

# REB 2007

---

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. 26

No. 2

JUNIO 2007

# 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"

## ASISTENTE EDITORIAL

### MARIVEL ROJAS GARCÍA

Facultad de Medicina  
Universidad Nacional Autónoma de México

## 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

## 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

### MYRNA SABANERO LÓPEZ

Instituto de Investigación en Biología Experimental  
Facultad de Ciencias Químicas, Universidad de Guanajuato

### SERGIO SÁNCHEZ-ARMÁSS ACUÑA

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

### MARTHA ANGÉLICA QUINTANAR ESCORZA

Departamento de Bioquímica  
Facultad de Medicina Humana, Universidad Juárez del Estado de Durango

### MARÍA MALDONADO VEGA

Departamento de Investigación. Centro de Innovación Aplicada en  
Tecnologías Competitivas, A.C. León, Gto., Mexico

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.

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

### CIENCIA Y ABORTO

José Víctor Calderón Salinas.....45

## ARTÍCULOS

### MECANISMOS MOLECULARES QUE INTERVIENEN EN EL TRANSPORTE DE LA GLUCOSA

Vicente Castrejón,  
Roxana Carbó y  
Martín Martínez.....49

### PARTICIPACIÓN DE LA SUBUNIDAD G $\alpha$ DE PROTEÍNAS G HETEROTRIMÉRICAS EN LOS PROCESOS DE VIRULENCIA Y PATOGENICIDAD DE LOS HONGOS

Edith Sánchez Paredes,  
Rocío Alcántara Hernández y  
M Eugenia Torres Marquez.....58

### LAS METALOTIONEINAS Y EL ESTRÉS QUIRURGICO

Elvia Harumi Scott López.....67

## OTRAS COMUNICACIONES

### PROBLEMA BIOQUÍMICO CICLO CELULAR Y APOPTOSIS

Juan Carlos Gallardo-Pérez y  
Sara Rodríguez-Enríquez .....73

### CRUCIBIOQ FOSFOLÍPIDOS

Yolanda Saldaña Balmori.....75

### RESPUESTA AL PROBLEMA BIOQUÍMICO

Juan Carlos Gallardo-Pérez y  
Sara Rodríguez-Enríquez .....78

### SOLUCIÓN AL CRUCIBIOQ

Yolanda Saldaña Balmori.....79

### INSTRUCCIONES PARA LOS COLABORADORES DE LA REVISTA DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA.....80

# EDITORIAL

## CIENCIA Y ABORTO

En fechas recientes se aprobó en la cámara de representantes del Distrito Federal una iniciativa que modifica la ley y en la que se indica, como el elemento más importante, que aborto es el acto de extraer el producto de la concepción antes de la semana 12 de gestación. Los grupos opositores a esta iniciativa aseguran que esto es la despenalización del aborto en esta entidad federativa de nuestro país y aunque el aborto por razones económicas esta permitido en otros estados de la republica como Chiapas, el escaparate del Distrito Federal es tal que los opositores a tal ley han llevado el caso hasta la suprema corte de justicia vía la demanda de inconstitucionalidad promovida por la Procuraduría General de la Republica y la Comisión Nacional de los Derechos Humanos, ambas del ámbito federal y en clara contradicción de la aprobación local de la ley por amplia mayoría del Congreso del Distrito Federal.

La iniciativa de ley ya fue aprobada y las demandas de inconstitucionalidad siguen su curso. Esta reflexión no esta dirigida a tratar de incidir en la discusión política del problema y menos convencer a las masas seguidoras de una u otra posición, que por lo demás se han convertido en posiciones irreductibles. Entonces ¿para que escribir algo al respecto? Bueno... tal vez por la necesidad gremial de salir al reto de varias voces, sobre todo en los medios políticos y de comunicación, que indican que la controversia puede resolverse en el ámbito médico y científico, que es objetivo y que puede tener la opinión correcta y quizá absoluta del problema.

Para los que sostienen lo anterior, les tengo malas noticias, la respuesta al si o no al aborto no esta en la ciencia y menos en los científicos o en los médicos. Ambos aportan, sin duda, puntos de vista muy valiosos y los conocimientos seguramente serán objetivos, pero al final su opinión sólo será un punto de vista más y no la solución y no la verdad, porque en la opinión se involucra a la persona interpretando conocimientos y no a la ciencia o a la medicina con conocimientos crudos, exactos y fríos.

Los extremos de la discusión están, por un lado, considerando que hay que defender la vida, sin reflexionar que en ese sentido el administrar un antibiótico para destruir una amiba, estaría atentando contra la vida, la vida de la amiba, en el más puro sentido biológico. De tal manera que defender la vida toda, seria defender a todo ser que

muestre las características biológicas de vida, lo que incluye a todo el reino animal y vegetal y seguramente eso no es una actitud de un organismo, como el nuestro, insertado en un nivel de dependencia de los nutrientes que aportan otros seres vivos; es decir que no somos capaces de generar nuestras estructuras biológicas a partir de elementos simples (agua y bióxido de carbono), como lo hacen las nobles plantas, nosotros requerimos de matar y consumir seres vivos para paradójicamente poder vivir.

Seguramente y corrigiendo lo anterior, se nos pedirá que se defina la vida humana, con lo que nos enfrentamos al primer gran problema, ya que la definición de vida humana como tal deja de ser científica y pasa a planos mas amplios recorriendo los psicológicos, los filosóficos y hasta los teológicos. Definir la vida humana tendría que traspasar los planos animales, al reino que pertenecemos, y pasar a planos inventados por la propia mente, la conciencia y la inteligencia humana, que sobrepasa el planteamiento biológico elemental y se alimenta necesariamente de planos conceptuales mas abstractos y ya no tan concretos y cuantificables. Conceptos que han sido objeto de reflexión y análisis desde los filósofos de la antigüedad, quienes fundaron nuestra concepción del mundo y han continuado hasta nuestros días, donde tenemos nuevas herramientas de análisis y un panorama hacia el futuro con posibilidades de lo que anteriormente sería ciencia ficción. Estos conceptos han pasado por diversas interpretaciones y planteamientos que ahora nos asombran y nos darían risa y que sin embargo, han marcado el desarrollo de la humanidad y que han sido origen y consecuencia de injusticias justificadas, como el pensamiento que justificaba la esclavitud por no considerar seres humanos a los nativos americanos y africanos; o pensar que sin un bautizo no se tendría lo que llamamos alma y que da el soplo divino para ser un humano completo. Similares incongruencias a las que afirmaban que una enfermedad epiléptica o la lepra eran enfermedades originadas por el pecado y que degradaban al ser humano hasta aniquilar esta condición.

Desde el punto de vista biológico una vez que se funden el espermatozoide y el ovulo se genera una célula llamada cigoto con características y potenciales genéticos particulares, que ya no tiene las propias del ovulo proveniente de la mujer, ni las del espermatozoide proveniente

del hombre; sin embargo, esa célula, aunque individual e irrepetible, no es un organismo humano, no es una vida humana, aunque sea la germinación de lo que, si se dan las condiciones adecuadas de desarrollo, podría alcanzar en algún momento las características de un ser humano. Es una semilla germinada, un primordio que en muchas ocasiones no logra anidar en su desarrollo ulterior o su desarrollo es tal que termina en un producto no viable, como acontece en múltiples ocasiones en condiciones fisiológicas óptimas del organismo en el que se desarrolla.

El ser humano es un organismo complejo multicelular altamente especializado y diferenciado en órganos y sistemas, que no puede ser identificado en un cigoto y que por lo tanto no es considerado como una vida humana. Un extremo nos podría llevar a lamentar la pérdida de óvulos y espermatozoides que no alcanzaron la fecundación como primordios a su vez de cigotos y en el final de seres humanos, conservando una visión biológica que marca como al resto de los integrantes del reino vegetal y animal, en el puro sentido de la necesidad de que el organismo nazca, crezca, se reproduzca y muera, como efectivamente ha sido diseñada la vida en el planeta y cuya tarea más importante es perpetuar y asegurar el mantenimiento y mejoramiento de la especie.

Si el cigoto o las estructuras biológicas posteriores en el proceso embriogénico fueran un ser humano y el que no alcanzara su desarrollo por intervención farmacológica o mecánica fuera un atentado a la vida, varios métodos anticonceptivos, tales como los hormonales orales, inyectables o dérmicos y el dispositivo intrauterino entrarían en esta definición, ya que algunos de ellos interfieren con la implantación del producto embrionario en el endometrio del útero gestante, lo que se alcanza 14 días después de la generación del cigoto. La posición anterior la sostienen diferentes líneas del pensamiento de diversas corrientes religiosas y por ello, entre otras razones, se oponen a estos métodos anticonceptivos, complicando aun más la situación porque dejan solo a la abstinencia, la fidelidad y la aceptación de cualquier número de embarazos que se den en el matrimonio o fuera de él, sin poder intervenir de ninguna otra manera; sin duda, deseos respetables y loables, pero que han mostrado estar muy lejos del estilo de vida, las necesidades de la sexualidad y la forma de pensar y actuar de la población, la cual a pesar de manifestarse apegada a preceptos y valores religiosos o morales e incluso de profesar abierta e intensamente diferentes religiones, no han ajustado sus acciones a sus intenciones y evidentemente se requieren de acciones adicionales para el control de la natalidad y de infecciones de transmisión sexual.

Después de la fecundación el cigoto inicia la replicación celular y se convierte en blástula y posteriormente en

mórula, llevándose a cabo el proceso embrionario, durante el cual se generan células y tejidos diferenciados como primordios y que van en el camino a desarrollar las características necesarias para considerarse órganos y tejidos lo cual sucede alrededor de las 8 semanas; fecha en la cual ya se pueden detectar por lo menos las células y los tejidos primordios, que serán la base para generar los tejidos, los órganos y la regulación necesaria para alcanzar una integración y correcta coordinación del crecimiento y desarrollo de los mismos. Es por lo anterior que diferentes culturas y en muchas legislaciones se ha considerado la semana 8 como la fecha en la que se inicia la generación de lo que será un ser humano, tratando de interpretar y hacer coherentes los conocimientos científicos con los aspectos legales y culturales. En este sentido algunas religiones han empleado esta fecha para indicar que alrededor de la misma se inicia la integración del alma o el espíritu. En algunas culturas la edad se considera desde este momento del desarrollo embrionario y no en el momento de la salida del producto ya maduro del útero gestante. Sin embargo, los conocimientos científicos se confrontan con las interpretaciones de todo tipo y este hecho es ampliamente discutido y contrastado con creencias e interpretaciones de todo tipo.

Científicamente a esta etapa, desde la generación del cigoto hasta las 8 semanas, se le conoce como embriogénesis y las células y los tejidos que se desarrollan dan lugar a un embrión, absolutamente dependiente del hospedero, es decir del organismo de la mujer gestante. Sin embargo, diferentes corrientes religiosas indican que aquí hay un ser humano vivo; en efecto hay células vivas que buscan generar un organismo humano, que aun no ha alcanzado su desarrollo y diferenciación al organismo multicelular y complejo que será un ser humano; en esta etapa ocurren con mucha más frecuencia de lo que nos damos cuenta lo que serían abortos espontáneos dependientes de la falta de desarrollo, de un desarrollo inadecuado, de agresiones del medio ambiente, de fallas en la forma y sitio de anidación o de problemas circulatorios que dificultan que lleguen al embrión el oxígeno, las hormonas, los factores de crecimiento y los nutrientes necesarios. Todo lo anterior está enmarcado, insisto, con el nombre del producto de este proceso -embrión- que significa precisamente el proceso que se está llevando a cabo y que puede resultar en un organismo humano. Tal proceso de desarrollo se ejemplifica claramente con la gran labilidad que el embrión tiene a cualquier cambio de la fisiología de la mujer gestante, del ambiente y la alta susceptibilidad a medicamentos, tóxicos, toxinas, virus, bacterias que le acontezcan al organismo hospedero y del que depende para un desarrollo exitoso. Que el embrión es el primordio de un ser humano, lo es; que es un ser

humano, no lo es con las características biológicas del mismo; que se debe de respetar su desarrollo como una vida humana, es un precepto particular y una opinión individual, cultural y religiosa.

Después de la embriogénesis se han generado la mayoría de las células y los tejidos necesarios para alcanzar a un ser humano, aun así, y debido a su incipiente desarrollo en diferentes órganos y tejidos de importancia esencial, se le cataloga como feto, el desarrollo fetal continuará a lo largo de las siguientes 24 a 32 semanas, hasta alcanzar la madurez tal que le permita ser un producto viable, es decir que pueda respirar, deglutir, tener movimientos y comunicarse con llanto con los que lo rodean y en respuesta al ambiente. En que punto se puede considerar como un ser humano, como un organismo humano, con vida humana, los puntos de vista no científicos varían notablemente. Desde el punto de vista científico se tiene a la actividad cerebral cortical como el punto de partida.

