento con ALT.

El ALT aislado de *Bacillus subtilis*, *Listeria monocytogenes*, *Streptococcus pyogenes* y de cepas de *Enterococci*, promueven la liberación de las citocinas antes mencionadas en líneas celulares de macrófagos y monocitos (9).

Sin embargo, el ALT aislado de otras bacterias Gram-positivas como *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pneumoniae* no inducen liberación de citocinas. En el mismo estudio se muestra también que la inducción de citocinas ocurre tanto en



TABLA 1

Diferencias entre el lipopolisacárido (LPS) y el ácido lipoteicoico (ATL)			
	LPS	ATL	BIBLIOGRAFÍA
Ubicación	Componente principal de la lámina externa de la pared de bacterias Gram- negativas	Componente principal de la lámina externa de la pared de bacterias Gram positivas	LPS (17) ATL (18)
Función	- Estructural - Esenciales en el crecimiento y multiplicación bacteriana - Viabilidad bacteriana	- Estructural - Esenciales en el crecimiento bacteriano - Regulación de las concentraciones de calcio y magnesio en la pared celular Regulación de enzimas autolíticas - Posible función como acarreador en la pared celular durante la síntesis de ácidos teicoicos	LPS y ATL (19)
Forma purificada	Cilíndrica. La forma puede cambiar a laminar, cúbica y hexagonal dependiendo de la temperatura y fuerza iónica	Cónica formada por micelas esféricas con diámetro aprox. de 22 nm las cuales consisten en un número aproximado de 150 moléculas de ATL	LPS y ATL (19)
Porción tóxica	Lípido A		LPS y ATL (19)
Se liberan durante	Multiplicación y muerte bacterianas	Multiplicación y muerte bacterianas	LPS y ATL (19)
Receptor	TLR4, CD14, LBP	TLR2	LPS y ATL (19)
Sitio de inicio de sepsis bacteriana	- Enterico - Genitourinario	- Piel - Heridas - Estructuras de tejido blando - Sitios cateterizados	LPS y ATL (19)

TABLA 2

### Características del lípido de anclaje y unidades hidrofílicas de diferentes microorganismos Gram-positivos

ORGANISMO	LÍPIDO DE ANCLAJE	UNIDADES HIDROFÍLICAS	BIBLIOGRAFÍA
<i>Micrococcus</i> spp.	Diacilglicerol	Manano	(20)
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Indefinido pero contiene ácidos grasos	Colina y ribitolfosfato	(21)
<i>Bifidobacterium</i> spp.	Galactosildiacilglicerol	Glucogalactano	(22)
<i>Mycobacterium</i> spp.	Fosfatidilinositol	Arabinomanano	(23)
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	Indefinido pero contiene ácidos grasos	Arabinomanano	(24)
<i>Propionibacterium freudenreichii</i>	Fosfatidilinositol	Manano	(25)
<i>Streptococcus sanguis</i>	Indefinido pero contiene ácidos grasos	Heteropolisacárido	(26)
<i>Actinomyces viscosus</i>	Indefinido pero contiene ácidos grasos	Heteropolisacárido	(27)

presencia como en ausencia de suero, lo que sugiere que la estimulación no es dependiente de factores del complemento. Por otra parte, cuando el ALT es desacidado pierde la capacidad de estimular a monocitos, lo que demuestra que el componente lipídico es el que confiere al ALT su actividad biológica.

En otros estudios realizados en macrófagos se muestra que el ALT

cuando se obtiene de diferentes especies bacterianas, induce la expresión de TNF- $\alpha$  y de la enzima óxido nítrico sintasa, así como la producción de óxido nítrico. Estos estudios sugieren que la capacidad del ALT para estimular respuestas inmunes no depende de la especie. Sin embargo, el ALT obtenido de *Staphylococcus aureus* no induce la expresión de TNF- $\alpha$  ni la

producción de nitritos en las células antes mencionadas.

Las preparaciones de ALT que se obtienen únicamente por extracción fenólica estimulan a las células sólo cuando se utiliza a altas dosis. Por ejemplo, el ALT de *Staphylococcus aureus* induce la liberación de IL-12 en una línea celular de monocitos (1 a 10  $\mu\text{g/ml}$ ), así como la expresión de la enzima óxido nítrico sintasa inducible en cardiomiocitos y en la línea celular de macrófagos J774, la expresión de TNF- $\alpha$ , IL-6 e interleucina-10 (IL-10) en monocitos y células T (10) y de la ciclooxigenasa-2 en células epiteliales de pulmón. El ALT activa también las vías del complemento clásica y alterna. En estudios *in vivo*, el ALT extraído con fenol actúa en sinergia con el peptidoglucano para causar falla de órganos en ratas y proteger contra el daño por isquemia y la reperfusión del corazón y los riñones. Recientemente se demostró que la aplicación nasal de ALT provoca la infiltración de neutrófilos en los pulmones, lo que sugiere que el ALT comparte

muchas propiedades con los LPS.

Otros estudios muestran que preparaciones comerciales de ALT aislado de *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* y de *Streptococcus sanguis* contienen concentraciones significativas de LPS y de otros componentes distintos al ALT con capacidad de inducir respuestas inflamatorias (11). Por ejemplo, se ha demostrado que la capacidad del ALT para estimular la producción de óxido nítrico en macrófagos de rata RAW 264.7 es fuertemente atenuada por el tratamiento con polimixina, (péptido catiónico cíclico que se asocia con alta afinidad al LPS y reduce su toxicidad) lo que sugiere que la muestra que utilizaron para este estudio presentaba contaminación por LPS.

Pero cuando las preparaciones de ALT de *Streptococcus aureus*, *Bacillus subtilis* y *Streptococcus sanguis* fueron sometidas a cromatografía de interacción hidrofóbica se obtuvieron dos fracciones una enriquecida en ALT y otra en LPS. Al tratar los macrófagos con la fracción enriquecida en ALT, las células no sintetizaron óxido nítrico. Las preparaciones enriquecidas en ALT obtenidas de *Bacillus subtilis* y *S. pyogenes* inducen la liberación de TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 e IL-10 en macrófagos y linfocitos. En este estudio se reportó nuevamente que el ALT de *Staphylococcus aureus* no tuvo ningún efecto; algunos investigadores sugieren que durante la extracción del ALT se produce una descomposición en su estructura y por este motivo no presenta actividad biológica. La utilización de otros métodos como la extracción con butanol permite la obtención de ALT de *Staphylococcus aureus* con actividad biológica. En estudios *in vivo* este ALT no tiene efecto sobre la adhesión y emigración de leucocitos desde la microcirculación a los tejidos (diapédesis). Es por este motivo que deben realizarse mayores estudios que

permitan caracterizar la metodología más apropiada para la obtención de muestras purificadas de ALT y de esta manera caracterizar con precisión los efectos del ALT y determinar la parte activa de su estructura.

### Receptores

Los mecanismos de defensa por parte del hospedero contra patógenos, los realiza el sistema inmune a través de dos componentes denominados inmunidad innata y adaptativa.

La respuesta inmune adaptativa se caracteriza por la selección clonal de linfocitos antígeno específicos, es por tanto una respuesta tardía, pero tiene memoria y proporciona una protección prolongada, no participa en la patogénesis de la sepsis ni en la del choque séptico y se presenta solo en vertebrados. La inmunidad innata se manifiesta en vegetales y en animales invertebrados y vertebrados. Es de respuesta rápida y actúa directamente sobre los patógenos. En este tipo de respuesta participan monocitos, macrófagos y células dendríticas. Se ha demostrado que tanto los macrófagos como las células dendríticas pueden ser activadas por componentes bacterianos como LPS y ALT.

A finales del siglo veinte se encontró que los receptores Toll se activaban en defensa contra las infecciones por hongos en la mosca de la fruta *Drosophila melanogaster*; organismo que solamente tiene inmunidad innata (12). Tagushi descubrió el primer TLR en humanos al que denominó TIL y que actualmente corresponde al receptor TLR1. Un año después se descubrió un homólogo del receptor Toll en mamíferos (actualmente denominado TLR4) y se mostró que la activación del receptor inducía la expresión de genes involucrados en respuestas inflamatorias. Después de la caracterización del primer receptor tipo Toll (TLR) se identificaron diversas proteínas que estructuralmente estaban

relacionadas con TLR4. Actualmente los TLR comprenden una amplia familia conformada por al menos 11 miembros. Los receptores TLR 1-9 están conservados en humanos y ratón. Sin embargo, TLR10 es funcional en humanos y el TLR 11 en ratón.

Los receptores Toll son proteínas transmembranales con un dominio extracelular que contiene una región de repeticiones de leucina y un dominio intracelular homólogo al receptor de interleucina 1 $\beta$  denominado Toll/receptor IL-1 (TIR).

El receptor TLR2 reconoce una gran variedad de componentes microbianos entre los que se encuentran las lipoproteínas y lipopéptidos de varios patógenos, peptidoglucano y ácido lipoteicoico de bacterias Gram-positivas, lipoarabinomano de micobacteria y glucolípidos de *Treponema maltophilum* (8).

Los receptores TLR2 reconocen un amplio rango de productos bacterianos debido a la cooperación con diversas proteínas. Se ha demostrado que forma heterodímeros con otros TLR como TLR1 y TLR6 los cuales estructuralmente están relacionados con TLR2. De igual forma colabora con distintos tipos de receptores como dectina-1, receptor de la familia de las lectinas para  $\beta$ -glucano componente de la pared celular de hongos. Otras observaciones muestran también que los dominios citoplasmáticos de diferentes TLR no son funcionalmente equivalentes, lo que sugiere que la capacidad de tipos celulares específicos para responder a bacterias Gram-positivas no está definida solamente por la expresión de TLR2. La expresión diferencial y heterodimerización entre los receptores TLR incrementa el repertorio de respuestas celulares que pueden activarse por diversos estímulos infecciosos, y es posible que esta sea la base para las respuestas celulares específicas.

Ratones deficientes en TLR2

(TLR2  $-/-$ ) son susceptibles a la infección por *S. aureus* y *S. pneumoniae* (12). Se ha demostrado también que la transfección de TLR2 en células CHO o HEK293, les confiere la habilidad de activar al factor nuclear- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) en respuesta al tratamiento con ALT. En ambos estudios la co-transfección con CD-14 incrementa la activación del receptor TLR2. A fin de elucidar el papel de estos receptores en la respuesta celular a los componentes microbianos se obtuvieron ratones deficientes en TLR2 ( $-/-$ ) o TLR4 ( $-/-$ ). En respuesta a ALT los macrófagos peritoneales deficientes en TLR2 ( $-/-$ ) no sintetizaron TNF- $\alpha$  mientras que los deficientes en TLR4 ( $-/-$ ) sintetizaron grandes cantidades de TNF- $\alpha$ . Con base en todos estos experimentos se ha llegado a la conclusión de que los receptores TLR2 son las moléculas de reconocimiento del ALT (11).

Los receptores TLR2 responden a diversos productos bacterianos como lipoproteínas y peptidoglucanos, lo que demuestra que el receptor TLR2 no responde de forma exclusiva al ALT. En un estudio diferente, se demostró que células CHO transfectadas con los receptores TLR2 responden a *Listeria monocytogenes* pero no a *Streptococci* grupo B lo que sugiere que el receptor TLR2 puede discriminar entre dos bacterias Gram-positivas. En monocitos encontraron que la liberación de TNF- $\alpha$  inducida por ALT, se bloquea cuando las células son tratadas con anticuerpos monoclonales anti-TLR2. De igual forma existen evidencias que demuestran que el receptor TLR4 confiere resistencia a las infecciones por pneumococo mediante la interacción con pneumolisina

En células humanas el TLR2 se expresa predominantemente en monocitos, macrófagos, neutrófilos, células T y células B. Sin embargo, otros tipos de células sintetizan RNA mensajero para TLR2 y otros tipos de TLRs. La expresión y eficacia de los

TLR para la activación de señales de transducción es regulada por MD-1 y MD-2 (13). El receptor CD14 actúa en concierto con el complejo TLR4/MD-2 para iniciar las respuestas a lipopolisacárido. Los peptidoglucanos también se asocian a CD14 y cuando se bloquea este receptor se inhibe la señalización inducida por ALT lo que sugiere que CD14 además de su relevancia en las respuestas a LPS también está involucrado en el reconocimiento de bacterias Gram-positivas. También se ha demostrado que el reconocimiento entre el ALT y los receptores TLR2 está mediada por la región de los carbohidratos.

### MECANISMO DE TRANSDUCCIÓN DE ALT

Entre las vías de transducción activadas en respuesta al tratamiento con ALT se encuentran la de las proteínas cinasas activadas por mitógeno (MAPK/p38) y la vía de fostatidilinositol-3 cinasa gamma (PI3K $\gamma$ ). En la sepsis en humanos la activación de MAPK/p38 está implicada en la granulocitosis y permite de esta forma restaurar la función inmune en sepsis.

### Vía Clásica estimulada por ALT

Una vez que el ALT se une a su respectivo receptor membranal (TLR2), entonces se activa la fosfatidilcolina-fosfolipasa C (PC-PLC) y la fosfatidilcolina-fosfolipasa D (PC-PLD) para inducir la activación de PKC, simultáneamente ocurre la activación de cinasas de residuos de tirosina. Estos efectos resultan necesarios para la consecuen- te fosforilación de las MAPK p42/44 y p38. La cascada de fosforilaciones descrita resulta en la estimulación de NF- $\kappa$ B y la subsecuente expresión de la ciclooxigenasa-2 (COX2) y liberación de prostaglandina E<sub>2</sub> (14).

Recientes estudios han demostrado que utilizando el inhibidor específico de la MAPK/p38 (SB 203580) se interrumpe la expresión de iNOS y la liberación de óxido nítrico (NO) cuan-

do se trata con ALT a la línea celular de macrófagos RAW 264.7. Estos resultados sugieren que la vía de transducción de las MAPK/p38 se encuentra también involucrada en la producción de nitritos. (13).