Si bien en el embrión ya encontramos tubos neurales y primordios de tejido neuronal cortical, no es sino hasta varias semanas después, en la semana 16 que se inicia la actividad cerebral cortical. La actividad cerebral básicamente de la corteza cerebral es crucial para la ciencia debido a que en la corteza cerebral tienen su origen e integración la inteligencia, las emociones, los razonamientos, las sensaciones, el control voluntario muscular que permite desplazarnos con dirección inteligente, hablar y expresarnos corporalmente y además ser concientes de todo ello; pero sobre todo la capacidad de desarrollar un ser autónomo, con voluntad y con independencia del hospedero. Es por lo anterior que en la búsqueda de un elemento objetivo que defina la vida humana como tal y que sea un marcador objetivo de vida humana, la ciencia ha encontrado en la actividad nerviosa cortical, la expresión más objetiva y avanzada de vida en el ser humano. La diferencia más marcada con otros animales y la característica que le permite al ser humano no solo entender la naturaleza, modificarla y hacer conciencia de si mismo en el mundo. Por supuesto que aun entre los médicos esta definición esta en controversia y aun cuando es aceptada como tal, estamos en constante búsqueda de contar con otras características que pudieran ser más objetivas y confiables, como marcadoras del inicio de la vida de un ser humano.

Regresando al desarrollo de lo que será un ser humano, es por lo anterior que la discusión científica se centra, en si la vida humana empieza con el fin del desarrollo embrionario (8 semanas) o con el inicio de la actividad cortical del cerebro del producto (16 semanas). Esta discusión tiene su origen e implica necesariamente la propuesta de que el ser humano, la vida del ser humano, es mucho mas que una entidad biológica en el mas puro sen-

tido de la palabra y que la vida del ser humano conlleva a la generación de un ente pensante, capaz de tener razonamiento, de sentir, de tener relación activa con el ambiente, con memoria y aplicación de la misma y una serie de elementos conceptuales, la posibilidad de un lenguaje articulado, variado y que evoluciona y la posibilidad de expresar de manera abstracta sus ideas y emociones y no solo un organismo que tiene reacciones animales, instintivas. Un ser humano que puede tener capacidad de discernir y de decidir sobre su presente y su futuro, pero también de integrarse a una sociedad, acatar reglas y generar opiniones y acciones que afecten a su entorno social. Y es ahí, donde verdaderamente empiezan los problemas. Un organismo biológico planta u animal no es capaz de cuestionar los efectos naturales de tener una alta sobrepoblación o una escasez de alimento, lo que implica detener la generación de nuevos individuos de la especie o que no puedan sobrevivir, sino solo los más fuertes; mientras que el ser humano si se puede oponer a ello.

Un organismo biológico, animal o planta, no cuestiona su papel en el desarrollo de la especie y multiplicación de la misma como fin último e indispensable y el ser humano si lo hace. Un organismo biológico, animal o planta, no tiene problemas en acatar, mejor dicho en que lo aplaste, la ley evolutiva del mas fuerte para lograr el mejor desarrollo de la especie, el ser humano si lo hace y con todo ello puede confrontarse con estas leyes naturales que rigen a otros organismos, plantas o animales, y al mismo tiempo le dan una categoría diferente a la propia vida del ser humano, que ahora no puede enmarcarse en el vivir, reproducirse y morir y se tiene que ingresar a factores como el bienestar, la dignidad, el respeto a su condición humana, donde evidentemente ingresan factores psicológicos, sociológicos, religiosos, filosóficos, que por supuesto los organismos biológicos, animales o plantas, no los tienen, sino a la vista del propio enfoque del ser humano. Es decir, el ser humano es el único animal, que aun conservando toda la carga evolutiva animal, tiene conciencia de su entorno, de si mismo y de su lugar en el mundo, lo que lo obliga a generar patrones sociales complejos y a la vez lidiar con los instintos salvajes que lo enmarcan como un animal en el mundo en el cual se desarrolla.

Indicado lo anterior volveríamos a las grandes preguntas iniciales. ¿Cuándo inicia la vida humana? De acuerdo a lo indicado, a las 16 semanas cuando las características de un ser humano en fase de independencia y con actividad cerebral cortical se ha iniciado. ¿Cuando se inicia la fase embrionaria ya es un ser humano? No, de acuerdo a la definición anterior. ¿Se tiene en el embrión un primordio de ser humano que ya es individual e irrepetible? Si y no tiene estructura, actividad y funciones de ser humano, con la independencia necesaria para constituirlo.

Estas respuestas nos llevan al inicio que les prometí, la ciencia no podrá resolver el problema, porque el que exista en la fase embrionaria un ser humano terminará siendo cuestión de opiniones, definiciones puntuales y hasta de creencias, que no cambiarán conociendo los términos y fenómenos descritos científicamente. Y gran parte de los siguientes años en los ámbitos sociales, políticos y científicos se discutirá el uso de células embrionarias y células madre para tratar algunas enfermedades, donde la ética y la moral del empleo de esas células acapararán los principales focos de atención.

La ciencia puede seguir trabajando para fortalecer y fundamentar en que momento se da la generación de una vida humana, pero aun cuando se alcance un indicador confiable y mejor que el de la actividad cerebral, la controversia continuará.

Afortunadamente, el mismo ser humano ha logrado elevarse por encima de diferentes controversias legales, políticas, culturales y hasta científicas. La ciencia no ha podido demostrar la existencia de un espíritu y sin embargo, las personas lo podemos aceptar como una verdad, sin necesariamente entrar en conflicto o ser unos ignorantes. La ciencia ha descrito los problemas de selección genética negativa, en la generación de diversas enfermedades recesivas que se potencian cuando hay endogamia y sin embargo, algunas culturas hacen caso omiso a esto y continúa practicando la procreación de hijos entre familiares consanguíneos cercanos. La ciencia ha demostrado los efectos negativos que sobre la salud tiene el fumar y las personas lo hacen aun en contra de leyes que tratan de desincentivar su empleo.

Antes de esta ley en el Distrito Federal que considera que solo hay un ser humano después de las 12 semanas, se consideraba que había aborto en cualquier momento desde la concepción del embarazo y hasta la finalización fisiológica del mismo y sin embargo se practicaba y rara vez se penalizaba a los ejecutores del procedimiento o a las mujeres que asistían a su práctica. Pero peor aún, como ya se mencionó, en el sentido estricto el empleo de un dispositivo intrauterino y de varios fármacos anticonceptivos, entrarían en tal definición jurídica, si se atiende uno a su sola descripción.

Aunque no se ejecutaba, sino rara vez, la sola amenaza de pena, provocó un mercado negro, la satanización del procedimiento y las mujeres que se lo practicaban, llevando a una discriminación económica y un alto riesgo sanitario.

Y que decir de la permisividad que se da en las legislaciones para poder realizar el aborto cuando hay productos de la violación o productos con malformaciones congénitas, acaso en esas condiciones no habría un ser humano antes de las 12 semanas o si lo fuera, sería un ser

humano de segunda. Ante esta ley que tiene buena recepción entre los ciudadanos y parece entendible y justificable, los detractores del aborto no lucharon incansablemente para proteger la vida humana, entonces, o aplicaron otras directrices de pensamiento o no tuvieron un sustento ciudadano que les permitiera ganar o controvertir la ley, pero entonces, ¿donde están los principios?

La nueva ley es permisiva y no obligatoria, indica que si se decide seguir un camino no será penalizado, aunque no promueve que se siga el camino. En tal sentido es valiosa y saca a la luz un problema de salud, que ahora puede ser afrontado de mejor manera. Pero a su vez permite ejercer una libertad, según algunos de sus promotores que corresponde a la mujer y solo a ella.

Si la cultura, la religión y las buenas costumbres, prohíben a sus seguidores realizar una interrupción del embarazo antes de las 12 semanas, eso está bien y los promotores de tal conciencia deben de estar tranquilos que los fieles y seguidores de tales doctrinas los van a escuchar y a actuar de acuerdo a esos preceptos; tal vez estas leyes les van a servir para generar programas más agresivos para adoctrinar y generar una conciencia mejor entre sus seguidores; lo mismo podríamos decir de los divorcios o de otras conductas que atentan contra la convivencia social y que privilegian conductas individuales o decisiones particulares y particularizadas. Todo ello debe de ser del resorte de las ciencias sociales y de la psicología; que nos deben de explicar como se insertan individualidades en el desarrollo de las comunidades, aun cuando se profesen seguidores de las conductas marcadas por las directrices.

Socialmente deberíamos de estar seguros que lo que se venía realizando en la clandestinidad, posiblemente continúe ahí, por el temor a la reprobación social, religiosa y moral; pero tal vez se reduzca un poco el mercado negro y bajen los precios, lo que paradójicamente no le serviría de mucho a las mujeres más humildes.

Socialmente deberíamos estar seguros que las personas no se practicarán un aborto, aunque este esté permitido por la ley. Ya que todos cumplimos con las reglas sanitarias y nos cuidamos con los métodos anticonceptivos adecuados, que estamos informados y que tenemos una planeación responsable de nuestra vida. Mientras eso nos pasa como sociedad e individuos y mientras la ciencia no tenga otros indicadores de vida humana, mientras nuestra madurez social permita la expresión de las individualidades, tendremos que continuar en las controversias y en la eterna discusión y seguiremos haciendo leyes con dudoso efecto social, aunque con gran efecto político.

José Víctor Calderón Salinas  
Editor en Jefe

# MECANISMOS MOLECULARES QUE INTERVIENEN EN EL TRANSPORTE DE LA GLUCOSA\*

Vicente Castrejón, Roxana Carbó, Martín Martínez<sup>1</sup>

## RESUMEN

El transporte de la glucosa a través de la membrana plasmática de las células de mamífero representa uno de los eventos más importantes del transporte de nutrientes ya que este azúcar tiene un papel central en el metabolismo y en la homeostasis celular. El ingreso de la glucosa a las células se realiza mediante dos tipos de proteínas acarreadoras: los transportadores de glucosa asociados a sodio (SGLT) y los sistemas facilitadores del transporte de glucosa (GLUT). Esta revisión presenta las principales características moleculares, bioquímicas y funcionales de cada transportador.

**PALABRAS CLAVE:** Transportadores de glucosa, GLUT, SGLT, insulina.

## ABSTRACT

The transport of glucose across the plasma membrane of mammalian cells represents one of the most important nutrient transport events since this sugar plays a central role in cellular homeostasis and metabolism. Glucose enters the cells through two types of carrier proteins, the sodium - coupled glucose transporters (SGLT) and glucose transporter facilitators or carriers (GLUT). This review shows the principal molecular, biochemical and functional properties of each transporter.

**KEY WORDS:** Glucose transporters, GLUT, SGLT, insulin.

## INTRODUCCIÓN

La glucosa es el principal monosacárido en la naturaleza que proporciona energía a las células de una amplia gama de organismos, que va desde los más simples como la levadura hasta los más complejos como el ser humano. Esto hace que el transporte de este azúcar al interior celular constituya un proceso esencial para el metabolismo energético y en consecuencia, para los procesos que mantienen la vida.

El transporte de la glucosa a través de la membrana celular se lleva a cabo por dos familias de proteínas de membrana: los transportadores de glucosa acoplados a sodio (SGLT) y las proteínas facilitadoras del transporte de glucosa (GLUT). Los primeros se ex-

presan principalmente en epitelios que se encargan de la absorción y de la reabsorción de nutrientes, esto es, el epitelio del intestino delgado y el epitelio tubular renal respectivamente. Los GLUT se expresan en todas las células del organismo y permiten mover la glucosa de un compartimiento a otro. Un resumen de las propiedades de los miembros de estas dos familias se encuentran en la Tabla 1.

## OBTENCIÓN Y ABSORCIÓN DE CARBOHIDRATOS

En el ser humano los monosacáridos de la dieta como la glucosa, la galactosa y la fructosa, se absorben en el duodeno y en la parte superior del yeyuno en el intestino delgado. La

glucosa y la galactosa entran en las células epiteliales intestinales en contra de sus gradientes de concentración por un mecanismo de cotransporte dependiente de sodio ( $\text{Na}^+$ ). El ion  $\text{Na}^+$  proporciona la fuerza motriz para el movimiento de la glucosa al interior celular. El gradiente químico de  $\text{Na}^+$  que impulsa el transporte de la glucosa se mantiene por acción de la bomba de  $\text{Na}^+$  y potasio ( $\text{K}^+$ ), llamada también  $\text{ATPase}$  de  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  por utilizar trifosfato de adenosina (ATP) como fuente de energía. El  $\text{Na}^+$  que ingresó al interior celular junto con la glucosa o la galactosa es bombeado hacia fuera nuevamente, manteniéndose el gradiente a favor de la entrada de este ión. La glucosa y la galactosa se mueven

\*Recibido: 9 de agosto de 2006 Aceptado: 8 de mayo de 2007

Instituto Nacional de Cardiología, Departamento de Fisiología. Juan Badiano No1, Colonia Sección XVI, Tlalpan, México, D. F. 14080. Teléfono 5573-2911 Ext. 1278, Fax: 5573-0926. Correo E: martin5163@yahoo.com



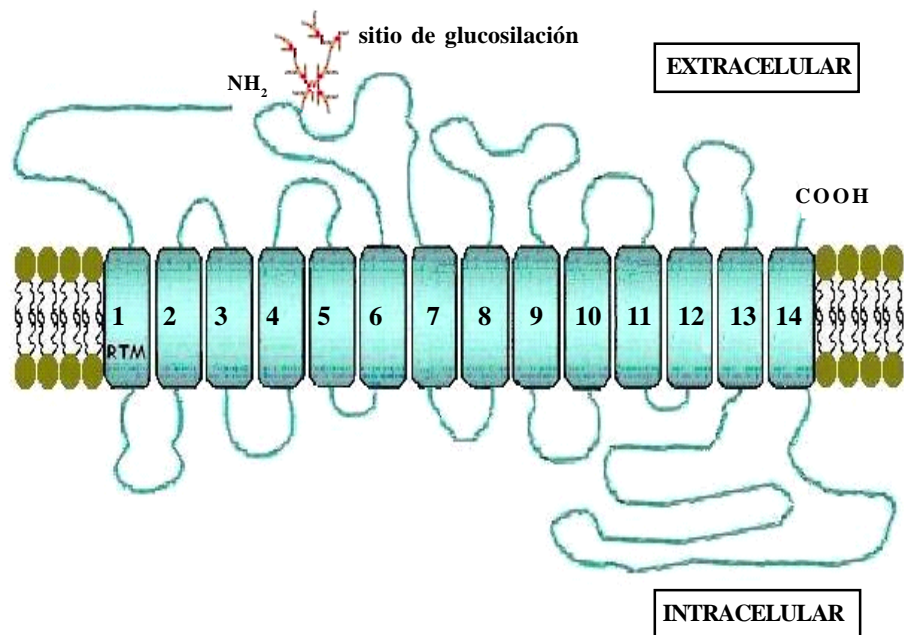
posteriormente hacia los vasos sanguíneos intestinales siguiendo su gradiente de concentración. Inicialmente se mueven hacia el espacio intersticial cruzando la membrana basolateral de las células intestinales y de ahí a los capilares por difusión. La fructosa se absorbe desde la luz intestinal mediante difusión facilitada independiente de  $\text{Na}^+$  y posteriormente por difusión alcanza la circulación sanguínea de manera similar a la glucosa y galactosa.

### REGULACIÓN DE LA GLUCOSA PLASMÁTICA

Además de la dieta, la glucosa sanguínea proviene también de la gluconeogénesis hepática y/o de su movilización a partir del glucógeno almacenado. Por lo tanto, los niveles de la glucosa sanguínea en cualquier momento son la resultante del equilibrio de estos procesos. El rango de variación de los niveles de la glucosa en la sangre es muy estrecho gracias a la acción orquestada por varias hormonas, como el glucagón, la adrenalina, el cortisol y la insulina, entre otras. De todas ellas, la insulina resalta por su potente acción hipoglucemiante, es decir por su capacidad para reducir la concentración de la glucosa en la sangre después de una ingesta de carbohidratos. El efecto hipoglucemiante de la insulina se debe principalmente a que induce la incorporación de los transportadores de glucosa (GLUT) a la membrana plasmática de las células musculo esqueléticas, de los adipocitos y de los hepatocitos, produciendo la entrada masiva de la glucosa a estos tejidos y bajando el nivel en la sangre (1).

### MECANISMOS DE TRANSPORTE DE LA GLUCOSA

Como ya se mencionó, además del transporte de glucosa asociado a  $\text{Na}^+$ , la glucosa entra a las células por los sistemas facilitadores del transporte de



**Figura 1.** Representación de la estructura de los sistemas de transporte SGLT. Presentan 14 cruces transmembranales. Los sitios carboxilo y amino terminal se encuentran del lado extracelular. En el asa que conecta a los segmentos transmembranales 6 y 7 se encuentra un sitio de glicosilación.

glucosa o GLUT. Estos transportadores se expresan en todos los tejidos del organismo, constituyendo el principal mecanismo de entrada de la glucosa a todas las células. Los GLUT transportan la glucosa a favor de su gradiente de concentración, de ahí el nombre de difusión facilitada (2). Hasta la fecha se ha reportado la existencia de 14 miembros de esta gran familia de proteínas acarreadoras.

A continuación se describe de manera general estos dos sistemas de transporte para la glucosa, mencionando su estructura, sus propiedades cinéticas, la especificidad del sustrato, su regulación hormonal y su disfunción en algunos estados patológicos (Tabla 1).

### La familia de los transportadores de glucosa asociados a $\text{Na}^+$ (SGLT)

Como se mencionó, son transportadores que acoplan el ingreso de  $\text{Na}^+$  y glucosa o galactosa aprovechando el gradiente electroquímico a favor de la entrada del  $\text{Na}^+$  transportando a la hexosa en contra de un gradiente de

concentración. A la familia de genes que codifican para estos transportadores se le llama acarreadores de soluto del grupo 5A (SLC5A, por sus siglas en inglés: SL de "solute" y C de "carrier"). Esta familia incluye a los transportadores de glucosa intestinal y renal SGLT1 (SLC5A1) y SGLT2 (SLC5A2), al SGLT3 (SLC5A4), el cual se considera un sensor de la glucosa en tejidos como el muscular. Esta familia incluye también a los transportadores de inositol SGLT4 (SLC5A3), de yodo SGLT5 (SLC5A5) y de multivitaminas SGLT6 (SLC5A6) (Fig. 1).

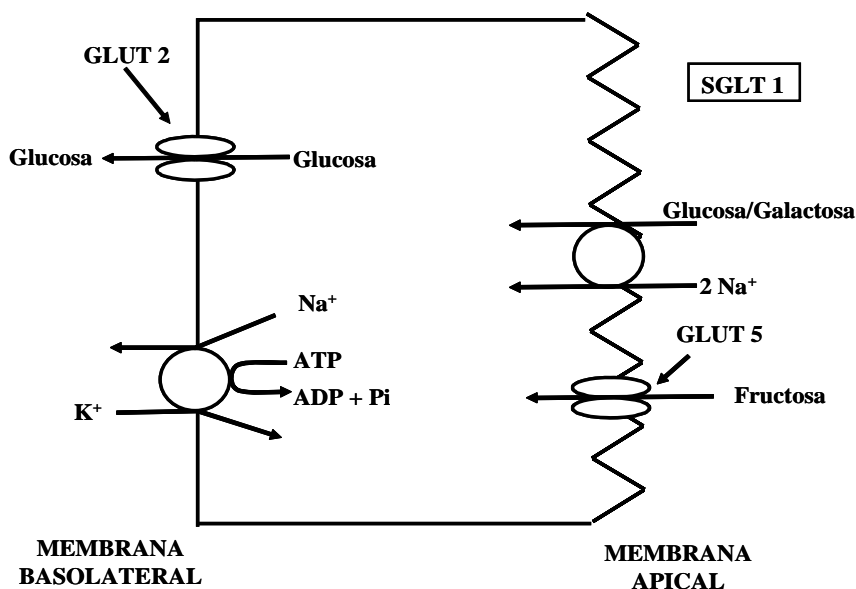
La estructura propuesta de los SGLTs contiene 14 cruces transmembranales tipo  $\alpha$ -hélice con sus grupos amino y carboxilo terminales del lado extracelular y un sitio de glicosilación entre los segmentos 6 y 7. El transporte de  $\text{Na}^+$  se realiza en una región cercana al amino terminal y la glucosa entra por la región cercana al carboxilo terminal. Inicialmente la interacción con el  $\text{Na}^+$  promueve un cambio conformacional en la proteína

TABLA 1

## Características funcionales de los GLUTS y SGLT

Transportador	Transporta	Km	Localización Tisular	Enfermedades Relacionadas	Ref.
<b>SGLT1</b> (SLC5A1)	Una glucosa o galactosa por 2 Na <sup>+</sup>	0.3 mM	intestino delgado, corazón, riñón	síndrome de mala absorción de glucosa y galactosa	(3)
<b>SGLT2</b> (SLC5A2)	Una glucosa por un Na <sup>+</sup>	2 mM	túbulo contorneado proximal	glucosuria renal primaria	(4)
<b>SGLT3</b> (SLC5A4)	Una glucosa por 2 Na <sup>+</sup>	6 mM	neuronas colinérgicas del intestino delgado, uniones neuromusculares	no descritas	(5)
<b>GLUT1</b> (SLC2A1)	Glucosa y galactosa	2 mM	eritrocitos, células endoteliales del cerebro, neuronas, riñón, linfocitos	síndrome de deficiencia del transporte de glucosa tipo I	(7, 8)
<b>GLUT2</b> (SLC2A2)	Glucosa	17 mM	células β pancreáticas, hígado, riñón, intestino delgado	síndrome de Fanconi - Bickel	(9)
<b>GLUT3</b> (SLC2A3)	Glucosa y galactosa	2 mM	sistema nervioso central, placenta, hígado, riñón, corazón, linfocitos	restricción del crecimiento intrauterino fetal	(10)
<b>GLUT4</b> (SLC2A4)	Glucosa	5mM	tejidos sensibles a la insulina, linfocitos	diabetes tipo II	(11,12)
<b>GLUT5</b> (SLC2A5)	Fructosa	10 mM	intestino delgado, testículo, riñón	algunas células cancerígenas, HPTG <sup>+</sup> e HPINS*	(14)
<b>GLUT6</b> (SLC2A6)	Glucosa	5 mM	cerebro, bazo, leucocitos	células tumorales de cáncer de mama	(17)
<b>GLUT7</b> (SLC2A7)	Glucosa y fructosa	0.3 mM y 0.06 mM	intestino delgado, colon, testículo, próstata	no descritas	(15)
<b>GLUT8</b> (SLC2A8)	Glucosa	2 mM	testículo y tejidos dependiente de insulina	no descritas	(18)
<b>GLUT9</b> (SLC2A9)	Fructosa	no descrita	riñón, hígado, intestino delgado, placenta, pulmones, leucocitos	participa en la preimplantación del embrión	(16)
<b>GLUT10</b> (SLC2A10)	Glucosa	0.3 mM	hígado, páncreas	diabetes tipo II	(19)
<b>GLUT11</b> (SLC2A11)	Fructosa y glucosa	alta afinidad a fructosa y baja afinidad a glucosa	corazón, músculo esquelético, riñón, tejido adiposo, placenta, páncreas	no descritas	(17)
<b>GLUT12</b> (SLC2A12)	Glucosa	alta afinidad a glucosa	músculo esquelético, tejido adiposo, intestino delgado	nefropatía diabética, hiperglucemia, hipertensión	(20)
<b>HMIT GLUT13</b> (SLC2A13)	Mio-inositol acoplado a H <sup>+</sup>	100 μM	cerebro	no descritas	(21)
<b>GLUT14</b> (SLC2A14)	Glucosa	no descrita	testículo	no descritas	(13)

HPTG<sup>+</sup> (Hipertrigliceridemia) e HPINS\* (Hiperinsulinemia)



**Figura 2.** Transporte de glucosa a través del epitelio intestinal. La entrada de la glucosa a las células epiteliales se realiza por los SGLT localizados en la membrana apical de cada célula. La glucosa sale de las células epiteliales por los sistemas facilitadores del transporte de glucosa localizados en la membrana basolateral.

que aumenta la afinidad por la glucosa. El  $\text{Na}^+$  transportado al interior de las células es bombeado por la ATPasa de  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  a través de la membrana basolateral, lo que recupera el gradiente electroquímico para este ión. La glucosa acumulada en las células epiteliales se moviliza fuera de la célula mediante los facilitadores del transporte de glucosa que se describen más adelante (Fig. 2). Los sistemas SGLT más estudiados son el SGLT1, el SGLT2 y el SGLT3.

**SGLT1 (SLC5A1).** Se codifica por un gen localizado en el cromosoma 22 y está compuesto por 664 aminoácidos. Una forma de caracterizar la eficiencia de los SGLT1 o GLUT para transportar glucosa es mediante el valor de su  $K_m$  o constante de Michaelis-Menten. Este parámetro expresa la concentración de glucosa, galactosa o fructosa a la cual se tiene la mitad de la velocidad máxima de transporte. La  $K_m$  del SGLT1 es de 0.3 mM, transporta una glucosa o galactosa por dos  $\text{Na}^+$  y se expresa principalmente en el intestino delgado, en el corazón y en el riñón. Su defi-

ciencia congénita provoca la enfermedad autosómica recesiva conocida como síndrome de mala absorción de glucosa-galactosa. La deficiencia se ubica mayormente en las células epiteliales de la mucosa intestinal. Este síndrome se presenta principalmente en neonatos, ocasionando severos cuadros diarreicos, que suelen ser fatales en las primeras semanas de vida a menos que la glucosa o galactosa, así como diversos carbohidratos, sean eliminados de la dieta (3).