### Otras vías de transducción activadas por ALT

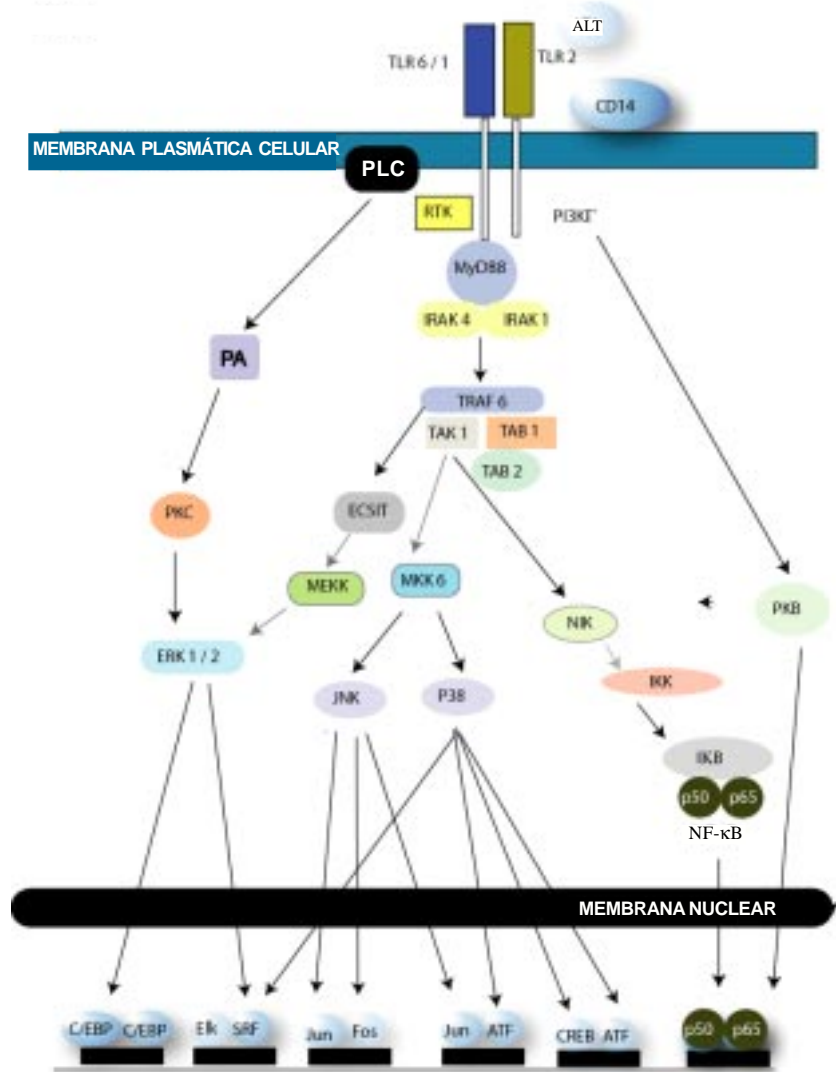
También se ha demostrado que PI3K $\gamma$  se activa por receptores acoplados a proteínas G durante procesos inflamatorios. Neutrófilos de ratón deficientes en PI3K $\gamma$  ( $-/-$ ) muestran isquemia, reducción en migración y peritonitis. Así mismo, se muestra también una reducción en la translocación de NF- $\kappa$ B y en la síntesis de TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$ . Estos estudios sugieren que PI3K $\gamma$  juega un importante papel en la activación de neutrófilos.

Después del reconocimiento entre TLR2 y el ALT se produce un amplio espectro de señales intracelulares como la activación de la familia de MAPK, de la proteína cinasa B (PKB) y de la cinasa del inhibidor- $\kappa$ B (IKK). El incremento en la actividad de estas cinasas consecuentemente activa a diversos factores de transcripción como NF- $\kappa$ B (en particular a los heterodímeros p50 y p65), Jun/Fos, factor de activación de transcripción (ATF), factor de respuesta a suero (SRF), proteína semejante a Ets (ELK), proteína de unión y aumento de CCAAT (C/EBP) y la proteína de fijación del elemento de respuesta a AMP cíclico (CREB). El primer evento que inicia la cascada de transducción consiste en la co-localización y agrupamiento de receptores y la generación de señales primarias de transducción en la membrana plasmática.

La señalización mediada por AMP cíclico inhibe la activación de la cinasa de respuesta extracelular (ERK), p38, MAPK y JNK en macrófagos peritoneales y también inhibe la expresión de TNF- $\alpha$ , NF- $\kappa$ B y la expresión de óxido nítrico sintasa inducible en células de Kupffer y monocitos (15).

En respuesta al tratamiento con *Streptococcus B*, los receptores TLR2, TLR6 y CD14 se agrupan y la primera molécula intracelular reclutada por el complejo es el factor de diferenciación mieloide (MyD88) el cual recluta y activa a la cinasa asociada al receptor de interleucina-1 (IRAK). IRAK forma multímeros que se autofosforilan y reclutan grandes complejos consistentes en el factor activado por el receptor a TNF (TNF/TRAF6), cinasa activadora del factor de crecimiento transformante  $\beta$ -1 (TAK1), proteína de asociación a TAK1 (TAB1) y TAB2.

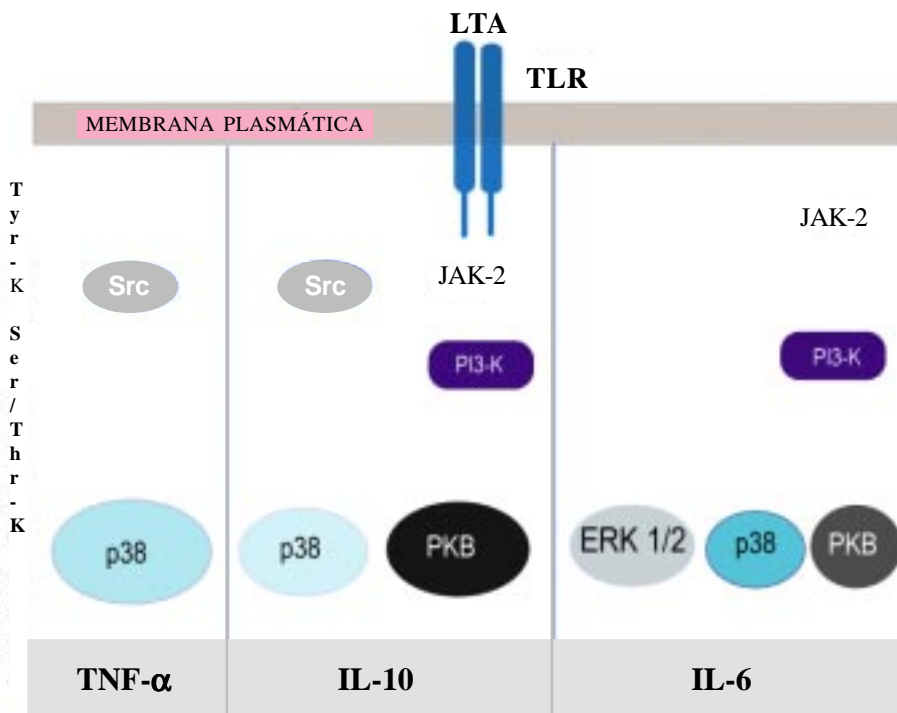
IRAK 4 fosforila a IRAK1, esta fosforilación es indispensable para la activación de la transducción de señales, en contraposición, recientemente se ha descrito que la forma IRAK-M actúa como inhibidor. Así mismo, la activación de TAK1 promueve su liberación del complejo y de esta forma activa a IKK $\beta$  y a la MAPK cinasa 6 (MKK6). La cinasa inductora de NF- $\kappa$ B (NIK) se requiere para la activación de la cinasa de I $\kappa$ B (IKK) que promueve la fosforilación, ubiquitinación y degradación en el proteosoma 26S de I $\kappa$ B y la translocación de NF- $\kappa$ B al núcleo. La proteína cinasa MAP- $\beta$  (MKK $\beta$ ) es responsable de la activación de las MAPK, p38 y la cinasa terminal N-JUN (JNK). En presencia de la proteína adaptadora denominada intermediario conservado evolutivo de la vía de Toll (ECSIT) y MEK cinasa (1/MKK1), TRAF6 puede activar a ERK 1/2. Sin embargo, ERK 1/2 también puede activarse por un mecanismo independiente de TRAF6, que involucra a la forma atípica de PKC la PKC $\zeta$  que está asociada a la acumulación de ácido fosfatídico, lo que conlleva a la activación de ERK. Finalmente, se ha demostrado también la activación de la fosfatidilinositol-3 cinasa (PI3K) de una manera dependiente de PKB lo



**Figura 2.** Vías de señalización activadas por TLR2. El ALT se asocia a la membrana del hospedero por medio de los receptores TLR2 interviniendo también los TLR1/6 y CD14. A partir de estos eventos se permite la activación de algunas cinasas de la familia de las MAPK (ERK1/2, JNK y p38) y de la PI3K además de algunos factores de transcripción (ATF; C/EBP, CREB, NF- $\kappa$ B). ALT, ácido lipoteicoico; TLR, receptor semejante a Toll; PLC, fosfolipasa C; PKB, proteína cinasa B; PKC, proteína cinasa C; PI3K, fosfatidilinositol 3 cinasa; RTK, receptor con actividad de cinasa de residuos de tirosina; MyD88, factor de diferenciación mieloide; IRAK, cinasa asociada al receptor de interleucina 1; TRAF, factor de receptor activado; TAK1 cinasa activada por factor de crecimiento transformante; TAB, proteína de asociación a TAK1; MAPK, proteína cinasa activada por mitógeno; MKK, MAPK-cinasa; MEKK, MAPK-cinasa-cinasa; ERK1/2, cinasa de respuesta a señales extracelulares; JNK, cinasa N terminal de Jun; I $\kappa$ B, inhibidor de kappa B; IKK, cinasa de I $\kappa$ B; ECSIT, intermediario conservado evolutivo en la vía de Toll; MEK cinasa (1/MKK1), TRAF6 puede activar a ERK 1/2. Sin embargo, ERK 1/2 también puede activarse por un mecanismo independiente de TRAF6, que involucra a la forma atípica de PKC la PKC $\zeta$  que está asociada a la acumulación de ácido fosfatídico, lo que conlleva a la activación de ERK. Finalmente, se ha demostrado también la activación de la fosfatidilinositol-3 cinasa (PI3K) de una manera dependiente de PKB lo que conduce a la activación de NF- $\kappa$ B (Fig. 2).

que conduce a la activación de NF- $\kappa$ B (Fig. 2).  
Diversos reportes señalan que las células de Kupffer producen interleucina-6 (IL-6) y TNF- $\alpha$  durante el trauma, estas células también sintetizan citocinas anti-inflamatorias como

IL-10 en respuesta al tratamiento con ALT. La cinasa PKB que es activada a través de la vía de PI3K, así como la actividad de JAK-2, están involucradas en la expresión de IL-6 e IL-10, mientras que las cinasas de la familia Src participan en la expre-



**Figura 3.** Cinasas de señalización implicadas en la regulación de  $TNF-\alpha$ ,  $IL-10$ , e  $IL-6$  en células de Kupffer. Se ha demostrado que a través de una señal de TLR inducida por ALT son activadas las MAPK  $p42/p44$  (ERK1/2), MAPK  $p38$ , PI3-K/PKB, y las cinasas de residuos de tirosina Src y JAK-2 en macrófagos. Cada caja contiene las cinasas de señalización que se encuentran claramente implicadas en la regulación de la liberación de las citocinas que se muestran abajo (15). Tyr-K, cinasas de residuos de tirosina; Ser/Thr-K, cinasas de residuos de serina o treonina.

sión de  $TNF-\alpha$  (16). Como se muestra en la figura 3, el ALT de *S.aureus* al asociarse al receptor TLR2 activa cinasas de residuos de tirosina y cinasas de residuos de serina y treonina lo que conduce a la expresión de  $TNF-\alpha$ ,  $IL-6$  e  $IL-10$ .

### EFFECTO DEL ALT EN LA SEPSIS Y DAÑO A ÓRGANOS

La falla múltiple de órganos se ha demostrado en ratas anestesiadas tratadas con ALT. Existen evidencias que señalan que ALT actúa de manera sinérgica con los peptidoglucanos para causar falla respiratoria y sepsis en puercos. Pero a pesar de que se han observado estas actividades biológicas con el ALT, algunos investigadores consideran que las preparaciones de ALT utilizadas pueden contener moléculas no ALT que tienen la habilidad de inducir la expresión de  $TNF-\alpha$ . Se puede concluir que las interacciones entre el peptidoglucano y ALT en sus

implicaciones con el choque séptico y daño a órganos requieren de mayores estudios y de mejores métodos que permitan la obtención de muestras altamente purificadas, libres de otros productos bacterianos, en particular de LPS, para de esta forma realizar estudios que permitan una mejor caracterización de sus efectos.

### PERSPECTIVAS

Sin duda alguna la sepsis asociada a la falla múltiple de órganos es un problema de salud pública que ocasiona una alta morbilidad y mortandad. Por mucho tiempo al LPS se le ha considerado como el agente causal que desencadena la respuesta inflamatoria que se presenta en las etapas tempranas de la sepsis. Sin embargo, se ha comenzado a centrar la atención en dos componentes bacterianos tales como los peptidoglucanos y el ALT y sus efectos como moléculas promotoras de la inflamación y de inicio de sepsis.

Los peptidoglucanos y el ALT actúan como ligandos de los receptores TLR-2 y aunque ambos agentes inducen la expresión de moléculas proinflamatorias, se ha demostrado que estos ligandos producen respuestas biológicas diferentes. Por este motivo se deberá realizar un gran esfuerzo en el desarrollo de moléculas que actúen como inhibidores o antagonistas del ALT, peptidoglucanos y del LPS, con el propósito de establecer los efectos de cada ligando y su papel en la expresión de mediadores de procesos inflamatorios y a través de esta misma estrategia determinar el papel de los mismos en el desarrollo de sepsis. Sin embargo, no se han esclarecido las bases moleculares que expliquen de que forma los peptidoglucanos y el ALT actúan de forma sinérgica, lo que permitiría determinar cuales son los eventos en la señalización que conducen a la falla de órganos y de esta forma proponer nuevas terapias para contrarrestar estos efectos.

### CONCLUSIONES

El ALT es considerado como el principal factor de virulencia de las bacterias Gram-positivas. El ALT es una molécula anfifílica con un dominio lipídico que funciona como una molécula de adhesión que facilita la asociación de las bacterias a las células, la colonización y la invasión en tejidos. ALT se asocia los receptores TLR-2 lo que conduce a la activación de vías transducción que conducen a la translocación del factor  $NF-\kappa B$ . Sin embargo, deben realizarse mayores estudios que apoyen el papel del ALT como un importante factor de virulencia. Se requiere de muestras puras de ALT ya que, como hemos señalado, las muestras se contaminan fácilmente con el LPS durante su extracción.

Por otra parte, es importante desarrollar mayores estudios clínicos que permitan abatir la lisis bacteriana en el torrente sanguíneo e impedir la liberación de LTA y peptidoglucanos.