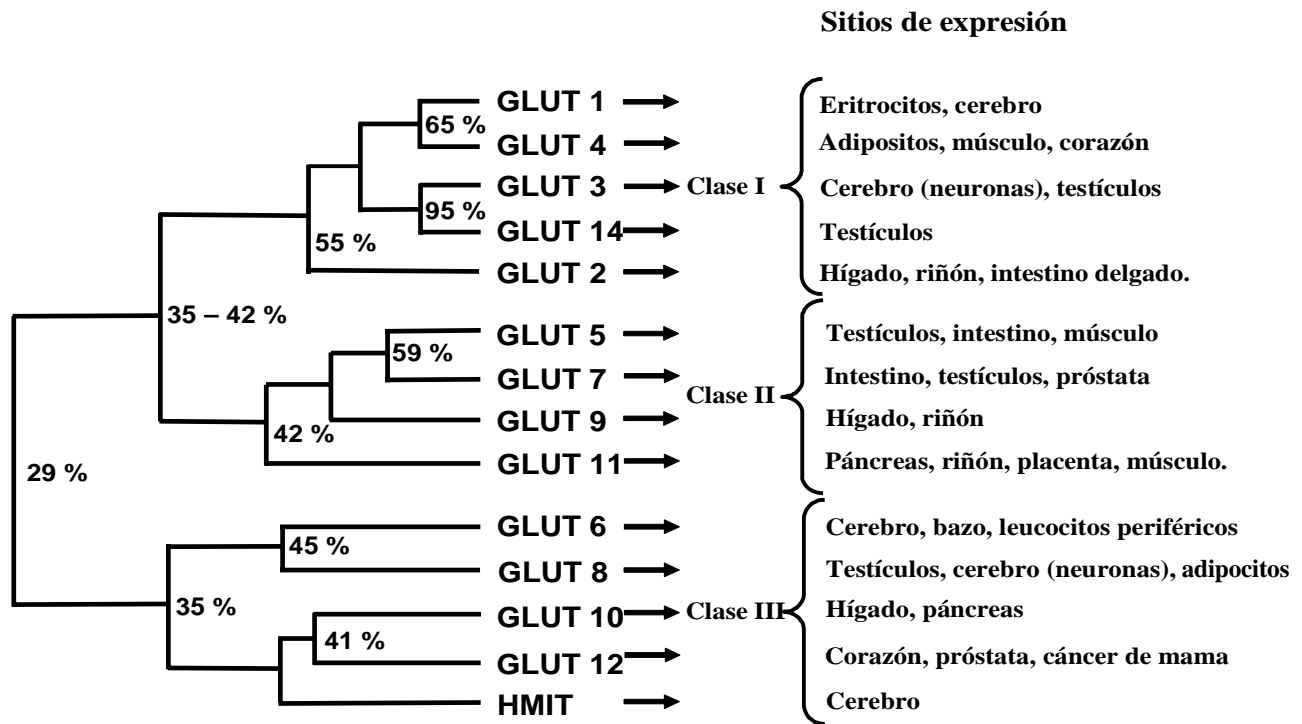
**SGLT2 (SLC5A2).** Este cotransportador presenta una similitud del 59 % con el SGLT1. Se codifica por un gen localizado en el cromosoma 16 y está formado por 672 aminoácidos. Su  $K_m$  para la glucosa es de 1.63 mM, transporta una molécula de glucosa por un ión  $\text{Na}^+$ . Se expresa principalmente en el túbulo contorneado proximal de las nefronas reabsorbiendo la glucosa filtrada. Su defecto congénito en la membrana apical del segmento S1 de las células del túbulo renal proximal produce una glucosuria renal primaria. Los pacientes con este padecimiento presentan niveles normales de glucosa en

la sangre, así como resultados normales de tolerancia oral a la glucosa, pero presentan glucosuria persistente. En los casos graves, los pacientes pueden excretar una alta cantidad de la glucosa filtrada (4).

**SGLT3 (SLC5A4).** Tiene una similitud del 70 % con el SGLT1. Está formado por 674 aminoácidos y se codifica por un gen localizado en el cromosoma 22. Transporta dos iones de  $\text{Na}^+$  por una molécula de glucosa. Tiene una  $K_m$  de 6 mM para la glucosa. Corresponde a un canal iónico sensible a glucosa expresado principalmente en las neuronas colinérgicas del plexo mientérico y submucoso del intestino delgado y en las uniones neuromusculares del músculo esquelético, donde la concentración de glucosa plasmática modula el potencial de membrana. La entrada de la glucosa produce una corriente que despolariza la membrana hasta en 50 mV. Esto sugiere que el SGLT3 en el ser humano se comporta como un sensor de la glucosa, enviando información a la célula nerviosa acerca de la concentración externa de la glucosa directamente a través del potencial de membrana o indirectamente a través de otra molécula, como podría ser una proteína G (5). No se conocen patologías relacionadas directamente con este transportador.

### Los sistemas facilitadores del transporte de glucosa (GLUT)

Corresponden a las proteínas encargadas del transporte de los monosacáridos al interior de todas las células del organismo. Se han identificado 14 de ellas (GLUT 1-GLUT 14) divididas en tres subfamilias de acuerdo a las similitudes en su secuencia y a sus características funcionales, como su especificidad al sustrato (glucosa, fructosa y/o galactosa), sus valores de  $K_m$ , o su respuesta a los bloqueadores específicos citocalasina B y forskolina (1)



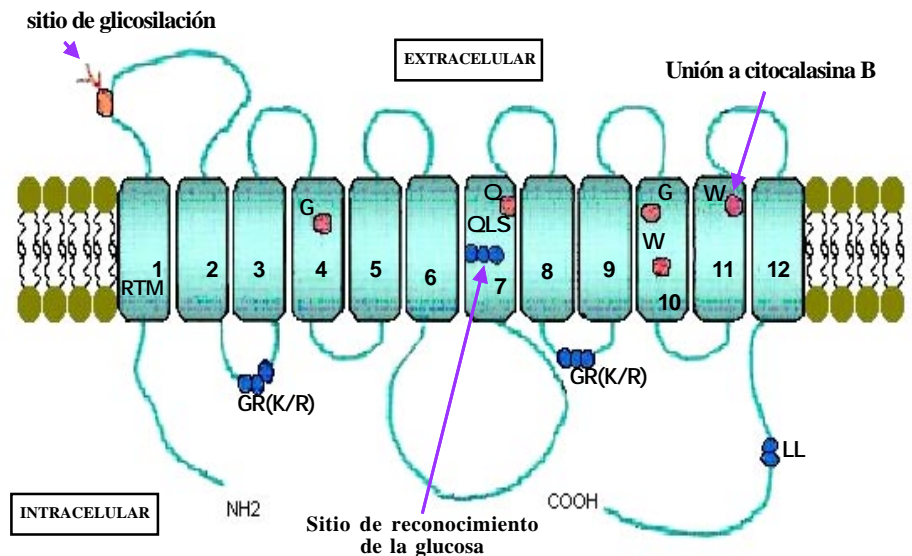
**Figura 3.** Clasificación de la familia de los sistemas facilitadores del transporte de glucosa (GLUT) del humano en función de la similitud de su secuencia. Los números dentro de los corchetes del árbol indican el porcentaje de identidad.

(Fig. 3). A la familia de genes que codifican para estos transportadores se les denomina acarreadores de soluto del grupo 2A (SLC2A, por sus siglas en inglés).

Estos transportadores son glicoproteínas cuya masa molecular fluctúa entre 45 y 55 kDa, el análisis de hidropatía predice una estructura con 12 cruces transmembranales conectados entre sí por asas hidrofílicas; la primera asa es externa y en algunos GLUT presenta un sitio de glicosilación (Fig. 4). Tienen sus grupos amino y carboxilo terminales del lado citosólico de la membrana. Presentan sensibilidad a la citocalasina B. La selectividad a la glucosa está determinada por una serie de secuencias de aminoácidos altamente conservadas; por ejemplo, la secuencia QLS de la hélice 7 es importante para el reconocimiento de la glucosa en el GLUT 1, en el GLUT 3 y en el GLUT 4; asimismo, se ha descrito que la arginina y la glicina de los segmentos 4 y 10, así como el triptofano de la hélice 10 y las secuencias glicina/

arginina o arginina/lisina localizadas en las asas que unen a las hélices 2 y 3 y las que unen a las hélices 8 y 9, son también sitios de unión a la glucosa. Por otro lado, el arreglo dileucina intracelular, cerca del carboxilo termi-

nal, es crítico para la internalización de los transportadores en el reciclado de los mismos. Se ha sugerido que cinco de los cruces forman un poro acuoso por donde es transportada la glucosa (6) (Fig. 4).



**Figura 4.** Estructura hipotética de los GLUT. Se componen de 12 regiones transmembrana (RTM), conectadas por lazos hidrofílicos. Las terminaciones amino y carboxilo se encuentran en la parte citoplasmática y presentan una serie de aminoácidos muy conservados entre todos los transportadores. G = glicina; R = arginina; Q = glutamina; L = leucina; K = lisina; S = serina; W = triptofano.

## Clasificación de los GLUT

**LOS GLUT CLASE I.** Estos sistemas de transporte comprenden a las bien caracterizadas isoformas GLUT 1 a GLUT 4 y al recientemente identificado GLUT 14.

**GLUT 1 (SLC2A1).** Se codifica por un gen localizado en el cromosoma 22 y está formado por 664 aminoácidos. Tiene una Km de 1 a 2 mM y además transporta galactosa. Se expresa en muchos tejidos, como en los eritrocitos, en las células endoteliales del cerebro y en las células neuronales, entre otras. En el músculo esquelético su mayor expresión se presenta durante la gestación y disminuye después del nacimiento. En el riñón se ha encontrado en todos los segmentos de la nefrona. El defecto congénito en el GLUT 1 se relaciona con el síndrome de deficiencia del transporte de glucosa tipo 1, cuyos signos incluyen convulsiones, retraso en el crecimiento, microcefalia adquirida, hipotonía y desórdenes motores. Este síndrome se trata con una dieta rica en cuerpos cetónicos (7). Por otra parte, las alteraciones en el gen que codifica para el GLUT 1 se relaciona con el desarrollo de la diabetes mellitus tipo II (8).

**GLUT 2 (SLC2A2).** Está constituido por 522 aminoácidos y se codifica por un gen localizado en el cromosoma 3. Tiene una Km de 17 mM. Se expresa principalmente en las células pancreáticas, en el hígado, en el riñón y en la membrana basolateral del intestino delgado. Transporta también galactosa y fructosa. La deficiencia congénita del GLUT 2 está relacionada con el síndrome de Fanconi-Bickel, una enfermedad autosómica recesiva caracterizada por hepatomegalia producida por la acumulación de glucógeno, intolerancia a la glucosa y a la galactosa, hipoglucemia durante el ayuno y una nefropatía tubular característica, además de una disminución significativa del crecimiento (9).

**GLUT 3 (SLC2A3).** Presenta alta afinidad por la glucosa y se expresa en tejidos que tienen un alto requerimiento de este azúcar, aunque también transporta galactosa. Está formado por 596 aminoácidos y se codifica por un gen localizado en el cromosoma 12. Tiene una Km para la glucosa de 2 mM. En el ser humano se presenta su mayor expresión en el sistema nervioso central, en la placenta, en el hígado, en el riñón y en el corazón. En el cerebro su función está acoplada al GLUT 1, permitiendo el transporte vectorial de la glucosa desde la sangre hasta las neuronas. La deficiencia del GLUT 3 está relacionada con la restricción del crecimiento intrauterino fetal (IUGR), una complicación frecuente durante el embarazo. Los infantes expuestos a IUGR presentan hipoglucemia en el periodo neonatal, aumento en el riesgo de retraso mental y físico, así como enfermedades cardiovasculares y diabetes mellitus tipo II (10).

**GLUT 4 (SLC2A4).** Es uno de los transportadores más estudiados. Presenta alta afinidad por la glucosa y se expresa en aquellos tejidos sensibles a la insulina, como el músculo esquelético, el tejido adiposo o el corazón. Actualmente se sabe que la insulina estimula la incorporación del GLUT 4 a la membrana plasmática a partir de vesículas intracelulares, incrementando de 10 a 20 veces el transporte de la glucosa. El GLUT 4 está formado por 509 aminoácidos y se codifica por un gen localizado en el cromosoma 17. Tiene una Km para la glucosa de 5 mM. El mecanismo por el cual la insulina induce la incorporación de GLUT 4 a la membrana no se ha descrito en su totalidad, sin embargo en la actualidad se conocen varios eventos en el proceso: una vez que la insulina se une a su receptor membranar hay un cambio conformacional que estimula la actividad de tirosinacinasas. El receptor se autofosforila y a su vez

fosforila a otras proteínas, donde la más importante es llamada sustrato del receptor de la insulina 1 (IRS-1). La IRS-1 activa a dos vías intracelulares: La cascada de las cinasas activadas por mitógenos (MAP cinasas) que intervienen en la regulación de la expresión genética de diversas proteínas, entre las cuales se encuentran el GLUT 1 y el GLUT 4. La otra vía activada por IRS-1 es la de la fosfatidil-inositol 3 cinasa (PI3 cinasa) la cual está involucrada en diversos efectos metabólicos, principalmente en la translocación y exocitosis de los GLUT 4 que llevan a su inserción en la membrana (11). Por otra parte, la activación de esta vía disminuye la endocitosis de vesículas que contienen moléculas del GLUT 4, incrementando su número en la membrana celular. Se ha descrito en pacientes diabéticos tipo II que en tejidos blanco de la insulina se encuentra disminuida la expresión y los niveles de fosforilación del IRS-1, de la PI3 cinasa y de la proteína cinasa B, los cuales constituyen elementos de señalización temprana de la insulina, lo que explicaría la falta de respuesta a esta hormona (12).

**GLUT 14 (SLC2A14).** El gen humano que codifica a este sistema de transporte está localizado en el cromosoma 12p 13.3 (17.1M), aproximadamente 10 Mb antes del inicio del gen de GLUT 3, con el que tiene una alta identidad. El GLUT 14 consiste de 11 exones y hasta hace poco se consideraba un pseudo-gen, ya que no se había encontrado un producto proteico derivado. Actualmente se sabe que la expresión de GLUT 14 tiene dos formas editadas alternativas: una corta (GLUT 14-S) que tiene 10 exones y codifica para una proteína de 497 aminoácidos, que es 94.5 % idéntica al GLUT 3 y una forma larga (GLUT-L) que tiene un exón más y codifica para una proteína de 520 aminoácidos y que difiere con el GLUT 14-S sólo en el amino terminal.

A diferencia del GLUT 3 que se expresa en muchos tejidos, las isoformas del GLUT 14 se expresan específicamente en el testículo, con mayor predominancia que el GLUT 3 (13). No se han descrito patologías relacionadas con las alteraciones en este transportador.

**LOS GLUT CLASE II.** Dentro de esta clase encontramos al transportador selectivo de la fructosa, el GLUT 5 y a los transportadores GLUT 7, GLUT 9 y GLUT 11.

**GLUT 5 (SLC2A5).** La expresión de este transportador es altamente regulada durante el desarrollo. Se encarga de transportar exclusivamente a la fructosa y no a la glucosa en el intestino delgado, en los testículos y en el riñón. Está formado por 501 aminoácidos y está codificado por un gen localizado en el cromosoma 1. Por otra parte, se ha propuesto que el aumento de la actividad metabólica en células tumorales está acompañado por el aumento en la expresión de transportadores de la glucosa y particularmente el aumento en el GLUT 5. Estudios realizados *in situ* han demostrado que este transportador se expresa abundantemente en pacientes con cáncer de mama, lo cual sugiere que la fructosa podría ser un buen sustrato energético para este tipo de células (14). Por otro lado, el aumento en la fructosa en la dieta occidental conlleva a un aumento en la incidencia de hipertrigliceridemia e hiperinsulinemia.

**GLUT 7 (SLC2A7).** El transportador GLUT 7 que fue clonado del intestino humano, corresponde a un transportador de alta afinidad a la glucosa y a la fructosa, originalmente fué descrito como un transportador del retículo endoplásmico. Está formado por 524 aminoácidos y tiene un 53% de identidad con el GLUT 5. Presenta una afinidad para la glucosa de 0.3 mM y para la fructosa de 0.06 mM. Su inusual especificidad de sustrato y su cercana identidad con el GLUT 5, sugieren

que el GLUT 7 representa un intermediario entre las clases I y II de los transportadores de la glucosa. El RNA mensajero del GLUT 7 ha sido detectado en el intestino delgado, en el colon, en los testículos y en la próstata; en el intestino delgado se expresa predominantemente en las células de borde en cepillo (15).

**GLUT 9 (SLC2A9).** El gen que codifica para este transportador está localizado en el cromosoma 4p 15.3-p 16 y consiste de 12 exones que codifican una proteína de 540 aminoácidos. El análisis de diferentes tejidos humanos muestra que el GLUT 9 se expresa principalmente en el riñón, en el hígado, en el intestino delgado, en la placenta, en los pulmones y en los leucocitos. El transportador GLUT 9 presenta un 44 % de similitud con el GLUT 5 y un 38 % de similitud con el GLUT 1. En el ratón se observó su expresión durante la pre-implantación del embrión, lo cual sugiere su importancia en este proceso (16).

**GLUT 11 (SLC2A11).** Es un transportador que tiene una alta similitud con el transportador de la fructosa GLUT 5 (aproximadamente en 42%). Está constituido por 496 aminoácidos y se codifica por un gen localizado en el cromosoma 22. Se han detectado tres isoformas de este transportador (GLUT 11-A, GLUT 11-B y GLUT 11-C) que difieren entre sí por su secuencia de aminoácidos del amino terminal. GLUT 11-A se expresa principalmente en el corazón, en el músculo esquelético y en el riñón; GLUT 11-B se expresa en el riñón, en el tejido adiposo y en la placenta; GLUT 11-C se expresa en el tejido adiposo, en el corazón, en el músculo esquelético y en el páncreas. Tienen baja afinidad por la glucosa y baja afinidad a la citocalasina B. La fructosa inhibe el transporte de la glucosa, sugiriendo que esta proteína transporta principalmente a la fructosa y con muy baja afinidad, a la glucosa, aunque esto no se ha determinado aún (17).

**LOS GLUT CLASE III.** Estos transportadores comprenden al GLUT 6, al GLUT 8, al GLUT 10, al GLUT 12 y al transportador de mio-inositol acoplado a protones (HMIT). En comparación con las clases I y II, estos transportadores se caracterizan por presentar en su estructura secundaria una asa 1 extracelular más corta, por lo que carecen del sitio de glicosilación. Presentan una alta identidad con los transportadores encontrados en la levadura, en las bacterias y en la *Drosophila melanogaster*, considerándose evolutivamente más antiguos que los otros transportadores.

**GLUT 6 (SLC2A6).** Corresponde a una proteína formada por 507 aminoácidos. Tiene baja afinidad por la glucosa, aunque no se ha determinado si transporta a la fructosa. Se expresa predominantemente en el cerebro, en el bazo y en los leucocitos. Al igual que el GLUT 5, los GLUT6 han sido encontrados en las células tumorales, como las del cáncer de mama, sugiriendo que su expresión está relacionada con la utilización de la fructosa como sustrato energético en estas células (14).

**GLUT 8 (SLC2A8).** Se le conoce también como GLUTX1. Es una proteína de 42 kDa, formada por 477 aminoácidos y cuyo gen se localiza en el cromosoma 9 de humano. Este transportador presenta un 29.4% de similitud con el GLUT 1. Al encontrarse localizado intracelularmente, se cree que no está involucrado en el consumo basal de la glucosa y su expresión, migración y reciclado depende de diversos estímulos hormonales y nerviosos (insulina entre ellos), aunque otros factores estresantes como la hipoxia y la hipoglucemia pueden inducir su función. Presenta alta afinidad por la glucosa y es inhibido específicamente por la D-fructosa y la D-galactosa. Se expresa principalmente en los testículos, de manera moderada en el sistema nervioso central, en la glándula adrenal, en el hígado

do, en el bazo, en el tejido adiposo café y en el pulmón, aunque también se ha detectado una expresión muy baja en el músculo esquelético. En el caso particular del testículo humano, su expresión depende de la secreción de las gonadotropinas y en los blastocistos depende de la insulina; por otro lado, en las glándulas mamarias su expresión está regulada por las hormonas lactogénicas (18). La expresión de este transportador puede encontrarse aumentada en los tejidos sensibles a la insulina en el caso de diabetes tipo II, posiblemente para compensar las deficiencias funcionales de los GLUT sensibles a esta hormona.

**GLUT 10 (SLC2A10).** Es un transportador de glucosa expresado de manera importante en pacientes con diabetes mellitus tipo II. El gen se localiza en el cromosoma 20q12-13.1. Este transportador está formado por 541 aminoácidos. Tiene un 35 % de similitud con el GLUT 3 y con el GLUT 8. Se expresa predominantemente en el hígado y en el páncreas. Tomando en cuenta su localización tisular y su función, se considera que las alteraciones en el gen del GLUT10 están involucradas en la susceptibilidad a la diabetes mellitus tipo II. Por otra lado, la deficiencia de este transportador está relacionada con la sobre-regulación de la síntesis del TGF- $\beta$  en las paredes arteriales, conocido como el

síndrome Loeys-Dietz o el síndrome de tortuosidad arterial, en el cual se presentan aneurismas aórticos (19).

**GLUT 12 (SLC2A12).** Este transportador fue originalmente clonado de una línea celular de cáncer de mama y su expresión se ha detectado en la glándula mamaria de ratas (20). Es una proteína formada por 621 aminoácidos con una masa molecular de aproximadamente 67 kDa. Está considerado como un segundo sistema de transporte de la glucosa dependiente de la insulina. Se expresa en el músculo esquelético, en el tejido adiposo y en el intestino delgado. Tiene relación con la nefropatía diabética progresiva, en la que se presenta hiperglucemia, hipertensión y la activación exacerbada del sistema renina-angiotensina (20).

**HMIT (SLC2A13).** También llamado GLUT 13, se le conoce como el transportador a mio-inositol acoplado a H<sup>+</sup>. Está formado por 629 aminoácidos. Tiene un 36% de similitud con el GLUT 8. Se expresa predominantemente en el cerebro. Transporta específicamente mio-inositol y estereoisómeros relacionados, sin transportar ningún tipo de azúcar. Los fosfoinosítidos sintetizados a partir de mio-inositol desempeñan un papel crítico en el desarrollo de los conos del crecimiento neuronal y en la actividad sináptica. Se ha demostrado su locali-

zación en vesículas intracelulares que se liberan a la membrana celular mediante la despolarización de la célula, por la activación de la proteína cinasa C o por el incremento en la concentración del calcio intracelular (21).

## CONCLUSIONES

Los transportadores de la glucosa SGLT y GLUT participan en el control hormonal del metabolismo al ser mediadores de la entrada, utilización y almacenamiento de la glucosa. Permiten un transporte de la glucosa altamente regulado al expresarse de manera diferencial en los tejidos y al depender de estímulos humorales diversos para regular su función. Actualmente se han caracterizado con detalle varios aspectos de estos transportadores, como la distribución de su expresión en los tejidos, su especificidad al sustrato, su cinética, y en el caso de algunos, su papel fisiológico. Sin embargo, aun falta por conocer diversos aspectos, como por ejemplo, los mecanismos mediante los cuales se regula su síntesis, el mecanismo de incorporación a las vesículas intracelulares, los mecanismos de translocación, internalización, degradación, etc. El conocimiento detallado de estos sistemas de transporte y el de su regulación en el futuro, nos permitirán diseñar estrategias terapéuticas más eficientes en el caso de su disfunción.

## REFERENCIAS

1. Czech MP, Corvera S (1999) Signaling mechanisms that regulate glucose transport. *J Biol Chem* 274(4):1865-1878.
2. Scheepers A, Joost H G, Schurmann A (2004) The glucose transporter families SGLT and GLUT: molecular basis of normal and aberrant function. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 28:364 - 371.
3. Wright EM. (1998) Glucose galactose malabsorption. *Am J Physiol* 275: G879 - 882.
4. Brown GK (2000) Glucose transporters: structure, function and consequences of deficiency. *J Inherit Metab Dis* 23:237 - 246.
5. Diez-Sampedro A, Hirayama BA, Oswald C, Gorboulev V, Baumgarten K, Volk C, Wright EM, Koepsell H (2003) A glucose sensor hiding in a family of transporters. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100:11753 -11758.
6. Barrett MP, Walmsley AR, Gould G W (1999) Structure and function of facilitative sugar transporters. *Curr Opin Cell Biol* 11:496 - 502.
7. Klepper J, Voit T (2002) Facilitated glucose transporter protein type 1 (GLUT 1) deficiency syndrome: impaired glucose transport into brain. *Eur J Pediatr* 161:295 - 304.