## REFERENCIAS

1. Bhakdi S, Klonisch T, Nuber P, Fischer W (1991) Stimulation of monokine production by lipoteichoic acids. *Infect Immun* 59:4614-4620.
2. Armstrong JJ, Baddiley J, Buchanan JG, Davison AL, Keleman MV, Neuhaus FC (1959) Composition of teichoic acids from a number of bacterial walls. *Nature* 25:247-248.
3. Armstrong JJ, Baddiley J, Buchanan JG, Carss B (1958) Nucleotides and the bacterial cell wall. *Nature* 2:1692-1693.
4. Critcheley P, Archibald AR, Baddiley J (1962) The intracellular teichoic acid from *Lactobacillus arabinosus*. *Biochem J* 85:420-431.
5. Knox KW, Wicken AJ (1972) Serological studies on the teichoic acids of *Lactobacillus plantarum*. *Infect Immun* 6:43-49.
6. Lambert PA, Hancock IC, Baddiley J (1997) Occurrence and function of membrane teichoic acids. *Biochim Biophys Acta* 472:1-2.
7. Carruthers MM, Kabat WJ (1983). Mediation of staphylococcal adherence to mucosal cells by lipoteichoic acid. *Infect Immun* 58:315-319.
8. Horn DL, Morrison DC, Opal SM, Silverstein R, Visvanathan K, Zabriskie JB (2000 Oct) What are the microbial components implicated in the pathogenesis of sepsis? *Clin Infect Dis* 31(4):851-858.
9. Bhakdi S, Klonisch T, Nuber P, Fischer W (1991) Stimulation of monokine production by lipoteichoic acids. *Infect Immun* 59:4614-4620.
10. Cleveland MG, Gorham JD, Murphy TL, Tuomanen E, Murphy KM (1996) Lipoteichoic acid preparations of Gram-positive bacteria induce interleukin-12 through a CD14-dependent pathway. *Infect Immun* 64:1906-1912.
11. Gao JJ, Xue Q, Zuvanich EG, Haghi KR, Morrison DC (2001) Commercial preparations of lipoteichoic acid contain endotoxin that contributes to activation of mouse macrophages in vitro. *Infect Immun* 69:751-757.
12. Medzhitov R, Preston-Hurlburt P, Janeway CA Jr. (1997) A human homologue of the *Drosophila* Toll protein signals activation of adaptive immunity. *Nature* 388:394.
13. Cao Z, Henzel WJ, Gao X (1996) IRAK: a kinase associated with the interleukin-1 receptor. *Science* 271:1128-1131.
14. Ninomiya-Tsuji J, Kishimoto K, Hiyama A, Inoue J, Cao Z, Matsumoto K (1999) The kinase TAK1 can activate the NIK-I kappaB as well as the MAP kinase cascade in the IL-1 signalling pathway. *Nature* 398:252-256.
15. Cao Z, Xiong J, Takeuchi M, Kurama T, Goeddel DV (1996) TRAF6 is a signal transducer for interleukin-1. *Nature* 383:443-446.
16. Dahle MK, Overland G, Myhre AE, Stuestol JF, Hartung T, Krohn CD, Mathiesen O, Wang JE, Aasen AO (2004) The Phosphatidylinositol 3-Kinase/Protein Kinase B Signaling Pathway Is Activated by Lipoteichoic Acid and Plays a Role in Kupffer Cell Production of Interleukin-6 (IL-6) and IL-10. *Infect Immun* 72:5704-5711.
17. Hellman J, Loiselle PM, Tehan MM, Allaire JE, Boyle LA, Kurnick JT, Andrews DM, Sik Kim K, Warren HS (2000) Outer membrane protein A, peptidoglycan-associated lipoprotein, and murein lipoprotein are released by *Escherichia coli* bacteria into serum. *Infect Immun* 68(5):2566-2572.
18. Fischer W (1994 May) Lipoteichoic acid and lipids in the membrane of *Staphylococcus aureus*. *Med Microbiol Immunol (Berlin)* 183(2):61-76.
19. Van Amersfoort ES, Van Berkel TJ, Kuiper J (2003 Jul) Receptors, Mediators, and Mechanisms Involved in Bacterial Sepsis and Septic Shock. *Clin Microbiol Rev* 16(3):379-414.
20. Owen P, Salton MR (1975) A succinylated mannan in the membrane system of *Micrococcus lysodeikticus*. *Biochem Biophys Res Commun* 21;63(4):875-880.
21. Briles EB, Tomasz A (1973). Pneumococcal C-substance, a choline-containing lipoteichoic acid. *J Biol Chem* 248(18):6394-6397.
22. Fischer W (1987) Lipoteichoic acid of *Bifidobacterium bifidum* Subspecies pennsylvanicum DMS 20239. *Eur J Biochem* 165(3):639-646.
23. Hunter SW, Brennan PJ (1990) Evidence for the presence of a phosphatidylinositol anchor on the lipoarabinomannan and lipomannan of *Mycobacterium tuberculosis*. *J Biol Chem* 265(16):9272-9279.
24. Koikeguchi S, Kato K, Ohta H, Fukui K, Tsujimoto M, Ogawa T, Takada H, Kotani S (1987). Isolation and characterization of an amphipathic antigen from *Corynebacterium diphtheriae*. *Microbios* 50:183-199.
25. Sutcliffe IC, Shaw N (1989). A novel inositol containing lipomannan from *Propionibacterium freudenreichii*. *FEMS Microbiol Lett.* 59:249-252.
26. Yamamoto T, Koga T, Mizuno J, Hamada S (1985). Chemical and immunological characterisation of a novel amphipathic antigen from biotype B *Streptococcus sanguis*. *J Gen Microbiol* 131(8):1981-1988.
27. Wicken AJ, Broady KW, Evans JD, Knox KW (1978) New cellular and extracellular amphipathic antigen from *Actinomyces viscosus* NY1. *Infect Immune* 22(2):615-616.

# SEÑALIZACIÓN DE LA LEPTINA\*

María Eugenia Frigolet Vázquez Vela

## RESUMEN

La obesidad es una enfermedad que forma parte del síndrome metabólico y la cual se ha descrito como un problema de salud pública en nuestro país y zonas industrializadas a nivel mundial. El entendimiento de los factores que conllevan al desarrollo de dicha enfermedad es esencial para su tratamiento. El producto del gen de la obesidad, la leptina, es el responsable de mantener el equilibrio energético en los animales. Esta revisión tiene como objeto describir la vía de señalización de la leptina y las moléculas involucradas en ella, así como determinar las perspectivas farmacológicas y nutricias para el tratamiento de la resistencia a la leptina que acompaña a la obesidad.

**PALABRAS CLAVE:** Obesidad, señalización, tirosina cinasa janus, transductor de señales y activador de la transcripción, supresor de la señalización por citocinas, proteína tirosina fosfatasa.

## ABSTRACT

Obesity is a key factor of metabolic syndrome and has been described as a public health problem in Mexico and industrialized countries. In order to treat obesity we need to understand the risk factors involved in the development of this illness. Leptin is the obesity gene product, which is the hormone responsible for maintaining energy homeostasis. The aim of this review is to describe the signaling pathway of leptin and participant mediators, as well as to determine pharmacological and nutritional perspectives for the treatment of leptin resistance that concurs with obesity.

**KEY WORDS:** Obesity, signaling, Janus kinase, Signal transducer and activator of transcription, Suppressor of cytokine signaling, Protein tyrosine phosphatase.

## EL GEN OB Y SU PRODUCTO, LA LEPTINA

El gen de la obesidad (OB) fue descrito por primera vez en 1950 gracias al descubrimiento de su homólogo mutado (*ob/ob*). Los defectos en los mutantes *ob* fueron entendidos de mejor manera cuando se utilizaron experimentos de parabiosis, es decir, cuando se logró una conexión parcial de los sistemas circulatorios de animales mutantes y normales. Estos ensayos dieron como resultado la normalización del peso corporal de los ratones mutantes (1).

Finalmente, el gen fue obtenido por clonación posicional y secuenciado hasta 1994 por Zhang y cols. (2). El tamaño del gen es de 4.5 kb y su producto de 167 aminoácidos con un peso de 16 kDa. La secuencia de

aminoácidos es 84% idéntica entre ratones y humanos. Para estas fechas se sabía que las mutaciones en el gen provocaban el desarrollo de obesidad debido a la sensación alterada de hambre/saciedad y aumento en el consumo de alimento; sin embargo, no estaba claro qué tejidos secretaban el producto del gen OB, que más tarde llevaría el nombre de leptina (hormona proteica). La palabra leptina es originaria del griego *leptos*, que quiere decir delgado, refiriéndose al efecto protector de la misma contra la obesidad. En 1995, utilizando la técnica de "Northern Blot", se demostró que la leptina es secretada principalmente por el tejido adiposo y por otros tejidos como placenta y ovarios en menor concentración. En el mismo año se localizó al gen OB en el cromosoma 6

de ratón, el cual es homólogo al 7q del humano (3).

Algunos trabajos posteriores dieron evidencia de la relación entre las lesiones hipotalámicas y la resistencia a la leptina, con lo que se pudo concluir que la leptina tiene su lugar de acción en el sistema nervioso central para controlar el crecimiento del tejido adiposo. Se demostró también que la administración local de leptina a regiones hipotalámicas reduce el consumo de alimento y peso corporal en animales. Actualmente se sabe que las neuronas sensibles a leptina se encuentran en los núcleos hipotalámicos dorsal, ventral, medial y premamilar, los cuales a su vez expresan neuropéptidos como el neuropéptido Y, la proteína relacionada a agouti y el elemento inducible por cocaína (4).

\*Recibido: 6 de marzo de 2006 Aceptado: 6 de junio de 2006

Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán, Depto de Fisiología de la Nutrición. Vasco de Quiroga #15 Col. Sección XVI C.P. 14000 Correo E: [maru\\_frigolet@yahoo.com.mx](mailto:maru_frigolet@yahoo.com.mx)

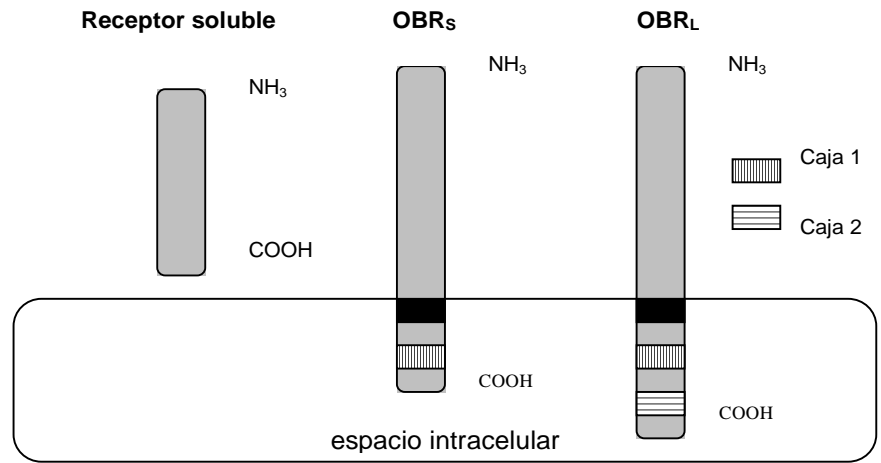
## SEÑALIZACIÓN

### El receptor de leptina

Así, los receptores de leptina localizados en el hipotálamo, que se encuentran codificados en el gen DB, fueron caracterizados por primera vez por Tartaglia *et al* (5). Estos receptores fueron identificados por medio de la construcción de una biblioteca de cDNA murino. El receptor, entonces, fue descrito como el que pertenece al tipo de receptores de citocinas clase I y contiene un sólo dominio transmembranal. Estos receptores tienen dominios extracelulares, constituidos por repeticiones de cuatro residuos de cisteína (6) y por cuatro arreglos estables de su estructura secundaria tipo fibronectina III (7).

Cuando se identificó el receptor de leptina, se pensó que era poco probable que se llevara a cabo la transducción de señales, pues el dominio intracelular estaba compuesto por sólo 34 aminoácidos. Sin embargo, utilizando la secuencia obtenida del receptor se pudieron identificar diferentes isoformas del mismo, incluyendo a aquella con un dominio intracelular de 303 aminoácidos (8).

Ahora se sabe que existen tres formas del receptor: la forma larga ( $OBR_L$ ), la corta ( $OBR_S$ ) y la soluble. La forma larga, con capacidad de transducir señales, se expresa casi exclusivamente en el hipotálamo, en donde se había pensado que tenía su acción como inductor de saciedad (9). Los receptores de leptina cortos y largos son idénticos hasta el residuo de lisina 889 y el receptor soluble es idéntico a los demás río arriba del residuo de histidina 796. Lo anterior da evidencia del procesamiento alternativo que sufre el receptor de la leptina para dar origen a diferentes formas de éste (8) (Fig. 1). Además, una mutación en el gen DB de ratón genera un codón de paro dando origen a un receptor truncado sin dominio intracelular, el cual es incapaz de provocar una señal. La



**Figura 1.** Las isoformas de los receptores de la leptina. Las cajas 1 y 2 contenidas en  $OBR_L$  son necesarias para la señalización de la leptina.  $OBR_S$ : receptor corto para leptina,  $OBR_L$ : receptor largo para leptina.

carencia de la señal culmina con el establecimiento de obesidad y diabetes en estos animales. El receptor corto es capaz de activar cascadas de señalización, pero su función primordial es la internalización y degradación de la leptina (10). La forma soluble del receptor tiene una gran afinidad por la leptina y se piensa que regula las concentraciones plasmáticas de la misma (11). Sin embargo, los receptores cortos y solubles al ser expresados en distintos tejidos al hipotálamo pudieran estar relacionados con eventos independientes del consumo de alimento, pues la leptina se ha visto involucrada en el control del ritmo circadiano (ciclo de aproximadamente 24 horas que regula el proceso del hambre y del sueño), maduración sexual, función renal y cardiovascular, formación de hueso, estimulación hematopoyética y actividad fagocítica de macrófagos (12).

En 1997 Devos y cols., utilizando la técnica de "crosslinking" (entrecruzamiento proteína-proteína), demostraron que la forma larga o corta del receptor de leptina forma homodímeros independientemente de la unión con su ligando. Lo anterior fue consistente con ensayos hechos previamente por Nakishima. Además, en el trabajo de Devos se habla de dos moléculas de leptina que se unen al

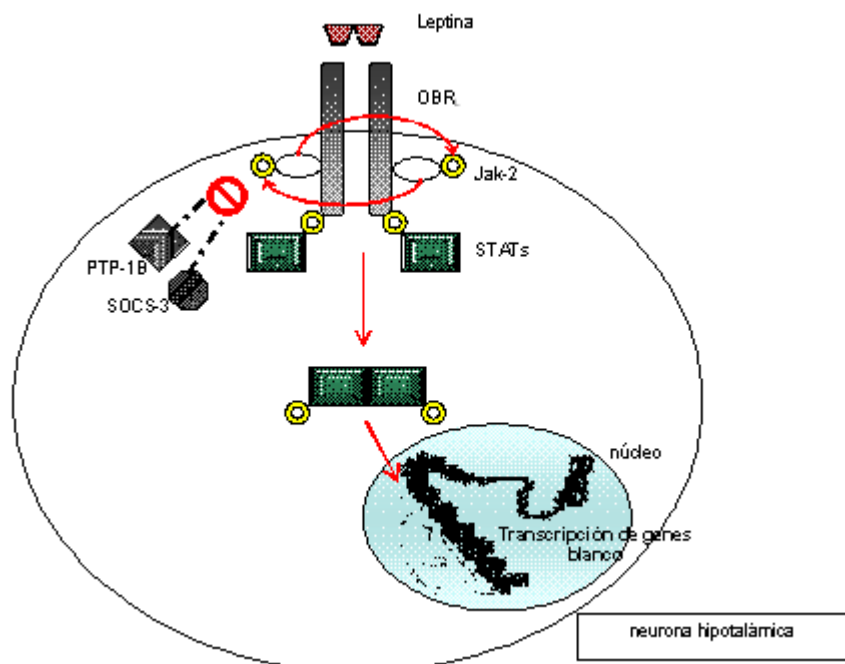
receptor dimerizado, o bien, unión de una molécula de leptina con una molécula de OBR con estequiometría de 1:1 (13).

### Cinasa de residuos de tirosina Janus/transductor de señales y activador de la transcripción

Los receptores de leptina carecen de actividad enzimática, pero se asocian a la cinasa de residuos de tirosina Janus (Jak) (9). La familia de las cinasas Jak consiste en Jak-1, Jak-2, Jak-3 y Tyk 2, todas contienen un dominio carboxilo terminal con actividad de cinasa (14). Específicamente, el OBR se une a Jak-2 por medio de secuencias de aminoácidos específicas, o bien, las cajas 1 y 2 del receptor (Fig. 1). La caja 1, bastante conservada y rica en residuos de prolina, es indispensable para activar a Jak-2 (15).