8. Li SR, Baroni MG, Oelbaum RS, Stock J, Galton DJ (1988) Association of genetic variant of the glucose transporter with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Lancet II*: 368-370.
9. Santer R, Steinmann B, Schaub J (2002) Fanconi-Bickel syndrome-a congenital defect of facilitative glucose transport. *Curr Mol Med* 2:213 - 227.
10. Lesage J, Hahn D, Leonhardt M, Blondeau B, Breant B, Dupouy JP. (2002) Maternal undernutrition during late gestation-induced intrauterine growth restriction in the rat is associated with impaired placental GLUT 3 expression, but does not correlate with endogenous corticosterone levels. *J Endocrinol* 174:37 - 43.
11. Mastick CC, Aebersold R, Lienhard GE (1994) Characterization of a major protein in GLUT 4 vesicles. Concentration in the vesicles and insulin-stimulated translocation to the plasma membrane. *J Biol Chem* 269:6089 - 6092.
12. Matthaei S, Stumvoll M, Kellerer M, Häring HU (2000) Pathophysiology and pharmacological treatment of insulin resistance. *Endocrine Rev* 21:585-618.
13. Wu X, Freeze HH (2002) GLUT 14, a duplicon of GLUT 3, is specifically expressed in testis as alternative splice forms. *Genomics* 80(6):553 - 557.
14. Godoy A, Ulloa V, Rodriguez F, Reinicke K, Yanez AJ, Garcia M de L, Medina RA, Carrasco M, Barberis S, Castro T, Martinez F, Koch X, Vera JC, Poblete MT, Figueroa CD, Peruzzo B, Perez F, Nualart F (2006) Differential subcellular distribution of glucose transporters GLUT 1-6 and GLUT 9 in human cancer: Ultrastructural localization of GLUT 1 and GLUT 5 in breast tumor tissues. *J Cell Physiol* 207:614 - 627.
15. Li Q, Manolescu A, Ritzel M, Yao S, Slugoski M, Young JD, Chen XZ, Cheeseman CI (2004) Cloning and functional characterization of the human GLUT 7 isoform SLC2A7 from the small intestine. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 287:G236 -G242.
16. Carayannopoulos MO, Schlein A, Wyman A, Chi M, Keembiyehetty C, Moley KH (2004) GLUT 9 is differentially expressed and targeted in the preimplantation embryo. *Endocrinol* 145:1435 - 1443.
17. Doege H, Bocianski A, Scheepers A, Axer H, Eckel J, Joost HG, Schurmann A (2001) Characterization of human glucose transporter (GLUT) 11 (encoded by SLC2A11), a novel sugar-transport facilitator specifically expressed in heart and skeletal muscle. *Biochem J* 359: 443 -449.
18. Ibberson M, Uldry M, Thorens B (2000) GLUTX1, a novel mammalian glucose transporter expressed in the central nervous system and insulin-sensitive tissues. *J Biol Chem* 275:4607 - 4612.
19. McVie-Wylie AJ, Lamson DR, Chen YT (2001) Molecular cloning of a novel member of the GLUT family of transporters, SLC2a10 (GLUT 10), localized on chromosome 20q13.1: a candidate gene for NIDDM susceptibility. *Genomics* 72:113 -117.
20. Rogers S, Macheda ML, Docherty SE, Carty MD, Henderson MA, Soeller WC, Gibbs EM, James DE, Best JD (2002) Identification of a novel glucose transporter-like protein-GLUT-12. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 282:E733 -E738.
21. Uldry M, Ibberson M, Horisberger JD, Chatton JY, Riederer BM, Thorens B (2001) Identification of a mammalian H(+)-myo-inositol symporter expressed predominantly in the brain. *EMBO J* 20:4467 - 4477.



# PARTICIPACIÓN DE LA SUBUNIDAD $G\alpha$ DE PROTEÍNAS G HETEROTRIMÉRICAS EN LOS PROCESOS DE VIRULENCIA Y PATOGENICIDAD DE LOS HONGOS\*

Edith Sánchez Paredes<sup>1</sup>, Rocío Alcántara Hernández<sup>2</sup> y M Eugenia Torres Marquez<sup>3</sup>

## RESUMEN

Las proteínas G heterotriméricas actúan como moléculas transductoras de señales entre el receptor membranal y las proteínas efectoras. En los hongos éstas desempeñan un papel crucial durante el apareamiento y la patogénesis. Las proteínas G intervienen además en procesos de desarrollo y morfogénesis, los cuales determinan su virulencia en plantas y animales. En esta revisión se describen algunos de los hallazgos que han llevado a identificar los genes y las funciones específicas de las subunidades G dentro de las rutas de señalización participantes en los procesos de virulencia y patogénesis de algunas especies fúngicas.

**PALABRAS CLAVE:** Proteínas G, hongos, vías de señalización, patogenicidad.

## INTRODUCCIÓN

Las proteínas G heterotriméricas reciben este nombre debido a su capacidad de unir nucleótidos de guanina y porque están constituidas de tres diferentes subunidades  $G\alpha$ ,  $G\beta$  y  $G\gamma$  siendo  $G\alpha$  el componente de unión a los nucleótidos. Las proteínas G heterotriméricas originalmente se postularon en la señalización transmembranal por el requerimiento de GTP para la activación hormonal de la adenilato ciclasa (AC). Estas proteínas se encuentran acopladas a receptores serpentina, denominados así por que contienen 7 dominios de aminoácidos hidrofóbicos que atraviesan la membrana citoplasmática. El

extremo carboxilo terminal, la segunda y la tercera asa citoplasmática del receptor interaccionan con la subunidad  $G\alpha$  una vez que es activado por su agonista. Estas señales son transmitidas por medio de rutas de señalización para producir respuestas específicas, tales como, la inducción o inhibición de la transcripción de genes, fosforilación de proteínas o reorganización del citoesqueleto entre muchas otras (1).

En resumen, los sistemas de señalización mediados por proteínas G consisten de un receptor, una proteína G heterotrimérica (transductor) y un efector. Cada uno de estos elementos se regula independientemente por

otras proteínas, mediadores solubles o a nivel transcripcional.

En los hongos las proteínas G tienen una participación importante en procesos de reproducción sexual e incluso son factores que determinan su virulencia (2). El propósito de esta revisión es mostrar la función que desempeñan la subunidad  $G\alpha$  de la proteína G heterotrimérica en la virulencia de estos organismos.

## Estructura de las proteínas G

Las proteínas G heterotriméricas consisten de una subunidad  $G\alpha$ , una subunidad  $G\beta$  y una subunidad  $G\gamma$ ; se han descrito varios tipos de modificaciones pos-traduccionales para cada

## ABSTRACT

Heterotrimeric G proteins function as signal transduction molecules between membrane receptors and effectors. In fungi, they play a crucial role in mating and pathogenesis. Furthermore G proteins participate in some development and morphogenesis processes, which determine their virulence in plant and animals. In this review some findings that shed light on identifying the genes and functions of G proteins within signalling pathways participating on virulence and pathogenesis of some fungi are described.

**KEY WORDS:** G proteins, fungi, signalling pathways, pathogenicity.

\*Recibido: 6 de junio de 2006 Aceptado: 8 de mayo de 2007

Departamentos de <sup>1</sup>Genética Molecular y <sup>2</sup>Biología Celular, Instituto de Fisiología Celular y <sup>3</sup>Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F., 04510. Correo E: eparedes@ifc.unam.mx

una de las subunidades de las proteínas G que parecen estar involucradas en la regulación de la señal. Todas las subunidades G $\alpha$  son miristoiladas y/o palmitoiladas. La miristoilación implica la adición co-traducciona de un ácido graso saturado de 14 carbonos a través de una unión amida en un residuo de glicina en el N-terminal, mientras que la palmitoilación se refiere a la adición de un ácido graso saturado de 16 carbonos a través de una unión tioéster en un residuo de cisteína. La subunidad G $\beta$  es fosforilada en varios sitios, después de la estimulación con la feromona y algunas subunidades G $\gamma$  son isopreniladas, esta modificación involucra la unión de un grupo farnesil o un isoprenoide geranyl-geranyl de 20 carbonos a un residuo de cisteína del carboxilo terminal. En *Saccharomyces cerevisiae*, la subunidad G $\gamma$  (Ste18) además de ser farnesilada también es palmitoilada (1-3).

La subunidad G $\alpha$ , presenta dos dominios importantes, un dominio de GTPasa y un dominio helicoidal, siendo este último único para las proteínas G heterotriméricas. El dominio helicoidal es el dominio más divergente entre la familia de las G $\alpha$  y juega un papel importante en la especificidad y en el acoplamiento receptor-proteína G-efector (1). Existen tres regiones dentro del dominio de GTPasa, denominadas región I, II y III, las cuales son conformacionalmente sensibles al intercambio de los nucleótidos de guanina (GDP o GTP). Cuando el receptor activa a la proteína G, la subunidad G $\alpha$  libera GDP y une GTP, es en este estado activado que pueden actuar directamente sobre moléculas efectoras (1).

La subunidad G $\beta$  pertenece a la gran familia de proteínas WD40, estas proteínas están caracterizadas por la presencia de repeticiones que consisten entre 40 y 60 aminoácidos con dos secuencias dipeptídicas internas conservadas, glicina-histidina (GH) y triptofano-ácido aspártico (WD); de

acuerdo a la estructura de cristal de G, se predice que tiene una estructura de  $\beta$ -propela. La subunidad G $\gamma$  es la más pequeña de las tres subunidades, tienen un tamaño de 67-74 aminoácidos y la mayoría de las 12 subunidades identificadas están conservadas en diferentes especies de vertebrados. Las diferencias radican principalmente en el extremo amino terminal, lo cual sugiere que podría tratarse de un sitio funcional diferente para cada especie. Todas las subunidades G $\gamma$  son isopreniladas en el extremo carboxilo-terminal, esta subunidad interactúa con la subunidad G $\beta$  a través del extremo amino-terminal. El dímero G $\beta\gamma$  se une a una zona hidrofóbica presente en G $\alpha$ -GDP, la unión de GTP reduce la afinidad de G $\alpha$  por G $\beta\gamma$  y por lo tanto el trímero se disocia (1). El esquema del ciclo de la proteína G e información general sobre esta se reportó ya en un número previo de esta revista (4).

### Señalización de proteínas G en hongos

Las células fúngicas detectan diferentes señales del medio ambiente tales como: temperatura, nutrientes, osmolaridad, pH o luz, entre otras. Además también distinguen la presencia de células del tipo celular opuesto mediante el reconocimiento de feromonas sexo-específicas. De manera similar la patogénesis fúngica depende de señales que les permiten el reconocimiento de su hospedero animal o vegetal (2).

Se han identificado varias proteínas G en diversas especies de hongos y se ha observado que participan en el apareamiento y el desarrollo patogénico. Se han descrito alrededor de 24 genes que codifican para subunidades G $\alpha$  de diferentes hongos, varios de estos por hibridación de ADN con sondas heterólogas a partir de regiones conservadas de las secuencias de G $\alpha$  ya conocidas (5, 6).

El modelo de proteína G que más

se ha estudiado en hongos es el de *S. cerevisiae*, en procesos como: el apareamiento, el crecimiento filamentoso y la respuesta a estrés osmótico; procesos que a su vez están involucrados en el desarrollo de la patogenicidad en otros hongos. A continuación se describe de manera general el sistema de respuesta a feromona de esta levadura, que nos servirá de base para describir los otros procesos.

### Mecanismo de activación de la proteína G en la levadura *Saccharomyces cerevisiae*

*Saccharomyces cerevisiae* es un hongo levaduriforme, clasificado dentro del grupo de los Ascomycetos y se ha utilizado ampliamente como modelo para estudios genéticos y fisiológicos.

*S. cerevisiae* presenta dos diferentes tipos celulares haploides ( $a$  y  $\alpha$ ) y cada uno de ellos secreta una feromona específica que actuará en la célula del sexo contrario (Fig. 1A). Cuando estas células se encuentran y se reconocen se da la conjugación, donde una célula  $a$  se aparea con una célula  $\alpha$ . El apareamiento se inicia cuando una célula haploide detecta la feromona del sexo opuesto por medio de un receptor de 7 dominios transmembranales, localizado en la membrana de la célula del tipo celular contrario. Este reconocimiento de feromonas sexuales en cada célula, activa el sistema de transducción de señales en respuesta a feromonas. Esta cascada de señales produce un cambio morfológico, dando origen a un gameto que es una estructura piriforme conocida con el nombre de "shmoo", la cual le permitirá fusionarse a la célula del sexo opuesto y generar una célula diploide. En este estado las células pueden entrar en la etapa de esporulación en la que se dividen por meiosis, originando cuatro esporas haploides que están contenidas en un asca, de donde son liberadas para llevar a cabo el proceso de germinación. La germinación de estas esporas genera cuatro células haploides: dos del

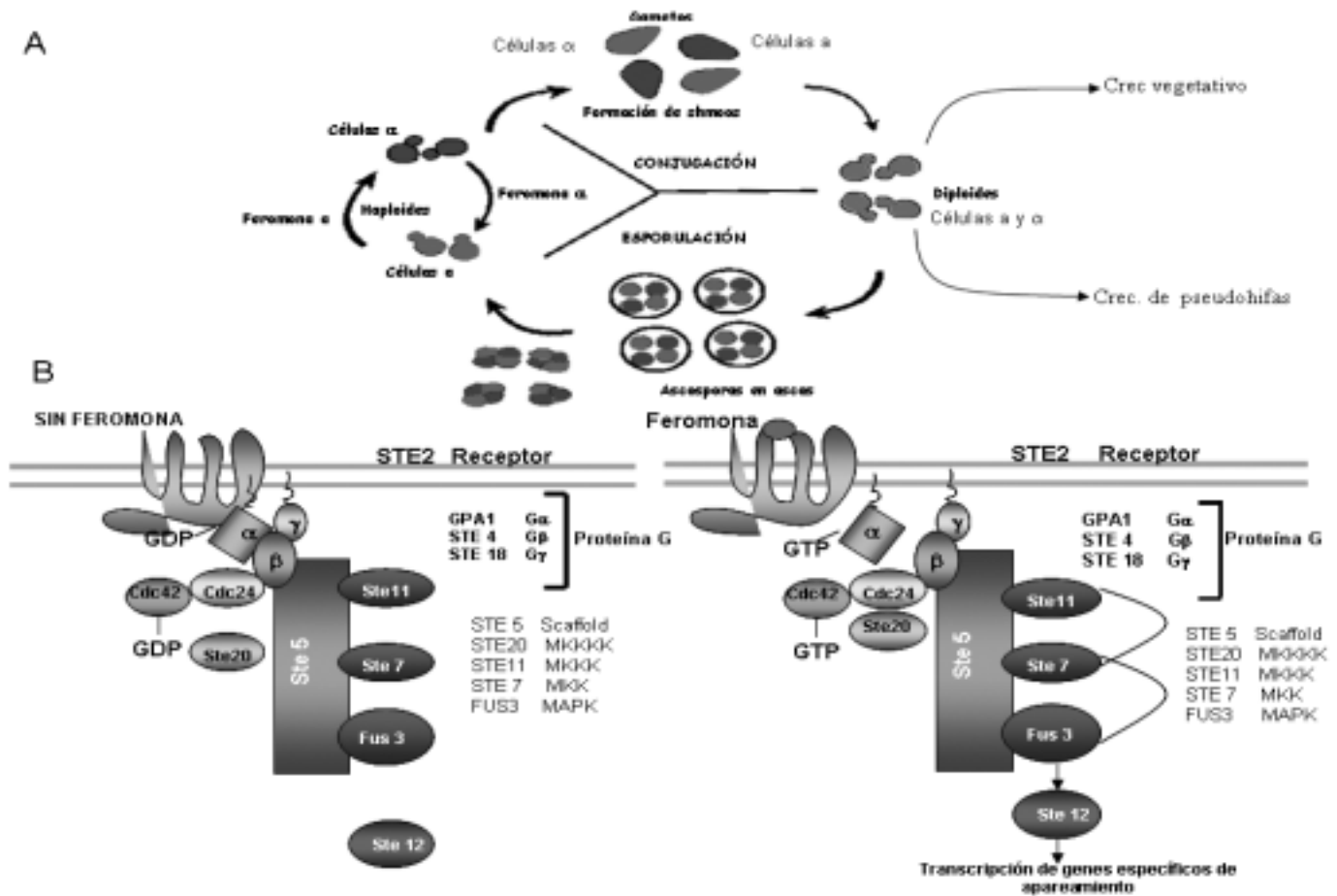


Figura 1. *Saccharomyces cerevisiae*. (A) Ciclo de vida y (B) Vías modelo de señalización.

tipo sexual  $\alpha$  y dos del tipo sexual  $\alpha$  (3, 5, 6). En este sistema de apareamiento la subunidad G $\alpha$ , que corresponde al gen *GPA1* (*SCG1*) (5), juega un papel inhibitorio de la respuesta a feromonas. De manera que la interrupción del gen *GPA1* lleva a la activación constitutiva de la ruta (3, 5). La unión de la feromona al receptor provoca que éste sea activado y a su vez permite la activación de la proteína G, lo que induce la liberación del dímero G $\beta\gamma$  de la *GPA1* (Fig. 1B). Una vez libres G $\beta\gamma$ , son capaces de interactuar con ste5p (proteína adaptadora o de andamiaje) y ste11p (MAPKKK), la interacción con ésta última induce la cascada de activación de las proteínas activadas por mitógenos o MAPK. Ste11p fosforila a Ste7p (MAPKK) y ésta a su vez fosforila a Fus3p o Kss1p (MAPK), como cualquier otra cascada de MAPK. Una de las vías activa-

das por esta cascada, será la de los factores de activación Ste12 la que lleva a la transcripción de genes específicos de apareamiento (Fig. 1B). El complejo formado por G $\beta\gamma$  con Ste5p también induce el reclutamiento y/o activación de la proteína G monomérica Cdc24p que es concomitantemente activada por el Cdc42p (factor intercambiador de nucleótidos-GEF). Una vez activada, Cdc24p podrá interactuar y fosforilar a la cinasa Ste20p que participa en la activación de la cascada de MAPK que en este caso incidirá en la morfología característica del apareamiento (3).

En respuesta a la limitación de nitrógeno, se estimula el receptor de 7 dominios transmembranales Gpr1p, que activa otra proteína G y cuya subunidad G $\alpha$  es denominada Gpa2. Esta proteína estimulará a la AC, como se ha corroborado con las mutantes

de *GPA2* donde su sobre-expresión lleva a un considerable incremento de AMPc intracelular. La respuesta final a esta carencia de nitrógeno es la formación de pseudohifas en células diploides. Gpa2p no participa en el apareamiento ya que mutantes de *GPA2* son viables y sin defecto en el proceso de apareamiento (7).

Estas cascadas de transducción de señales las utilizaremos como base para la descripción de las vías que operan en los hongos patógenos de humanos: *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*; así como en los fitopatógenos *Ustilago maydis* y *Magnophorthe grisea*.

## PAPEL DE LAS PROTEÍNAS G EN OTROS SISTEMAS FÚNGICOS

Los hongos patógenos dependen de señales ambientales que les permitan reconocer a su hospedero vegetal o

animal. En general el curso de las enfermedades micóticas está determinado principalmente por la interacción del agente patógeno con su hospedero y es importante destacar que los factores que predisponen a una enfermedad micótica son aportados tanto por los hongos como por el hospedero. Los hongos han desarrollado mecanismos para producir daño a los tejidos del hospedero o componentes que inhiben las funciones de la fagocitosis entre otros procesos fisiológicos, estos mecanismos son conocidos como factores de virulencia. Entre los factores de virulencia mejor caracterizados se encuentran: la producción de toxinas, proteasas, elastasas, fosfolipasas, adhesinas, melanina y cambios morfológicos (2, 8). La inducción de algunos de estos factores de virulencia es a través de rutas de señalización en las que intervienen las proteínas G. Mutantes de algunas de las subunidades de estas proteínas identificadas en algunos hongos patógenos, muestran disminución en la activación de genes involucrados en la patogenicidad, por lo que su virulencia se ve afectada (2). Algunas de las evidencias de la participación de las proteínas G en la patogénesis de los sistemas fúngicos más estudiados se enlistan en la Tabla 1.

*Candida albicans* es el principal agente etiológico de la candidiasis, este

patógeno es capaz de provocar tanto infecciones superficiales como sistémicas. Esta levadura se encuentra como comensal del hombre y se puede localizar en la piel, las mucosas del tracto respiratorio alto, tracto genitourinario y el tracto digestivo, su cambio a patógeno está determinado por diversos factores ambientales pero implica un cambio morfológico de levadura a hifa. Este hongo es dimórfico y puede crecer como levadura (blastoconidios) o adoptar la forma filamentosa (tanto hifas como pseudohifas) bajo una variedad de condiciones ambientales (Fig. 2A). La capacidad dimórfica reversible que tiene esta levadura es esencial para su virulencia, ya que las estructuras filamentosas que desarrolla le permitirán adherirse de forma eficiente al tejido del hospedero y posteriormente invadir los tejidos (8). La transición levadura-hifa de *C. albicans* puede ser disparada *in vitro* por una variedad de factores, incluyendo carbohidratos, aminoácidos, sales, cambios de pH, temperatura, suero, etc. Estos inductores hifales disparan una amplia variedad de rutas de transducción de señales involucradas en la morfogénesis (Fig. 2A). Las dos rutas mejor estudiadas son la ruta de las MAPK y la vía AMPc-proteína cinasa A (PKA) (Fig. 2B). La GPA2 que codifica para una G $\alpha$  participa en el crecimiento

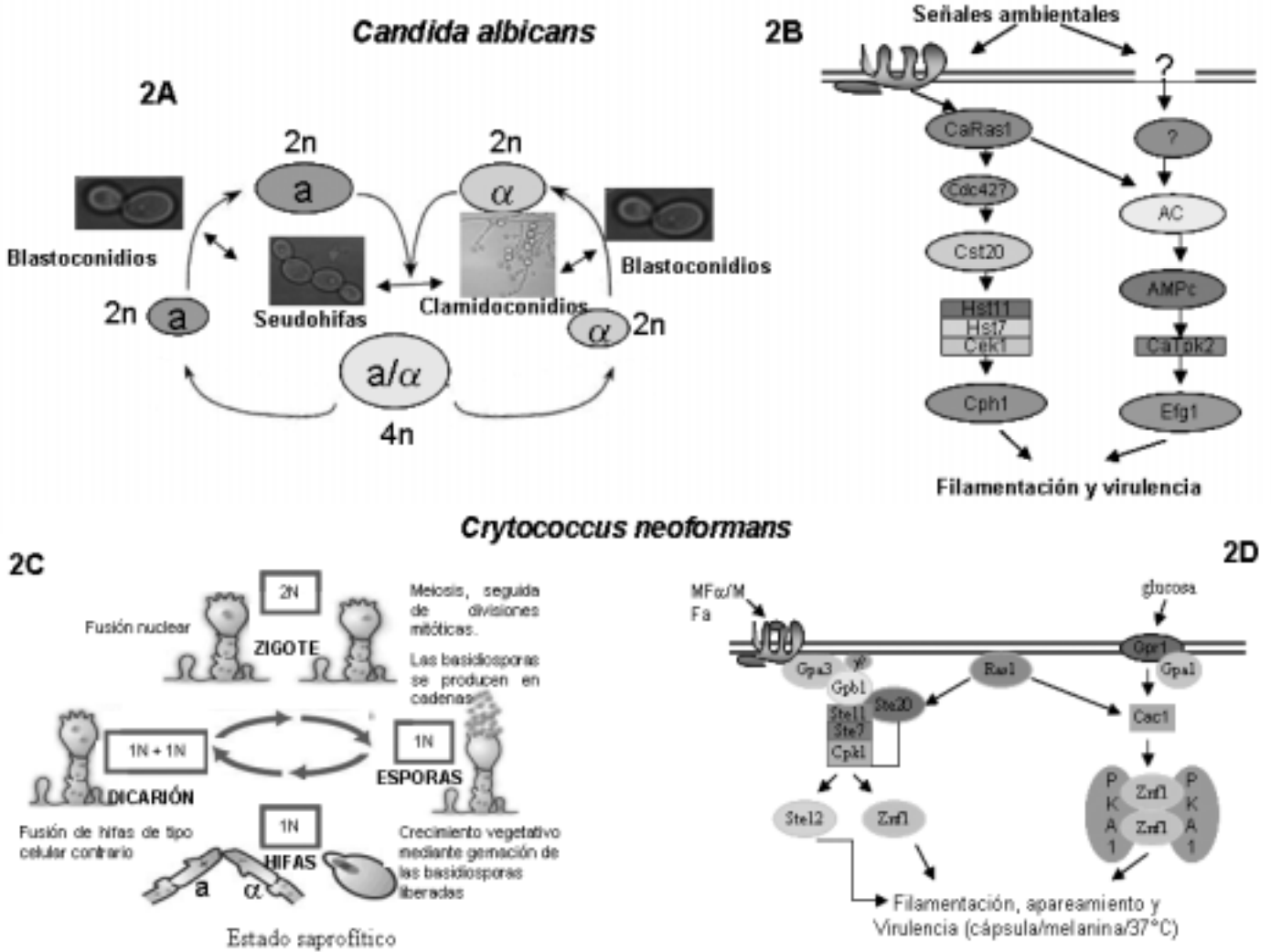
invasivo haploide, su función se ha propuesto cascada arriba en dos sistemas diferentes: la vía AMPc-PKA (7) o la vía de MAPK (9), en cualquier caso su delección afecta el crecimiento invasivo. La cascada que lleva a la estimulación de MAPK en *C. albicans* consiste en la estimulación de Ras1p, quien estimula a la cinasa Cst20p, que disparará la cascada de MAPK. En *C. albicans* ésta consiste de las cinasas Hst11p (MAPKKK), Hst7p (MAPKK) y Cek1p (MAPK) y dará como evento final la activación del factor de transcripción Cph1 que contribuye a la filamentación y virulencia; se tiene como evidencia de la participación de éstas proteínas, que sus mutantes nulas generan organismos con hifas defectuosas y por ende un grado menor de virulencia. Por otro lado, la activación de Ras1p estimula a la AC que producirá el AMPc, con la subsecuente estimulación de la CaTpk2 (PKA). Esta cascada conlleva a la activación del factor de transcripción Efg1, estimulador también de genes de filamentación y virulencia (7, 10).

*Cryptococcus neoformans* es un hongo basidiomiceto con una amplia distribución mundial, su importancia como patógeno oportunista ha tomado relevancia con la aparición del SIDA, la quimioterapia y tratamientos inmunosupresores en pacientes

TABLA 1

Las subunidades G $\alpha$  y su función en diferentes organismos fúngicos

Organismo	Nombre del Gen	Función Biológica
<i>Candida albicans</i>	GPA2	Participa en la inducción de la morfogénesis filamentosa, mediada por Ras1 (7).
<i>Cryptococcus neoformans</i>	GPA1	Participa en el apareamiento y virulencia (12). Participa en la producción de AMPc (13).
<i>Ustilago maydis</i>	GPA3	Ruta de respuesta a feromona. Morfogénesis y patogenicidad (14).
<i>Magnaporthe grisea</i>	MAG A	Participa en la virulencia (15).