La unión de la leptina con su receptor activa a la cinasa Jak-2, ocasionando la fosforilación de proteínas blanco contenidas en el citoplasma. La activación de las Jaks dependiente de leptina lleva consigo dos consecuencias principales: la primera es la transfosforilación de las cinasas Jaks y la segunda es la fosforilación de ciertos residuos de tirosina en el receptor. Son estas fosforilaciones las que proveen un sitio de anclaje para otras





**Figura 2.** Modelo integrativo de la señalización de la leptina. La leptina se une a su receptor provocando la transfosforilación de Jak-2 y el anclaje y fosforilación de STAT-3. STAT-3, posteriormente, promueve la transcripción de genes blanco. SOCS-3 y PTP-1B actúan inhibiendo la fosforilación de Jak-2 e impidiendo la señalización de la leptina. Los anillos representan a los grupos fosfato. OBR<sub>L</sub>: receptor largo para leptina, Jak-2: cinasa de residuos de tirosina Janus-2, STAT: transductor de señales y activador de la transcripción, PTP-1B: proteína fosfatasa de residuos de tirosina-1B, SOCS-3: supresor de la señalización por citocinas-3.

moléculas, entre las que se encuentra el factor de transcripción STAT (transductor de señales y activador de la transcripción) (16).

Entonces, las proteínas STAT que han sido reclutadas son fosforiladas en residuos de tirosina por las cinasas Jak. Lo anterior precede a la disociación de STAT del receptor y la formación de heterodímeros u homodímeros. Los dímeros de STAT son capaces, a su vez, de translocarse al núcleo y actuar como factores de transcripción, gracias a su unión con elementos de respuesta de los promotores de algunos genes como supresor de la señalización por citocinas-3 (SOCS-3) (17) (Fig. 2).

En cuanto al OBR y su relación con STAT se ha visto que el OBR<sub>S</sub> es incapaz de activar proteínas STAT por lo que la disminución en la expresión de OBR<sub>L</sub> es suficiente para el desarrollo del fenotipo *db/db*. Además, aplicando la técnica EMSA (ensayos

de retardo de la movilidad en geles) se demostró que OBR<sub>L</sub> unido a su ligando activa a STAT-3, 5 y 6, pero no a STAT-1 ni 4 (9).

### Supresor de la señalización por citocinas-3

La señalización de la leptina puede ser bloqueada por el supresor de la señalización por citocinas-3 (SOCS-3) (18). Esta molécula es miembro de la familia de proteínas con dominios SH2 (dominios que contienen sitios específicos de unión para residuos de tirosina fosforilados). La proteína SOCS está compuesta por una región amino terminal variable, un dominio central SH2 y un dominio carboxilo terminal llamado caja SOCS. La región central SH2 no es suficiente para inhibir la señal Jak-STAT; la región amino terminal también es necesaria para lograr esto (19). SOCS funciona, aparentemente, uniéndose a Jak-2 sólo si la leptina se encuentra presente. La unión de

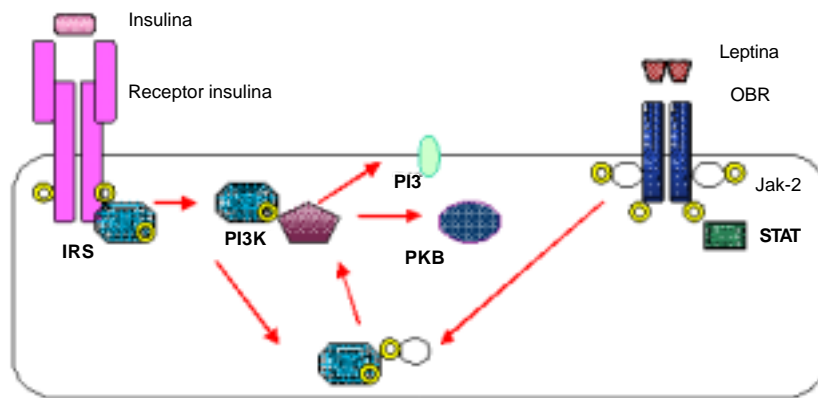
SOCS-3 con Jak-2 inhibe la autofosforilación de la cinasa y la fosforilación del receptor (20) (Fig. 2). Por la función que desempeña como inhibidor de la señalización de la leptina, SOCS-3 es posiblemente responsable de la resistencia a la leptina, como se explica a continuación. La hiperleptinemia que acompaña a la obesidad incrementa la expresión hipotalámica de SOCS-3 dando lugar a una reducción en la sensibilidad a la leptina (20) y el consecuente establecimiento de la resistencia a la leptina.

### Proteína fosfatasa de residuos de tirosina

Otra molécula que funciona como regulador negativo de la señalización de la leptina por medio de Jak-STAT es PTP-1B (proteína fosfatasa de residuos de tirosina 1B) (Fig. 2). La familia de PTPs en los mamíferos incluye a la fecha, de 50 a 60 miembros. Estas proteínas tienen un dominio catalítico compuesto por 250 a 300 aminoácidos, el cual se mantiene conservado con un porcentaje del 30% entre los miembros de esa familia (21). En el 2002 se demostró por primera vez el mecanismo de acción de PTP-1B sobre la actividad de la leptina. Para lograrlo, se administró leptina a ratones mutantes para el gen OB (*Lep<sup>ob/ob</sup>*) y para el gen PTP-1B, encontrando mayor sensibilidad a la hormona en estos animales. La explicación de este fenómeno se dio por medio de la utilización de un mutante de la fosfatasa con actividad catalítica disminuída, pero capaz de unirse a su sustrato. Finalmente, quedó claro, usando la técnica de inmuno-precipitación, que Jak-2 es sustrato de PTP-1B cuando la leptina está presente. Asimismo, los ratones mutantes nulos para PTP-1B tienen mayor estado de fosforilación de STAT-3 y sufren mayor pérdida de peso.

### Relación insulina/leptina

La insulina, al igual que la leptina, es



**Figura 3.** Señalización compartida por insulina y leptina. La insulina unida a su receptor causa fosforilación del mismo receptor provocando la unión de IRS, éste activa a PI3K, el cual convierte fosfatidilinositol-4,5-bisfosfato a PI3 y activa a PKB. Estas reacciones culminan con la translocación del transportador de glucosa. IRS es sustrato de Jak-2 por lo que la leptina tiene efecto sobre la señalización de la insulina. OBR: receptor para leptina, Jak-2: cinasa de residuos de tirosina Janus-2, STAT: transductor de señales y activador de la transcripción, IRS: sustrato del receptor de insulina, PI3K: cinasa-3 de fosfatidilinositol-4,5-bisfosfato, PI3: fosfatidilinositol-3,4,5-trisfosfato, PKB: proteína cinasa B.

una hormona que regula el estado energético de los animales. Se sabe que los adipocitos en cultivo, estimulados con insulina, liberan mayores concentraciones de leptina (22).

El receptor de insulina es un dímero, unido por un puente disulfuro, que consta de una subunidad  $\alpha$  y una  $\beta$ . Cuando éste se une a la insulina el receptor se autofosforila creando un sitio de unión para IRS (sustrato del receptor de insulina) y el último activa a PI3K (cinasa-3 de fosfatidilinositol-4,5-bisfosfato). Esta enzima consta de una subunidad p85 y una subunidad p110 (por sus pesos moleculares en kDa). La activación de PI3K sucede cuando p85 se une a un residuo de tirosina fosforilado de IRS. Una vez activa, PI3K cataliza la fosforilación de fosfatidilinositol-4,5-bisfosfato a fosfatidilinositol-3,4,5-trisfosfato (PI3) y activa a PKB (proteína cinasa B) (Fig. 3), reacciones que culminan con diferentes respuestas como supervivencia celular y translocación del transportador de glucosa en la célula (23).

Asimismo, la forma larga del receptor de la leptina tiene la capacidad de activar las vías dependientes de Jak/STAT y MAPK (proteína cinasa activada por mitógeno), además de es-

timular la fosforilación de residuos de tirosina de IRS (7). Si IRS, como se afirma, es un sustrato de Jak, entonces se tiene evidencia de que leptina e insulina comparten rutas para propagar la señalización (Fig 3).

Al respecto, Kim y cols. demostraron que después de la inyección intravenosa de leptina a ratas se incrementa la fosforilación de STAT-3, STAT-1 y MAPK en tejidos sensibles a la insulina como hígado y tejido adiposo. Además, la actividad de cinasa de PI3K asociada con IRS-1 se incrementa en el tejido adiposo cuando hay estimulación por leptina (24). También se sabe que la adición de hepatocitos incrementa la actividad de PI3K y PKB. El incremento se logra por medio de IRS-1 e IRS-2, los cuales asociados a PI3K, por medio de p85, son responsables del aumento en la actividad de las cinasas mencionadas. La leptina, al igual que la insulina, activa a la fosfodiesterasa 3B (PDE3B) a través de PI3K. La enzima PDE3B está encargada de revertir la ciclización de AMP, por lo que la leptina e insulina reducen la acumulación de cAMP por medio de PDE3B dependiente de PI3K (25).

## PERSPECTIVAS

Como se explicó, la resistencia a la leptina en obesos con hiperleptinemia es la causa de la falla en la terapia contra la obesidad utilizando leptina. Se entiende que las hormonas y las cinasas de las vías de las mismas hormonas, como tratamiento farmacológico, no son suficientes para resolver un padecimiento como es, en este caso, la obesidad. Se tendría que tener en cuenta, también, la posibilidad de inhibir a SOCS, PTP, o moléculas que revierten la actividad de las hormonas a estudiar.

Además de la posible terapia farmacológica, es también importante estudiar la influencia de la dieta sobre la acción de la leptina y su receptor como posible prevención a la resistencia a la leptina. Así, las dietas crónicas altas en lípidos pueden tener consecuencias como el desarrollo de obesidad, hiperleptinemia y resistencia a la leptina. Esto se explica por una menor concentración de la expresión de receptores de leptina en el hipotálamo de animales consumiendo dietas con alto contenido de grasa.

También, la composición de ácidos grasos en la dieta podría afectar la acción de la leptina mediante su receptor, pues se ha visto que la concentración de ácidos grasos insaturados en la dieta influye negativamente en la producción de citocinas (26). La producción de cAMP tiene, de igual forma, relación con la composición lipídica de la dieta. La molécula de cAMP tiene la capacidad de interrumpir la señalización por medio de Jak/STAT y de inhibir la fosforilación de STAT-3 (27). Así, la ingestión en exceso de ácidos grasos saturados aumenta la producción de cAMP. Por lo anterior, es necesario conocer mejor la influencia de la dieta sobre la acción de la leptina y desarrollar estrategias que ayuden a la prevención y tratamiento de la obesidad.

**Agradecimientos.** Este trabajo se realizó como parte del curso Transducción de Señales que imparte la Dra. Ma. Eugenia Torres-Márquez.

## REFERENCIAS

1. Coleman DL (1973) Effects of parabiosis of obese with diabetes and normal mice. *Diabetologia* 9: 294-298
2. Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM (1994) Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 372: 425-432.
3. Green ED, Maffei M, Braden VV, Proenca R, DeSilva U, Zhang Y, Chua SC Jr, Leibel RL, Weissenbach J, Friedman JM (1995) The human obese (OB) gene: RNA expression pattern and mapping on the physical, cytogenetic, and genetic maps of chromosome 7. *Genome Res* 5: 5-12.
4. Bjorbaek C, Uotani S, da Silva B, Flier JS (1997) Divergent signaling capacities of the long and short isoforms of the leptin receptor. *J Biol Chem* 272: 32686-32695.
5. Tartaglia LA, Dembski M, Weng X, Deng N, Culpepper J, Devos R, Richards GJ, Campfield LA, Clark FT, Deeds J, Muir C, Sanker S, Moriarty A, Moore KJ, Smutko JS, Mays GG, Wool EA, Monroe CA, Tepper RI (1995) Identification and expression cloning of a leptin receptor, ObR. *Cell* 83: 1263-1271.
6. Bazan JF (1990) Structural design and molecular evolution of a cytokine receptor superfamily. *Proc Natl Acad Sci USA* 87: 6934-6938.
7. Heim MH (1996) The Jak-STAT pathway: specific signal transduction from the cell membrane to the nucleus. *Eur J Clin Invest* 26: 1-12.
8. Lee GH, Proenca R, Montez JM, Carroll KM, Darvishzadeh JG, Lee JI, Friedman JM (1996) Abnormal splicing of the leptin receptor in diabetic mice. *Nature* 379: 632-635.
9. Ghilardi N, Ziegler S, Wiestner A, Stoffel R, Heim MH, Skoda RC (1996) Defective STAT signaling by the leptin receptor in diabetic mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 93: 6231-6235.
10. Uotani S, Bjorbaek C, Tornoe J, Flier JS (1999) Functional properties of leptin receptor isoforms. *Diabetes* 48: 279-286.
11. Chan JL, Bluher S, Yiannakouris N, Suchard MA, Kratzsch J, Mantzoros CS (2002) Regulation of circulating soluble leptin receptor levels by gender, adiposity, sex steroids, and leptin: observational and interventional studies in humans. *Diabetes* 51: 2105-2112.
12. Wauters M, Considine R, Van Gaal LF (2000) Human leptin: from an adipocyte hormone to an endocrine mediator. *Eur J Endocrinol* 143: 293-311.
13. Devos R, Guisez Y, Van der Heyden J, White DW, Kalai M, Fountoulakis M, Plaetinck G (1997) Ligand-independent dimerization of the extracellular domain of the leptin receptor and determination of the stoichiometry of leptin binding. *J Biol Chem* 272: 18304-18310.
14. Ihle JN (1995) Cytokine receptor signaling. *Nature* 377: 591-594.
15. Bahrenberg G, Behrmann I, Barthel A, Hekerman P, Heinrich PC, Joost HG, Becker W (2002) Identification of the critical sequence elements in the cytoplasmatic domain of leptin receptor isoforms required for Janus kinase/signal transducer and activator of transcription activation by receptor heterodimers. *Mol Endocrinol* 16: 859-872.
16. Bates S, Myers M (2004) The role of leptin-STAT 3 signaling in neuroendocrine function: an integrative perspective. *J Mol Med* 82: 12-20.
17. Bendinelli P, Maroni P, Pecori Giralardi F, Piccoletti R (2000) Leptin activates Stat3, Stat1, and AP-1 in mouse adipose tissue. *Mol Cell Endocrinol* 168: 11-20.
18. Endo TA, Masuhara M, Yokouchi M, Suzuki R, Sakamoto H, Mitsui K (1997) A new protein containing an SH2 domain that inhibits JAK kinases. *Nature* 387: 921-924.
19. Nicholson SE, Wilson TA, Farley A, Starr R, Zhang JG (1999) Mutational analyses of the SOCS proteins suggest a dual domain requirement but distinct mechanisms for inhibition of LIF and IL-6 signal transduction. *EMBO J* 18: 375-385.
20. Bjorbaek C, El-Haschimi K, Frantz JD, Flier JS (1999) The role of SOCS-3 in leptin signaling and leptin resistance. *J Biol Chem* 274: 30059-30065.
21. Espanel X, Walchli S, Gobert RP, El Alama M, Curchod ML, Gullu-Isler N, van Huijsduijnen RH (2001) Pulling strings below the surface. *Endocrine* 15: 19-28.
22. Barr VA, Malide D, Zarnowski MJ, Taylor SI, Cushman SW (1997) Insulin stimulates both leptin secretion and production by rat white adipose tissue. *Endocrinology* 138:4463-4472.
23. Niswender KD y Schwartz M (2003) Insulin and leptin revisited: adiposity signals with overlapping physiological and intracellular signaling capabilities. *Front neuroendocrinol* 24:1-10.
24. Kim JB, Uotani S, Pierroz D, Flier J, Kahn B (2000) In vivo administration of leptin activates signal transduction directly in insulin-sensitive tissues: overlapping but distinct pathways from insulin. *Endocrinology* 141:2328-2339.
25. Plum L, Schubert M, Brüning J (2005) The role of insulin receptor signaling in the brain. *Trends Endocrinol Metab* 16: 59-65.
26. Tappia PS, Ladha S, Clark DC, Grimble RF (1997) The influence of membrane fluidity, TNF receptor binding, cAMP production and GTPase activity on macrophage cytokine production in rats fed a variety of fat diets. *Mol Cell Biochem* 166:135-143.
27. Sengupta TK, Schmitt EM, Ivashkiv LB (1996) Inhibition of cytokines and JAK-STAT activation by distinct signaling pathways. *Proc Natl Acad Sci USA* 93:9499-9504.

# RECEPTORES PARA LA ANGIOTENSINA II DIFERENTES A LOS CLÁSICOS RECEPTORES MEMBRANALES AT<sub>1</sub> Y AT<sub>2</sub>: CARACTERÍSTICAS Y SU PAPEL EN EL FUNCIONAMIENTO CELULAR\*

Iván Pérez-Díaz<sup>1</sup>, Marcia Hiriart<sup>2</sup>, Jesús Alberto Olivares-Reyes<sup>3</sup>, Guillermo Robles-Díaz<sup>1</sup>

## RESUMEN

Las acciones de la angiotensina II (Ang II) son numerosas, desde un péptido vasoactivo a un péptido capaz de regular funciones celulares altamente específicas como la secreción de citocinas y la proliferación celular. Estas últimas acciones están relacionadas con los recientemente descritos sistemas locales generadores de Ang II. Hasta ahora, se reconoce que los receptores de siete dominios transmembranales AT<sub>1</sub> y AT<sub>2</sub> son los mediadores de las acciones de la Ang II. Sin embargo, al parecer algunos efectos de la Ang II podrían llevarse a cabo a través de su unión a péptidos distribuidos, tanto en el citoplasma como en la membrana nuclear y en la cromatina transcripcionalmente activa. Estos péptidos son estructural y farmacológicamente diferentes a los receptores típicos membranales AT<sub>1</sub> y AT<sub>2</sub>, por lo que han sido denominados por algunos autores como receptores "no AT<sub>1</sub> no AT<sub>2</sub>". En este trabajo se revisa la literatura acerca de la estructura, función y localización de estos receptores, elementos clave para describir mecanismos de acción de la Ang II y su papel en la regulación del funcionamiento celular.

**PALABRAS CLAVE:** Angiotensina II, sistema renina-angiotensina, sistema local generador de angiotensina II, receptor AT<sub>1</sub>, receptor AT<sub>2</sub>, receptores "no AT<sub>1</sub> no AT<sub>2</sub>".

## INTRODUCCIÓN

La angiotensina II (Ang II) es el producto principal de una serie de reacciones enzimáticas que ocurren en la circulación general y que se conoce

como sistema renina-angiotensina (SRA). Se ha establecido que la Ang II actúa en forma endocrina para mantener la presión arterial y el balance hidroelectrolítico (1). Sin embargo,

cada vez son más las acciones de la Ang II descritas, por ejemplo funciones tisulares altamente específicas como la secreción de citocinas y la proliferación celular (1). Clásicamen-

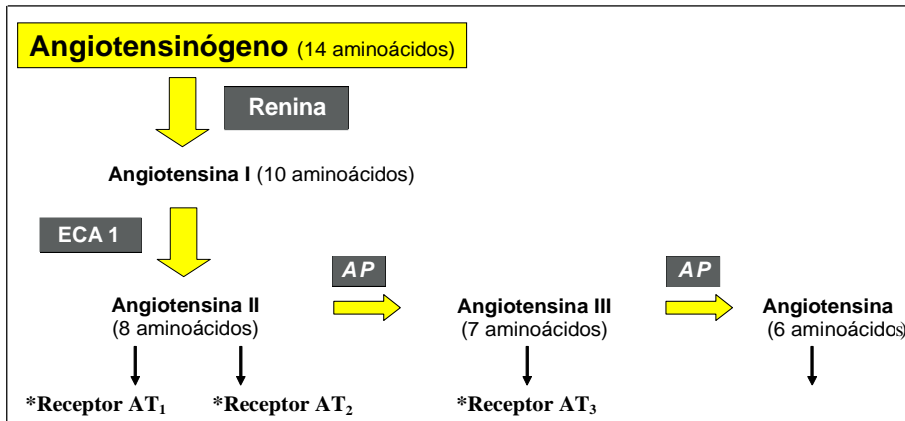
## ABSTRACT

The actions of Angiotensin II (Ang II) are becoming more and more numerous, turning from being only a vasoactive peptide into a peptide able to regulate specific cellular functions, like cytokine secretion and cellular proliferation. In addition, local Ang II generating systems have been described in most mammalian's tissues. Until now it is recognized that seven transmembrane domain receptors AT<sub>1</sub> and AT<sub>2</sub> are responsible for mediating Ang II actions. However, there is evidence suggesting that some of the Ang II effects are carried out through its union to sites spread as much in the cytoplasm, as in the nuclear membrane and the transcriptionally active chromatin, which probably correspond to peptides structurally and pharmacologically different from typical membrane receptors AT<sub>1</sub> and AT<sub>2</sub>, denominated "non AT<sub>1</sub> non AT<sub>2</sub>" receptors. This review comments about of the structure, function and location of these receptors, key elements that may explain action mechanisms of Ang II, and their role in the regulation of the cell function.

**KEY WORDS:** Angiotensin II, renin-angiotensin system, local angiotensin II generating systems, AT<sub>1</sub> receptor, AT<sub>2</sub> receptor, "non AT<sub>1</sub> non AT<sub>2</sub>" receptors.

\*Recibido: 13 de noviembre de 2005 Aceptado: 6 de junio de 2006

<sup>1</sup>Laboratorio de Hígado, Páncreas y Motilidad (HIPAM), Unidad de Medicina Experimental, Facultad de Medicina, UNAM. Calle Dr. Balmis # 148 C.P. 6726, México, D.F. México. Correo E: [ipdmed@yahoo.com](mailto:ipdmed@yahoo.com) <sup>2</sup>Instituto de Fisiología Celular, UNAM. Ciudad Universitaria, C.P. 04510 Universidad Nacional Autónoma de México. <sup>3</sup>Departamento de Bioquímica, CINVESTAV-IPN. Av. Politécnico # 2508 C.P. 07300, D.F. México.



**Figura 1.** Sistema renina-angiotensina circulante. El angiotensinógeno sintetizado y secretado principalmente por el hígado es cortado en la circulación por la renina (aspartil proteasa) secretada a nivel renal, generando así a la angiotensina I, la cual a su vez es cortada por la ECA 1 (enzima convertidora de angiotensina II tipo 1) dando lugar a la formación de angiotensina II. Además esta última es cortada por varias AP (aminopeptidasas) para formar angiotensina III y IV. 8.

\*Indica que el receptor puede reconocer otros productos de la angiotensina II como se muestra en la tabla 1.

te, los receptores de siete dominios transmembranales denominados  $AT_1$  y  $AT_2$  son considerados como los responsables de mediar las acciones endocrinas de la Ang II como la contracción y la relajación del músculo liso vascular. Por otra parte, hay evidencia de otros receptores para Ang II localizados en el citosol y en el núcleo celular y que se han denominado como "no  $AT_1$  no  $AT_2$ " (2). Las características y papel de estos receptores es poco conocida pero se considera que son los responsables de las acciones de la Ang II producida a nivel tisular por sistemas locales generadores de Ang II (SLGAII) (3).

### SISTEMA RENINA-ANGIOTENSINA (SRA)

Los componentes principales que forman este sistema son: la renina, el angiotensinógeno, la enzima convertidora de angiotensina tipo 1 (ECA 1), la Ang II y los receptores de siete dominios transmembranales  $AT_1$  y  $AT_2$  (Fig. 1).

La renina es una aspartil proteasa, sintetizada y almacenada en el aparato yuxtglomerular (área especializada de las nefronas), que cataliza de manera específica la liberación hidro-

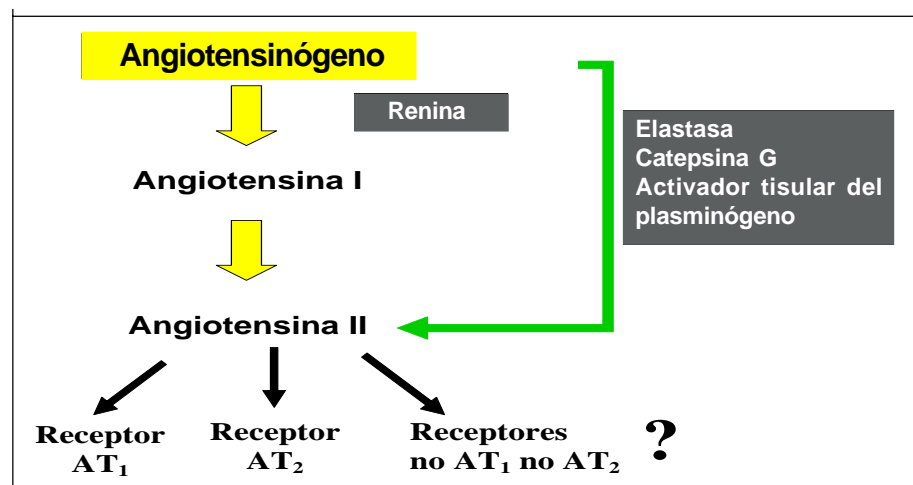
lítica del decapeptido angiotensina I (Ang I) a partir del angiotensinógeno de 14 aminoácidos, sintetizado principalmente en el hígado. Posteriormente, la Ang I es convertida al octapéptido Ang II por la ECA 1 (1).

La Ang II tiene una vida media biológica en la circulación que va de 15 a 60 segundos y constituye el producto final con mayor actividad biológica del SRA. La Ang II actúa en el músculo liso vascular, se considera un agente

muy potente que aumenta la presión sanguínea inclusive más que la noradrenalina. También actúa en la zona glomerulosa de la corteza suprarrenal estimulando la biosíntesis y secreción de aldosterona, en el túbulo proximal incrementando la resorción de sodio e inhibiendo la secreción de renina, y en el sistema nervioso en donde estimula la ingestión de agua y aumenta la secreción de vasopresina (4). La degradación de la Ang II por aminopeptidasas lleva a la formación de la angiotensina III y angiotensina IV (Ang III y Ang IV, respectivamente) (4). La degradación de la Ang II por aminopeptidasas lleva a la formación de la angiotensina III y angiotensina IV (Ang III y Ang IV, respectivamente) (4). La degradación de la Ang II por aminopeptidasas lleva a la formación de la angiotensina III y angiotensina IV (Ang III y Ang IV, respectivamente) (4).

### SISTEMA LOCAL GENERADOR DE ANGIOTENSINA II (SLGAII)

En algunos tejidos como el cardíaco, el renal y el nervioso, se han encontrado los componentes para generar Ang II (angiotensinógeno, renina, ECA 1), que junto con otras enzimas como la quimasa, la catepsina G o el activador tisular del plasminógeno producen Ang II, aunque puede prescindir de la renina (1) (Fig. 2). A este sistema de generación tisular de Ang II se le conoce como SLGAII para diferenciarlo del SRA que ocurre a nivel



**Figura 2.** Sistema local generador de Angiotensina II (SLGAII). El angiotensinógeno sintetizado a nivel tisular es cortado localmente por la renina tisular, generando angiotensina I, la cual puede ser cortada por enzimas como la ECA 1 (enzima convertidora de angiotensina II tipo 1), y la quimasa para formar angiotensina II. Además en los tejidos se puede generar angiotensina II directamente del angiotensinógeno por medio de las enzimas elastasa, catepsina G y el activador tisular del plasminógeno.

TABLA 1

Cuadro comparativo de las características de los receptores AT<sub>1</sub>, AT<sub>2</sub>, AT<sub>3</sub> y AT<sub>4</sub>

	Receptor AT <sub>1</sub>	Receptor AT <sub>2</sub>	Receptor AT <sub>3</sub>	Receptor AT <sub>4</sub>
<b>Cromosoma</b>	Cromosoma 3 (humanos) 17, 2 (murinos)	Cromosoma X	?	?
<b>Estructura</b>	7 dominios transmembrana 359 aminoácidos ~41 kD	7 dominios transmembrana 363 aminoácidos ~44 kD	?	IRAP ~1025 aminoácidos ~170 kD
<b>K<sub>d</sub> (Angiotensina II)</b>	~2-5 nM	~2-5 nM	~3.3 nM	~1-10 nM
<b>Isoformas</b>	Única en humanos AT <sub>1a</sub> , AT <sub>1b</sub> en roedores	?	?	?
<b>Orden de afinidad</b>	Ang II > Ang III	Ang II = Ang III	Ang IV > Ang II	Ang IV > Ang II
<b>Agonistas sintéticos</b>	?	CGP42112A	?	LVV-hemorfin-7
<b>Antagonistas sintéticos</b>	Bifenilimidazoles (Losartán, Candesartán etc.), saralasinina	Tetrahidroimidazopiridinas (PD123319, PD123177, EXP655), saralasinina.	?	Divalinal-angiotensina IV
<b>Distribución predominante</b>	Tejidos adultos	Tejidos fetales	Descrito únicamente en una línea celular	Sistema nervioso, Riñón
<b>Localización celular</b>	Membrana plasmática, citoplasma y núcleo por internalización del complejo Ang II-AT <sub>1</sub>	Membrana plasmática. No se internaliza	Membrana plasmática	Membrana plasmática
<b>Función</b>	Vasoconstricción, liberación de aldosterona, filtración glomerular, proliferación celular	Vasodilatación, antiproliferación, diferenciación celular	?	?

IRAP = siglas de su nombre en inglés *insulin-regulated membrane aminopeptidase*.

de la circulación (3). De hecho el SLGII opera en forma independiente del SRA, con lo cual se evita afectar las respuestas fisiológicas desencadenadas por este último para el mantenimiento de la presión arterial y el balance hidroelectrolítico.

La función del SLGII no está bien establecida, pero se asocia con un incremento en la expresión de sus componentes, en estados patológicos como el cáncer, en procesos isquémicos y en procesos inflamatorios.

### RECEPTORES MEMBRANALES PARA LA ANGIOTENSINA II

En la actualidad se considera que las múltiples acciones de la Ang II, tanto a nivel circulatorio (SRA) como a nivel de los tejidos (SLGII), son mediadas por dos subtipos principales de receptores: el receptor AT<sub>1</sub> y el receptor AT<sub>2</sub> (4). Ambos receptores perte-

necen a la familia de receptores con siete dominios transmembranales y comparten aproximadamente el 30 % de su secuencia de aminoácidos (5). Además de éstos, existen otros dos receptores membranales para la Ang II: el receptor AT<sub>3</sub> y el receptor AT<sub>4</sub> también denominados receptores atípicos, los cuales son capaces de unirse a la Ang II, y a sus productos: la Ang III y la Ang IV. En la tabla 1 se muestra de forma comparativa las características generales de estos cuatro receptores.

#### Receptor AT<sub>1</sub>

En los humanos, el receptor AT<sub>1</sub> es codificado por un solo gen ubicado en el brazo q, banda 22 del cromosoma 3, mientras que en los ratones se conocen 2 genes localizados en los cromosomas 17 y 2 que dan origen a dos formas del receptor AT<sub>1</sub> conoci-

das como receptor AT<sub>1a</sub> y receptor AT<sub>1b</sub> respectivamente, con más de 95% de similitud en su secuencia de aminoácidos. La distribución del receptor AT<sub>1</sub> ha sido estudiada extensamente, reconociéndose en la actualidad en la mayoría de los tejidos en humanos, primates y roedores, siendo además el tipo predominante en los adultos (4). Se caracteriza por acoplarse a proteínas G $\alpha_{q/11}$  (aunque también se puede acoplar a G $\alpha_{i0}$ , G $\alpha_{12/13}$ ). Esto le permite activar fosfolipasas como la A, la D, y la C. Esta última genera inositol 1, 4, 5-trisfosfato (IP<sub>3</sub>) y diacilglicerol, una molécula que activa a la proteína cinasa C (PKC) que fosforila diferentes proteínas que participan en acciones tales como: la contracción de músculo liso y la secreción de aldosterona, así como el crecimiento y la proliferación celular (6). De esta forma el receptor AT<sub>1</sub> es el

encargado de mediar la mayoría de las acciones conocidas de la Ang II como son la vasoconstricción y el incremento en la proliferación celular.

Otra característica del receptor  $AT_1$  es que al unir Ang II se produce una fosforilación importante de sus residuos de serina en el extremo carboxilo terminal, lo cual conlleva al reclutamiento de un grupo de proteínas denominadas arrestinas, permitiendo la endocitosis del complejo Ang II-receptor  $AT_1$  dentro de vesículas recubiertas con clatrina y la desensibilización del sistema. Una vez que el receptor  $AT_1$  es internalizado, puede ser degradado o desfosforilado y reciclado hacia la superficie celular, cabe aclarar que lo anterior no sucede con el receptor  $AT_2$  (7).

### Receptor $AT_2$

El gen que codifica al receptor  $AT_2$  se encuentra en el cromosoma X, tanto en humanos como en ratones (5). El receptor  $AT_2$  se expresa de manera predominante durante la etapa fetal, disminuyendo su expresión de manera considerable al momento del nacimiento, aunque se sigue detectando en niveles bajos en varios tejidos, por ejemplo: nervioso, cardíaco, y renal (4). Cabe mencionar que en la etapa adulta los niveles de expresión de este receptor se incrementan bajo condiciones de estrés o de daño tisular (6).

Las vías de señalización del receptor  $AT_2$  no se conocen del todo, sin embargo existe evidencia que apoya el acoplamiento del receptor  $AT_2$  a proteínas G inhibitoras ( $G\alpha_{i/2}$ ,  $G\alpha_{i/3}$ ) lo cual provoca la activación de fosfatasa de serina-treonina como la PP2A, así como de tirosina como la proteína tirosina fosfatasa SHP-1. Este acoplamiento provoca la desfosforilación de proteínas activadas por el acoplamiento del receptor  $AT_1$  con  $G_{\alpha_q}$  ( $AT_1$ - $G_{\alpha_q}$ ), siendo éste un mecanismo por el cual el receptor  $AT_2$ , antagoniza las acciones del receptor

$AT_1$  (4). Los efectos fisiológicos del receptor  $AT_2$  son contrarios a los del receptor  $AT_1$ , es decir participa en la vasodilatación y en la inhibición de la proliferación celular, además interviene en el desarrollo fetal y en la diferenciación tisular (4).

### Receptores $AT_3$ y $AT_4$

El receptor  $AT_3$  no ha sido completamente caracterizado, se ha identificado solo en una línea celular de ratón (Neuro-2A). Este receptor tiene alta afinidad por la Ang II, pero muestra baja afinidad para la Ang III (1).

El receptor  $AT_4$  ha sido caracterizado como una aminopeptidasa de membrana regulada por insulina (IRAP siglas de su nombre en inglés *insulin-regulated membrane aminopeptidase*), que muestra baja afinidad por la Ang II, y se ha reconocido en el tejido nervioso y renal.

Ni el receptor  $AT_3$  ni el receptor  $AT_4$  reconocen a los antagonistas específicos para el receptor  $AT_1$  (bifenilimidazoles como el losartán) o para el receptor  $AT_2$  (tetra-hidro-imidazopiridinas como el PD123319) (1, 8). A la fecha la función de estos receptores no se ha establecido.

### RECEPTORES "NO $AT_1$ NO $AT_2$ "

#### Evidencia de receptores en el citosol

En 1992 el grupo de Sugiura y colaboradores clonaron una de las proteínas citosólicas de hígado porcino capaz de unir Ang II y a sus análogos con afinidad similar a la del receptor membranar  $AT_1$  (9). Sin embargo, los autores no encontraron homología al comparar la secuencia de aminoácidos con la secuencia descrita para el receptor membranar  $AT_1$ . Además, estas proteínas no mostraron afinidad por el losartán o el EXP655 los cuales son antagonistas no peptídicos de los receptores membranales  $AT_1$  y  $AT_2$  respectivamente. Estos hallazgos sugie-

ren que en el citosol existen proteínas de unión para Ang II con propiedades estructurales y farmacológicas diferentes a los receptores membranales  $AT_1$  y  $AT_2$ .

#### Evidencia de receptores en el núcleo

En 1992, Tang y colaboradores (10) empleando preparados nucleares extraídos de hígado de rata y Ang II marcada con  $^{125}I$ , demostraron la presencia de sitios en el núcleo que unen Ang II con alta afinidad ( $K_d$  1.4 nM), así como la unión de diferentes péptidos análogos de la Ang II. Además, se observó que un antagonista del receptor  $AT_1$  (losartán), bloqueó y desplazó por completo la unión de la Ang II al receptor nuclear con una  $K_d$  similar a la observada a nivel membranar, lo que sugiere que ambos receptores comparten propiedades farmacológicas. En apoyo a estas observaciones se encuentra la identificación por medio de microscopía electrónica y Ang II marcada [ $^{125}I$ ] de sitios de unión para Ang II en envolturas nucleares extraídas de tejido hepático de rata, unión que era bloqueada por losartán, mientras que no se afectaba con antagonistas específicos del receptor  $AT_2$  (11).

También se ha demostrado la presencia de Ang II en el núcleo de neuronas de corteza cerebelar de rata, con predominio en la eucromatina transcripcionalmente activa (12). Por otra parte, Eggena y colaboradores pusieron de manifiesto el papel de la Ang II como un factor capaz de modificar la conformación de la cromatina y que se une a secuencias específicas del ADN, produciendo cambios en la expresión de genes blanco implicados en la proliferación celular. En este estudio se observó un incremento en el ARN total extraído de núcleos de tejido hepático murino, en respuesta a la Ang II ( $10^{-9}$  mol/L). También se observó que el ARNm específico tanto

para renina como para el angiotensinógeno se incrementaron. Estos efectos son inhibidos por el losartán, como por un antagonista no selectivo de los receptores membranales (saralasin) (13).

### Funcionalidad de los receptores "no AT<sub>1</sub> no AT<sub>2</sub>"

La funcionalidad intracelular de los receptores "no AT<sub>1</sub> no AT<sub>2</sub>" ha sido estudiada a través de los efectos de la Ang II sobre la contracción de músculo liso vascular y sobre la proliferación celular. A finales de los años noventa, se identificó un receptor funcional intracelular para la Ang II en el músculo liso vascular de la rata (aorta) (14). Este receptor comparte algunas propiedades farmacológicas con los receptores membranales AT<sub>1</sub> y AT<sub>2</sub>, por ejemplo, la contracción muscular inducida por la administración intracelular de la Ang II es inhibida con antagonistas específicos para cada receptor y también con el antagonista no selectivo. Sin embargo, la especificidad de este receptor se pone de manifiesto cuando no se afecta la contracción del músculo liso inducida por la Ang II al administrar intracelularmente un inhibidor específico del receptor de IP<sub>3</sub> (heparina), lo que sugiere su acción por una vía independiente de proteínas G y fosfolipasa C para producir contracción del músculo liso vascular.

La proliferación celular inducida de forma intracrina por la Ang II se ha estudiado en la línea celular de rata (H4-II-E-C3) (15), que tiene la capacidad de generar Ang II intracelularmente. Se observó que la transfección de las células con una forma no secretable del angiotensinógeno (Ang [-s] Exp), produjo un incremento en el índice mitótico y un aumento en el ARNm del PDGF; (siglas de su nombre en inglés *platelet derived - growth factor*). Al administrar anticuerpos contra la Ang II en

TABLA 2

Características de los receptores "no AT <sub>1</sub> no AT <sub>2</sub> "		
Localización celular	Citosol	Núcleo
Naturaleza	Proteica	Proteica
Peso molecular	75 kD	66 kD
K <sub>d</sub> (Angiotensina II)	?	1.4 nM
Antagonistas	CV11947 PD 123319	Saralasin Losartán
Tejido	Hígado (conejo) Músculo liso vascular (murino)	Hígado (murino)
Función	Vasoconstricción	Induce proliferación celular y secreción de citocinas

el cultivo celular no se modificaron los resultados, lo que sugiere que el efecto no es mediado por una vía extracelular y apoya la existencia de un sitio de acción intracelular para la Ang II. Por otra parte se observó que el efecto mitótico fue bloqueado en forma selectiva por el losartán, mientras que otro antagonista (candesartán) no fue capaz de bloquear dicho efecto (15). Lo anterior probablemente se debe a la internalización selectiva de complejos losartán-receptor AT<sub>1</sub> (16), ya que al bloquearse la internalización de los receptores AT<sub>1</sub> con óxido fenilarsénico en el cultivo celular, se suprime el efecto inhibitorio del losartán en la proliferación celular mediada por la Ang II generada de forma intracelular (15).

### ¿Puede la angiotensina II en el sistema circulatorio llegar a receptores "no AT<sub>1</sub> no AT<sub>2</sub>" intracelulares?

Como ya se mencionó anteriormente, la internalización del complejo Ang II-receptor AT<sub>1</sub> es un mecanismo de desensibilización y éste se conoce bien desde la década pasada. Es claro que el receptor membranal es capaz de migrar de la membrana plasmática al núcleo celular (17). De esta forma la Ang II proveniente de la circulación una vez que se une al receptor AT<sub>1</sub> puede penetrar a la célula. Al disociarse el complejo ligando-receptor (Ang

II-receptor AT<sub>1</sub>), la Ang II es degradada o puede interactuar con otros blancos intracelulares como los receptores "no AT<sub>1</sub> no AT<sub>2</sub>".

### CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

Algunos estudios sugieren que tanto en el citosol como en el núcleo celular existen receptores para la Ang II diferentes a los típicos receptores membranales AT<sub>1</sub> y AT<sub>2</sub>. Sin embargo, falta por establecer las características de estos receptores, y su papel en las funciones de la Ang II. Estos nuevos receptores parecen ser péptidos que comparten algunas propiedades farmacológicas con los receptores membranales AT<sub>1</sub> y AT<sub>2</sub> y parecen jugar un papel importante en las respuestas celulares desencadenadas por la Ang II que todavía son poco comprendidas (Tabla 2).

Los estudios revisados abren nuevos escenarios de acción para la Ang II en mecanismos de regulación celular, dejando atrás el concepto clásico de la Ang II sólo como un péptico vasoactivo, cuyas acciones se llevan a cabo a través de dos receptores membranales (Fig. 1).

Los estudios a futuro podrán dirigirse a establecer si el papel principal de los nuevos receptores denominados como "no AT<sub>1</sub> no AT<sub>2</sub>" se encuentra a nivel del SLGII, a través de



regular funciones tejido específicas tanto en condiciones fisiológicas como patológicas. Los receptores "no AT<sub>1</sub> no AT<sub>2</sub>" podrían explicar la localización de la Ang II en el núcleo y en particular en la cromatina transcripcionalmente activa, donde puede influir en forma directa sobre la síntesis de ARNm. La caracterización precisa de esta nueva clase de receptores para la Ang II abre la posibilidad de encontrar nuevos blancos potenciales para la modulación de la función celular de esta hormona.

## REFERENCIAS

- Dinh DT, Fauman AG, Johnston CI, Fabiani ME (2001) Angiotensin receptors: distribution, signalling and function. *Clin Sci (Lond)* 100:482-492.
- Filipeanu CM, Brailoiu E, Kok JW, Henning RH, De Zeeuw D, Nelemans SA (2001). Intracellular angiotensin II elicits Ca<sup>2+</sup> increases in A7r5 vascular smooth muscle cells. *Eur J Pharmacol* 420:9-18.
- Danser AH (2003) Local renin-angiotensin systems: the unanswered questions. *Int J Biochem Cell Biol* 35:759-768.
- Kaschina E, Unger T (2003). Angiotensin AT<sub>1</sub>/AT<sub>2</sub> receptors: regulation, signalin and function. *Blood Press* 12:70-88.
- Touyz RM, Schiffrin EL (2000) Signal Transduction mechanisms mediating the physiological and pathophysiological actions of angiotensin II in vascular smooth muscle cells. *Pharmacol Rev* 52:639-672.
- Escobar E, Rodríguez-Reyna TS, Arrieta O, Sotelo J (2004) Angiotensin II, cell proliferation and angiogenesis regulator: biologic and therapeutic implications in cancer. *Curr Vasc Pharmacol* 2:1-15.
- Thomas WG, Qian H (2003). Arresting angiotensin type I receptors. *Trends Endocrinol Metab* 14:130-136.
- Thomas WG, Mendelsohn FA (2003) Angiotensin receptors: form and function and distribution. *The International Journal of Biochemistry Cell Biology* 35:774-779.
- Sugiura N, Hagiwara H, Hirose S (1992) Molecular cloning of porcine soluble angiotensin-binding Prot. *J Biol Chem* 267:18067-18072.
- Tang SS, Rogg H, Schumacher R, Dzau VJ (1992) Characterization of nuclear angiotensin II binding sites in rat liver and comparison with plasma membrane receptors. *Endocrinology* 131:374-380.
- Booz GW, Conrad KM, Hess AL, Singer HA, Baker KM (1992) Angiotensin-II-binding sites on hepatocyte nuclei. *Endocrinology* 130:3641-3649.
- Erdmann B, Fuxe K, Ganten D (1996) Subcellular localization of angiotensin II immunoreactivity in the rat cerebellar cortex. *Hypertension* 28:818-824.
- Eggena P, Zhu JH, Clegg K, Barrett JD (1993) Nuclear angiotensin receptors induce transcription of renin and angiotensinogen mRNA. *Hypertension* 22:496-501.
- Brailoiu E, Filipeanu CM, Tica A, Toma CP, de Zeeuw D, Nelemans SA (1999) Contractile effects by intracellular angiotensin II via receptors with a distinct pharmacological profile in rat aorta. *Br J Pharmacol* 126:1133-1138.
- Cook JL, Zhang Z, Re RE (2001) In vitro Evidence for an Intracelular site of angiotensin action. *Cir Res* 89:1138-1146.
- Conchon S, Monnot C, Teursch B, Corvol P, Clauser E (1994) Internalization of the rat AT<sub>1a</sub> and AT<sub>1b</sub> receptors: pharmacological and functional requirements. *FEBS Lett.* 349: 365-370.
- Chen R, Mukhin YV, Garnovskaya MN, Thielen TE, Iijima Y, Huang C, Raymond JR, Ullian ME, Paul RV (2000) A functional angiotensin II receptor-GPF fusion protein. *Am J Physiol Renal Physiol* 279:F440-F448.

# PROBLEMA BIOQUÍMICO

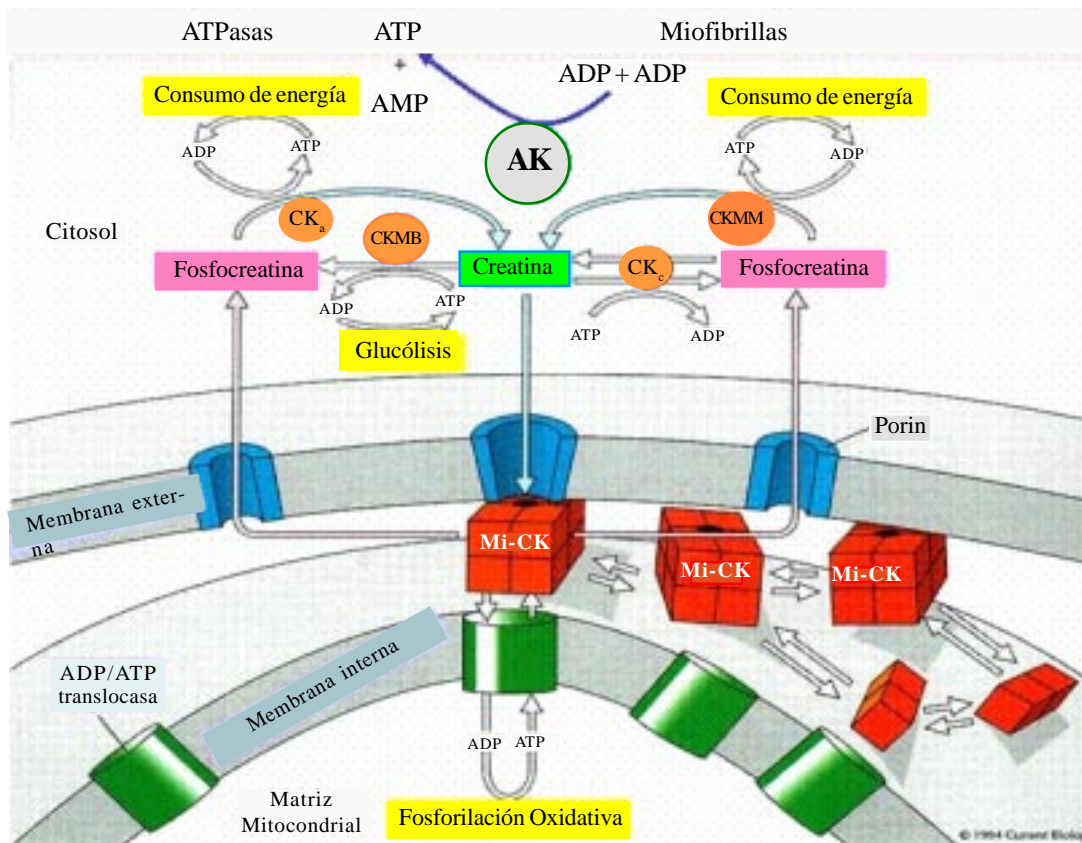
Karla Carvajal  
 Correo E: Karla\_ca@yahoo.com

## Participación de la creatina cinasa mitocondrial en el control de la fosforilación oxidativa en corazón de rata y su implicación en condiciones patológicas

La actividad cardíaca depende principalmente del ATP generado a través de la fosforilación oxidativa (FOX). Sin embargo, para asegurar que este ATP generado en la mitocondria sea utilizado exclusivamente por la maquinaria contráctil, la célula cardíaca utiliza un sistema de transferencia formado por el circuito energético de la creatina cinasa (CK). Dicho circuito consiste de dos isoformas

citósolicas y dos mitocondriales. En la mitocondria, la CK se asocia física y funcionalmente a la fosforilación oxidativa mediante la translocasa de adenín nucleótidos (intercambio de ADP del citosol por ATP interno), permitiendo que el ATP recién generado sea canalizado hacia la CK mitocondrial para producir fosfocreatina, la cual es entonces transportada hacia el citosol en donde la CK citosólica que se encuentra asociada a las miofibrillas, regenera el ATP a partir de ADP y PCr, permitiendo la utilización exclusiva del ATP en el proceso de contracción-relajación (Fig. 1) (1).

Este acoplamiento energético entre la mitocondria y el aparato contráctil mediado por el sistema de la CK se



**Fig. 1.** Esquema del circuito de la creatina cinasa y su asociación funcional con la fosforilación oxidativa. Mi-CK, isoforma mitocondrial, CK<sub>c</sub>, isoforma citosólica, CK<sub>MB</sub>, isoforma miofibrilar; AK, adenilato cinasa Modificado de (1).

encuentra sin embargo alterado en ciertas condiciones patológicas, como la insuficiencia cardiaca, la reperfusión postisquémica y otras cardiomiopatías (2). Pese a ello, no se ha definido hasta qué punto la CK contribuye al control de la velocidad de la FOX. En mitocondrias aisladas de corazones de ratas sanas y de ratas con déficit cardiaco (DC) se midió la estimulación de la FOX variando la concentración de creatina en el intervalo fisiológico, con el fin de variar la actividad de la CK mitocondrial. Calcular

el coeficiente de control de flujo de la CK mitocondrial sobre la FOX en ambos tipos de corazones y discutir la implicación de estos resultados en la actividad cardiaca de las ratas con déficit cardiaco. Considerar la concentración fisiológica de creatina como 15 mM en ambos casos y que el coeficiente de elasticidad de la CK mitocondrial es de 0.5 calculado a partir de sus parámetros cinéticos (Tabla 1) (3).

**TABLA 1**

<b>RESPIRACIÓN</b>		
<b>ng de átomos de oxígeno/min/mg proteína</b>		
<b>CREATINA mM</b>	<b>CONTROLES</b>	<b>DÉFICIT CARDIACO</b>
0	88.1	118.3
0.125	96	111
0.25	105.2	90.9
0.5	101.6	104.2
1.25	116.8	121.5
2.5	129.3	136
5	158.2	164.4
7.5	163.8	200.5
10	193	206.2
12.5	180.1	196
15	175.2	195
20	204.9	204.9
22	230.2	230.2
25	189	244.3

Datos de Carvajal y cols. (4).

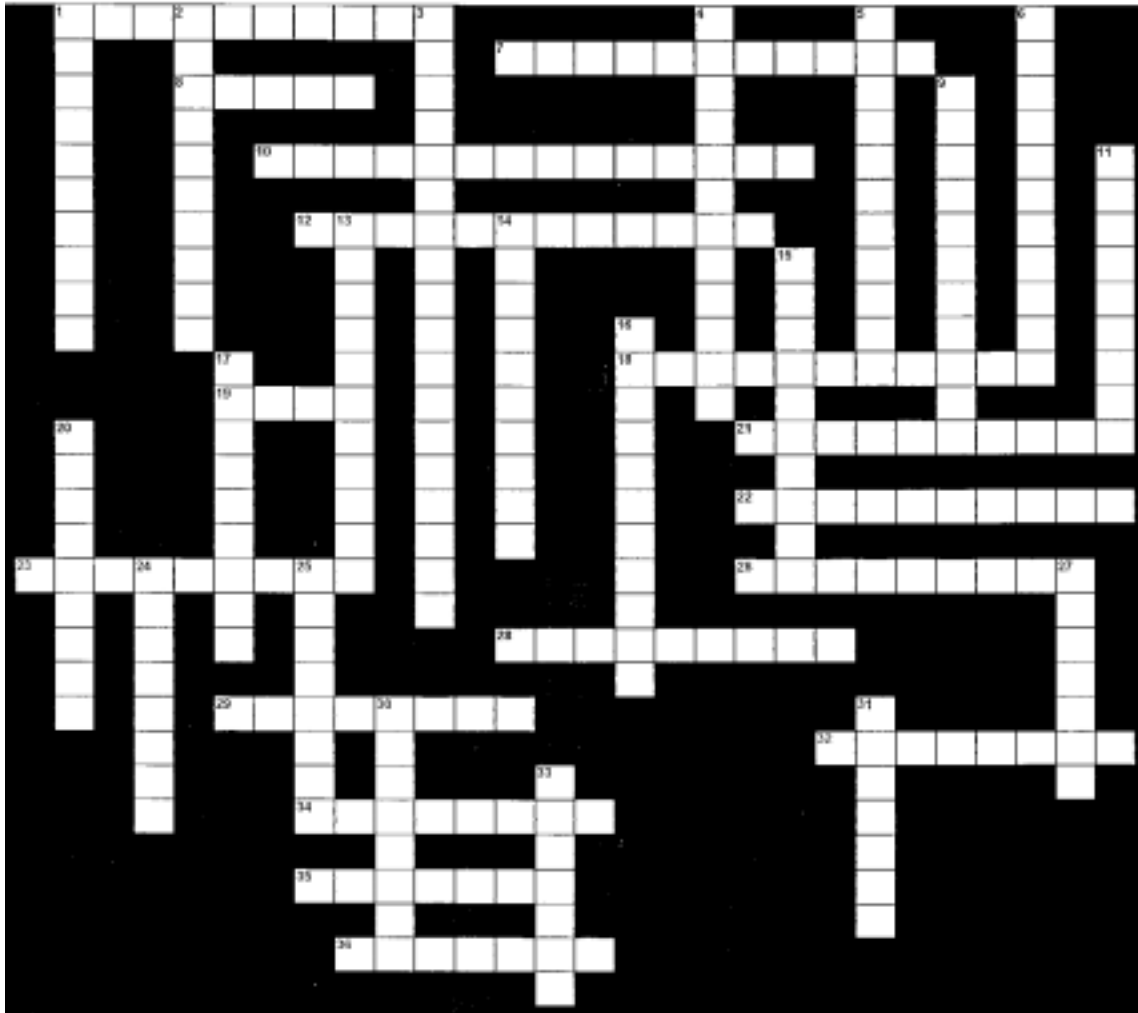
## REFERENCIAS

1. Walliman T (1994) Dissecting the role of creatine kinase. The phenotype of "gene knockout" mice deficient in a creatine kinase isoform sheds new light on the physiological function of the phosphocreatine circuit. *Curr. Biol.* 1:42-46.
2. Carvajal K, Moreno-Sánchez R (2003) Cardiac metabolic disturbances in cardiovascular diseases. *Arch Med Res* 34:89-99.
3. Kaldis P, Wallimann T (1995) Functional differences between dimeric and octameric mitochondrial creatine kinase. *Biochem J* 308:623-627.
4. Carvajal K, El Hafidi M, Marín-Hernández A, Moreno-Sánchez R (2005) Structural and functional changes in heart mitochondria from sugar-fed hypertri-glyceridemic rats. *BBA-Bioenergetics* 1709: 231-239.

# CRUCIBIOO

## AGUA Y pH

Yolanda Saldaña Balmori  
Correo E: balmori@laguna.fmedic.unam.mx



### HORIZONTALES

- 1 Función que realizan los ácidos biliares para que los alimentos con grasa sean emulsificados y puedan ser digeridos y absorbidos.
- 7 Constante que en una reacción, indica el equilibrio entre las concentraciones del ácido íntegro y de aquel que ha perdido uno o varios protones.
- 8 Así es el enlace entre el oxígeno y el hidrógeno del agua debido a que la distribución electrónica se desplaza hacia el oxígeno.
- 10 Soluciones formadas por un ácido débil y su base conjugada; tienen una marcada importancia para la vida, dado que mantienen en un rango muy pequeño las variaciones de pH.
- 12 El calor latente de \_\_\_\_\_ es la medida de la energía que se proporciona a una sustancia para que, al aumentar el movimiento de las moléculas se separen y pasen al estado gaseoso.
- 18 Utilizada por el organismo como un mecanismo de enfriamiento, ya que permite mediante la sudoración, pérdidas elevadas de calor.
- 19 Tiene peso molecular bajo, debido a su estructura química tiene la capacidad de formar grandes conglo-

merados que le ofrecen múltiples funciones; en los seres vivos puede actuar como solubilizadora y transportadora de sustancias, regular el pH, participar en el mantenimiento de la temperatura corporal, etc.

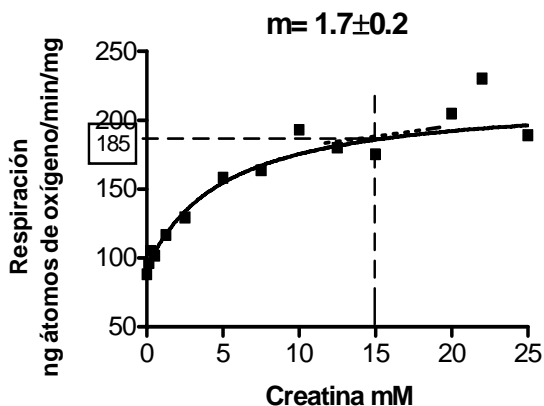
- 21 Región del encéfalo que por algunos mecanismos regula el equilibrio del agua en el organismo ya sea mediante la sensación de sed, retención o excreción por los riñones, pérdida por evaporación y la acción de la hormona antidiurética.
- 22 Reacción generalmente exergónica, se lleva a cabo debido a un ataque nucleofílico por parte del agua y rompe enlaces amida, glucosídico o éster.
- 23 Son las sustancias que tienen una concentración más alta de  $\text{OH}^-$  que de  $\text{H}^+$  y como consecuencia su pH es superior a 7.0
- 26 El pH de este compartimento se puede conocer mediante la aplicación de la ecuación de Henderson-Hasselbach y teniendo las concentraciones de ácido carbónico y ión bicarbonato.
- 28 Tipo de puentes entre las moléculas de agua que se establecen debido a la atracción electrostática entre el átomo de oxígeno de una molécula y el hidrógeno de otra, les proporcionan una gran cohesión que ocasiona que el agua a temperatura ambiente sea líquida.
- 29 Con este término se conoce al fenómeno observado cuando los sistemas adquieren una mayor libertad de movimiento y hay aumento en el desorden.
- 32 Especie química ( $\text{H}_3\text{O}^+$ ) que se genera cuando una molécula de agua se ioniza liberando a un ión hidroxilo y a un protón ( $\text{H}^+$ ), este último no puede existir en disolución, razón por la cual se le adiciona a otra molécula de agua.
- 34 Tipo de moléculas que en presencia de agua, tienden a agruparse para disminuir al máximo su interacción, lo cual imposibilita su disolución.
- 35 Elemento químico que en la molécula de agua tiene gran capacidad de atraer electrones, es electronegativo.
- 36 Cantidad de calor necesaria para elevar la temperatura de un gramo de agua de 14 a 15°C (es igual a 4.18 joules).
- 2 Tipo de calor que mide la energía necesaria para elevar la temperatura de 1 gramo de sustancia en 1°C.
- 3 Dada la gran \_\_\_\_\_ del oxígeno, los hidrógenos de la molécula de agua son atraídos por el par de electrones no compartidos de otra molécula de agua.
- 4 Cuando a los eritrocitos se les coloca en este tipo de soluciones, hay un movimiento de agua de la célula hacia fuera para equilibrar las concentraciones, las células se encogen dando lugar a la crenación.
- 5 Es la escala en la que se expresa el valor del pH, e indica la concentración de iones hidrógeno o hidroxilo en una solución.
- 6 Conjunto de reacciones catabólicas en donde se eliminan electrones de las moléculas, pasan a través de una serie de transportadores y finalmente se reúnen con protones y el oxígeno para formar agua.
- 9 Que tiene afinidad por el agua, pueden ser moléculas polares o ionizables.
- 11 Es el resultado de la condensación de dos ácidos y que tienen como subproducto una molécula de agua.
- 13 Son aquellas moléculas que en su misma estructura poseen una porción que es soluble en agua y otra que no lo es, esto conduce a la formación de micelas.
- 14 El grado de \_\_\_\_\_ del agua en el equilibrio a 25°C es de una por cada 10 millones de moléculas.
- 15 Capacidad, que al ser muy alta en el agua, ayuda a mantener la temperatura corporal.
- 16 Cuando se incrementa ésta en una solución acuosa, se aumenta el movimiento de las moléculas de agua, lo que conduce a la ruptura de uniones y como resultado de ello hay evaporación.
- 17 Ácido que junto con su base conjugada, participa en la regulación del pH de la sangre porque cuando éste cambia, aumentan o disminuyen las concentraciones de ambos elementos del par.
- 20 Fenómeno que se lleva a cabo cuando se colocan eritrocitos en una solución hipotónica.
- 24 Condición en la que la sangre no está amortiguada, la concentración de  $\text{H}^+$  aumenta y el pH desciende.
- 25 Así se designa a la capacidad que tiene el agua entre otras moléculas, de actuar como ácido o como base.
- 27 Flujo de agua a través de una membrana semipermeable en donde la concentración de solutos en el compartimento destino es más alto que la del compartimento de origen.
- 30 En los seres vivos la presión \_\_\_\_\_ del agua se modifica por la presencia de solutos al regular su flujo, a través de las membranas celulares.
- 31 Conjuntos esféricos de moléculas anfipáticas en agua, en donde las partes apolares van hacia el interior y las polares hacia el exterior, en contacto con el agua.
- 33 Organismo o proceso que requiere oxígeno como aceptor terminal de electrones para la producción de agua.

## VERTICALES

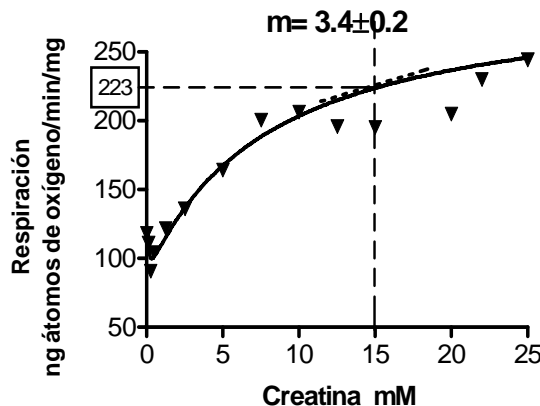
- 1 Capacidad del agua para interactuar tanto con moléculas iónicas como con polares: con las primeras porque se ionizan y los iones resultantes reaccionan ante las cargas complementarias del agua; y con las segundas porque las moléculas polares se intercalan con facilidad entre las del agua.

# RESPUESTA AL PROBLEMA BIOQUÍMICO

CONTROLES



DÉFICIT CARDIACO



El coeficiente de respuesta R de la vía metabólica FOX (J) hacia creatina (Cr)  $R^J_{Cr}$ , puede ser estimado a partir de la pendiente (m) de la tangente en el punto de interés de la curva de J contra [Cr] de acuerdo a la ecuación siguiente (1):

$$R^J_{Cr} = m(Cr_o/J_o)$$

Donde  $Cr_o$  y  $J_o$  son las coordenadas del punto de interés (15 mM creatina). En este punto  $J_o$  para los controles es 185.5 y para las ratas con DC de 223. Con estos valores podemos calcular un R de 0.138 para las primeras y de 0.229 para las segundas. El coeficiente de control de flujo  $C^{FOX}_{CK}$  puede calcularse entonces de la ecuación que relaciona el coeficiente de respuesta y la elasticidad (1):

$$R^{FOX}_{Cr} = C^{FOX}_{CK} \epsilon^{CK}_{Cr} \quad \text{de donde:}$$

$$C^{FOX}_{CK} = R^{FOX}_{Cr} / \epsilon^{CK}_{Cr}$$

Tenemos entonces un  $C^{FOX}_{CK}$  para los controles de 0.27 para los controles y 0.46 para las ratas con DC.

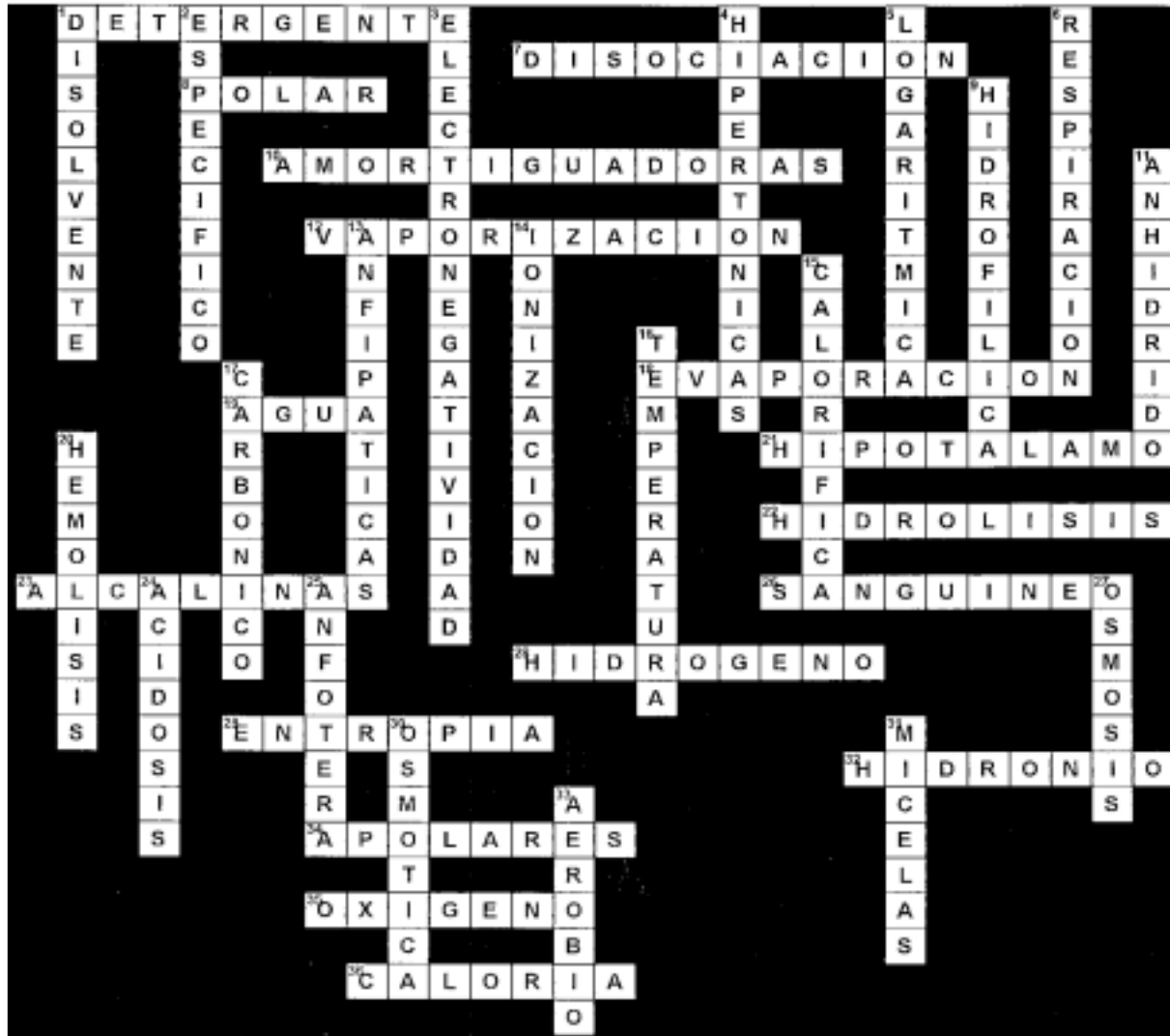
INTERPRETACION: El coeficiente de control de la CK mitocondrial sobre la FOX de 0.27 indica que la actividad de esta enzima controla un 27 % la velocidad de síntesis mitocondrial de ATP. El aumento (1.6 veces) que se observa en el control que ejerce la CKm en el modelo de déficit cardiaco se debe posiblemente a que la actividad de la enzima se encuentra disminuida. Un aumento en el control de flujo en esta enzima implica que una modificación sobre la actividad de este sistema tendrá un impacto mayor sobre la actividad total de la vía metabólica completa, i.e. la fosforilación oxidativa. Se sabe que la actividad de la CK es altamente sensible al estrés oxidativo, el cual se encuentra aumentado en la mayoría de los desórdenes cardiacos. Esto puede contribuir a la disminución de la CK y por lo tanto a perturbar el circuito energético mediado por la CK que garantiza la función cardiaca, contribuyendo así al déficit energético observado en estas patologías.

## REFERENCIAS

1. Fell D (1997) Understanding the control of metabolism. Portland Press, London (300 p.).

# SOLUCIÓN CRUCIBIOQ

## AGUA Y pH





# SOCIEDAD MEXICANA DE BIOQUÍMICA A.C.

XXVII  
CONGRESO  
NACIONAL



12 AL 17 DE NOVIEMBRE, 2006  
GUANAJUATO, GTO.

INFORMACIÓN:  
<http://smb.org.mx>



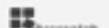
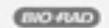
IIBE



IFC  
UNAM



MILLIPORE



uniparts





# INSTRUCCIONES PARA LOS COLABORADORES DE LA REVISTA DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA (REB)

La REB es una revista dedicada a la divulgación de temas interesantes y relevantes en el campo de la Bioquímica y sus áreas afines. La Revista está dirigida a profesores y a estudiantes de licenciatura y de posgrado, por lo cual los trabajos que se sometan para su publicación deberán de ser suficientemente claros y explícitos. Los temas se deben de presentar de forma sencilla, organizada y que de manera gradual permitan la comprensión del trabajo.

Se aceptan contribuciones en forma de artículos de revisión y otras comunicaciones que se ajusten a los siguientes lineamientos editoriales:

## I. ARTÍCULOS DE REVISIÓN

- 1) Portada. En el primer párrafo incluir el título, el cual debe de ser claro, simple, atractivo y evitar las abreviaturas o, en su caso, definir las al inicio del texto. En el siguiente párrafo se anotarán los nombres completos de los autores, iniciando por el nombre propio completo. La afiliación de los autores se escribirá en el siguiente párrafo, indicando el departamento, la institución, la ciudad y estado, el país y la dirección de correo electrónico del autor responsable. La afiliación de los autores se indicará con números entre paréntesis. Se proporcionará un título breve con un máximo de 60 caracteres.
- 2) Texto. El artículo deberá ser escrito en el procesador de textos "Word", con una extensión máxima de 15 cuartillas a doble espacio, en "Times New Roman 12" como fuente de la letra, sin formato de texto, tabuladores o pies de página. Las figuras y tablas se presentarán separadas del texto.
- 3) Resumen. Se deberán incluir un resumen en idioma español y uno en inglés (Abstract) de no más de diez renglones.
- 4) Palabras clave. Se deberá proporcionar de tres a seis palabras clave en idioma español y en inglés.
- 5) Referencias. Se sugieren no más de 15 citas bibliográficas, tanto específicas como de lecturas recomendadas, lo que obliga a los autores a seleccionar aquellas referencias realmente importantes e informativas. Las referencias se indicarán en el texto con números entre paréntesis de acuerdo a su orden de aparición. Las referencias se enlistarán al final del trabajo y deben contener: apellidos e iniciales de todos los autores, año de publicación entre paréntesis, título completo del artículo y después de un punto, el nombre oficial de la revista abreviado como aparece en el Current Contents, número del volumen y antecedido por dos puntos, el número de la primera y última páginas, de acuerdo con el siguiente ejemplo:

Martin GM, Austad SN, Johnson TE (1996) Generic analysis of ageing: role of oxidative damage and environmental stresses. *Nat Genet* 113:25-34.

Los artículos en libros deberán citarse de la siguiente forma:

Wood KJ (1992) Tolerance to alloantigens. En: *The Molecular Biology of Immunosuppression*. Editor: Thomson A W. John Wiley and Sons Ltd, pp 81-104.

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

Lehninger AL, Nelson DL, Cox MM (1993) *Principles of Biochemistry*. Worth Publishers, New York, NY, USA, p 1013.

- 6) Figuras y Tablas. Se aceptarán como máximo seis ilustraciones, incluyendo figuras y tablas. Las figuras se pueden presentar en formato "jpg" o integradas en un archivo de "Power Point" o del mismo "Word" separadas del texto del artículo. Las figuras deben de estar en blanco y negro, sin fondo ni sombreados. Las tablas deben de estar en "Word" sin formatos especiales, separadas del

texto del artículo. Las figuras y las tablas se deberán numerar con arábigos. Las leyendas y los pies de figuras se deberán presentar en una hoja aparte. Se deberá considerar que las figuras y las tablas se reducirán a la mitad o a un cuarto de las dimensiones de una hoja tamaño carta; las letras y números más pequeños no deben ser menores de dos milímetros. En caso de emplear figuras previamente publicadas, deberá darse el crédito correspondiente u obtener el permiso para su publicación. Las figuras dentro del texto deberán mencionarse con minúsculas, la palabra entera y sin paréntesis; cuando se haga referencia a ellas deberá citarse con la abreviatura, la primera letra mayúscula (Fig 2). Las tablas siempre llevarán la primera letra a mayúscula (Tabla 2). Para la versión electrónica de la revista se pueden admitir figuras a color, en tal caso se deberán de enviar ambos formatos en blanco y negro y en color.

- 7) Abreviaturas. Las abreviaturas poco comunes que se utilicen en el texto deberán definirse entre paréntesis, la primera vez que se utilicen.

## II) OTRAS COMUNICACIONES

- 1) Los temas de las otras comunicaciones pueden ser muy variados; desde resúmenes de artículos científicos interesantes, relevantes o significativos, información científica o académica de interés general, avisos de reuniones académicas y cursos, bolsa de trabajo o comentarios de artículos publicados previamente en la REB, cartas al editor, etcétera.
- 2) El contenido deberá ser desarrollado en forma resumida y de una manera explícita en no más de dos páginas.
- 3) Se aceptará un máximo de dos referencias que se incluirán entre paréntesis en el texto, como se indica en el inciso I-5. Se podrá incluir una figura o una tabla, con las características que se indican en el inciso I-6.

Los manuscritos que no cumplan con las especificaciones de la revista no serán aceptados de primera instancia para su revisión. Los manuscritos serán evaluados por tres revisores, quienes opinarán sobre la relevancia del trabajo en un lapso no mayor de dos meses. Las correcciones y sugerencias de los revisores serán enviadas al autor responsable para su corrección e incorporación en el manuscrito. El manuscrito corregido por los autores deberá ser devuelto a la revista, en un lapso no mayor a 30 días; de otra forma se considerará como un manuscrito enviado por primera vez. Una vez aceptado el trabajo, las pruebas de galera, se enviarán al autor responsable.

Los archivos electrónicos se deberán enviar a la Revista de Educación Bioquímica como archivos adjuntos (reb@bq.unam.mx), con atención al Editor en Jefe y a partir de una dirección de correo electrónico que será considerada como la dirección oficial para la comunicación con los autores. El autor responsable deberá identificar plenamente su adscripción con teléfono y dirección postal para comunicaciones posteriores. En el texto del mensaje se debe expresar la solicitud para considerar la posible publicación del artículo, el título del mismo, los nombres completos de los autores y su adscripción institucional, así como el número, tipo y nombre de los archivos electrónicos enviados.