**Figura 2.** *Candida albicans* y *Cryptococcus neoformans*. Ciclos de vida ((A y C, respectivamente) y Vías de señalización participantes en las patologías (B y D respectivamente).

transplantados (8). *C. neoformans* es una levadura encapsulada con una predilección por el sistema respiratorio y nervioso. La infección es adquirida por la inhalación de los propagulos infectantes (basidiosporas o levaduras) presentes en el ambiente, para posteriormente albergarse en los espacios alveolares y establecer una infección pulmonar primaria y posteriormente diseminarse al sistema nervioso central (SNC) para producir meningoencefalitis, la forma clínica más frecuente. En la naturaleza se encuentra en su forma vegetativa (Fig. 2C), que es una levadura con un diámetro aproximado de 2.5 μm a 10 μm. En esta levadura se ha descrito un ciclo de re-

producción sexual, el cual lo ubica en el grupo de los basidiomicetos, produciendo como partículas de reproducción las basidiosporas. La reproducción sexual ocurre de forma muy poco frecuente en la naturaleza a comparación de la reproducción asexual o vegetativa, cuyas partículas de reproducción son las levaduras. Las esporas sexuales (basidiosporas) miden aproximadamente entre 1.8 y 3 μm de diámetro y resultan del apareamiento de los tipos celulares a y α. Aunque la naturaleza exacta de las partículas infecciosas de *C. neoformans* no está determinada, todo indica que pueden ser las células levaduriformes deshidratadas o basidiosporas las que

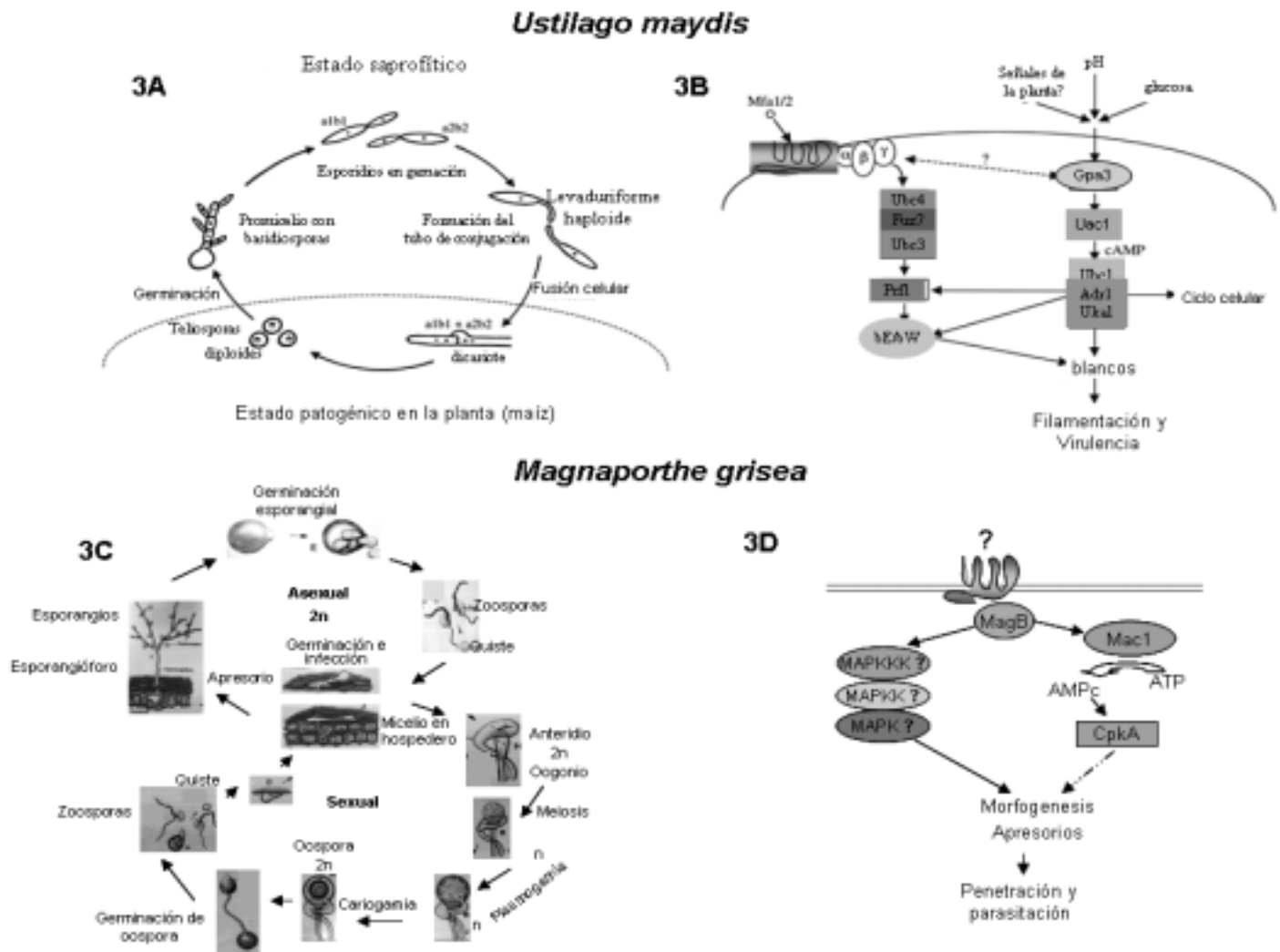
entran a los pulmones. Una vez en el sistema respiratorio, las levaduras podrían rehidratarse y desarrollar la cápsula polisacárida que la caracteriza. En el caso de las basidiosporas, estas podrían convertirse en blastoconidios capsulados en el pulmón (Fig. 2C). La criptococosis es el nombre que recibe la infección por *C. neoformans* que inicia en los pulmones y posteriormente llega a otros órganos mediante el sistema circulatorio, con predilección por el SNC. Es posible que permanezca en el SNC por la presencia de abundantes neurotransmisores que pueden servirle como precursores bifenólicos para sintetizar melanina, la cual es considerada como uno de los factores

de virulencia (8). La virulencia de *C. neoformans* depende de varios factores, incluyendo la producción de una cápsula de polisacáridos, el uso de la melanina como un antioxidante y el crecimiento a temperaturas fisiológicas (37 a 39 °C). El apareamiento y el crecimiento filamentoso, aunque no están de manera directa involucrados en la virulencia, pueden jugar un papel importante en la sobrevivencia y promover la diseminación del patógeno en el hospedero. Los sistemas de transducción de señales (Fig. 2D) que regulan la virulencia y la diferenciación de *C. neoformans* se han estudiado ampliamente e incluyen la vía de las MAPK, la vía de proteínas G que estimulan la producción de AMPc y la ruta específica de Ras. La cascada de MAPK regula el apareamiento, que involucra diferenciación morfológica, tal como la producción del micelio dicariótico, basidios y basidiosporas, producidas en respuesta a feromonas secretadas por células del sexo opuesto. Se han descrito varios elementos de la ruta cAMP-PKA, incluyendo la proteína G $\alpha$  (GPA1) y se ha observado que esta ruta es importante para la morfogénesis y la virulencia, además, se ha identificado un miembro de la familia RAS (proteínas G monoméricas) RAS1 (11, 12, 13). La ruta MAPK está compuesta de Ste3p (receptor de siete dominios transmembranales), Ste20p (PAK) y Ste12p (factor transcripcional), Gpb1 (G ), Ste7 (MAPKK), Cpk1 (MAPK) y Gpa3 (G $\alpha$ ). Aunque básicamente sigue el esquema de las vías descritas para *S. cerevisiae* y *C. albicans*, la interrupción de cualquiera de estos genes muestra que la ruta MAPK es requerida para el apareamiento y la diferenciación celular, pero no para la virulencia. La ruta de señalización dependiente de PKA, controla tanto los factores de virulencia (melanina y producción de cápsula) como los de diferenciación morfológica (apareamiento y

crecimiento filamentoso). De manera semejante a *S. cerevisiae*, la estimulación por nutrientes, en este caso glucosa, provoca la estimulación de Gpr1p (receptor), lo que activa a Gpa1p con la subsecuente estimulación de Cac1p (AC) para producir AMPc, el cual activa a la PKA1 y eventualmente la transcripción de genes como Ste12 y Znf1, involucrados en la filamentación, producción de cápsula y síntesis de melanina, todos ellos factores de virulencia (13). La interrupción de los genes GPA1 o CAC confieren defectos en la producción de melanina y cápsula, ya que las cepas  $\Delta$ gpa1 y  $\Delta$ cac1 muestran un fenotipo de atenuación en la virulencia o son avirulentas en conejo y en modelos murinos de meningitis criptococal (11).

*Ustilago maydis*, hemibasidio-miceto fitopatógeno, es el agente causal de la enfermedad del maíz, popularmente denominado Huitlacoche; su ciclo de vida (Fig. 3A) está caracterizado por un cambio dimórfico entre un estado similar al levaduriforme haploide y un dicarion filamentoso. Las basidiosporas son resultado de la reproducción asexual de *U. maydis*, estas estructuras son ligeramente alargadas y se dividen por gemación, creciendo como saprófitos en detritus vegetales y estiércol. Las hifas dicarióticas se forman por la fusión de dos basidiosporas de diferente tipo celular (sexual) a y b. En respuesta a los factores de apareamiento las células forman unas estructuras filamentosas denominadas tubos de conjugación. La fusión de las células ocurre en el ápice de los tubos de conjugación y finalmente se desarrollan los filamentos dicarióticos. Las hifas resultantes son patógenas en maíz, ya que infectan el tejido meristemático de estas plantas; la proliferación de hifas en los tejidos vegetales induce crecimiento neoplásico y formación de agallas. Dentro de estas estructuras similares a tumores ocurre la cariogamia, dando lugar a las

teliosporas diploides uninucleadas; cuando estos tumores se rompen, millones de esporas negras son liberadas y pueden ser dispersadas por el viento y la lluvia. Si se encuentran en condiciones ambientales adecuadas, ocurre la meiosis y las teliosporas germinan para formar el promicelio que consiste de cuatro células haploides, incluyendo la teliospora original. Finalmente las basidiosporas germinan para reiniciar el ciclo de vida (10). *U. maydis* codifica para dos tipos de feromonas, la unión de la feromona a su receptor induce una ruta de transducción de señales similar a la ruta de respuesta a feromonas muy bien caracterizada en *S. cerevisiae* y previamente detallada. Aunque la vía de MAPK estimulada por feromonas no parece influir directamente en la virulencia, el lenguaje cruzado de ésta vía con la de AMPc sugiere que algunos de sus componentes sí podrían participar (Fig. 3B). La reproducción sexual de *U. maydis* es regulada por los tipos celulares a y b, ambos tipos celulares contienen dos genes estrechamente relacionados (MFA y PRA) que codifican para la feromona y para el receptor acoplado a proteínas G respectivamente (14). En *U. maydis*, se han identificado cuatro subunidades G $\alpha$  de la proteína G heterotrimérica (Gpa1p a Gpa4p). Cada uno de estos genes fue interrumpido y solo la mutante  $\Delta$ gpa3 muestra defectos en el apareamiento. También se observó que gpa3p tiene un papel importante en la formación de filamentos y por lo tanto en la patogenicidad. La interrupción del gen *gpa3* produjo deficiencia en la inducción de genes específicos en respuesta a feromonas como es el caso de MFA, mientras que una mutante constitutivamente activa de *gpa3* induce la expresión de MFA 50 veces más. Estos experimentos indicaban que GPA3 juega un importante papel en la respuesta a feromonas y en el desarrollo sexual de *U. maydis*



**Figura 3.** *Ustilago maydis* y *Magnaporthe grisea*. Ciclos de vida (A y C, respectivamente) y Vías de señalización participantes en las patologías (B y D respectivamente).

y se proponía que este gen podría estar codificando para la subunidad  $G\alpha$  de la proteína G heterotrimérica. Sin embargo la forma constitutivamente activa de Gpa3 no produjo el apareamiento del hongo en ausencia de feromona y las mutantes de *gpa3* produjeron células elongadas, similares a las mutantes del gen *uac1* que codifica para la AC. El crecimiento de las basidiosporas se restaura en mutantes *gpa3* por AMPc, lo que sugiere que *gpa3p* funciona río arriba de la AC. Varios componentes del módulo de las MAPK se han identificado en *U. maydis*. Ubc4p (MAPKKK), Fuz7p (MAPKK), Ubc3 (MAPK) y de sus

blancos como, Prf1 bE/bW (factores de transcripción). Por otro lado se ha observado que la estimulación de Gpa3p activa a la Uac1p (AC), cuyo producto induce la activación de Uka1p/Adr1p (PKA) que eventualmente llevan a la transcripción de genes que participan en la reproducción, filamentación y virulencia de *U. maydis* (10, 14).

*Magnaporthe grisea* causa la roya del arroz, es un ascomiceto heterotálico y tiene dos tipos celulares *MATI-1* y *MATI-2* y produce núcleos que funcionan como gametos masculino o femenino (Fig. 3C). El ciclo sexual involucra la fusión de un gameto mas-

culino y un gameto femenino. En condiciones ambientales favorables se inicia la reproducción sexual con la fusión de cepas de tipo celular opuesto y concluye con la producción de peritecios maduros y la producción de ascas conteniendo 8 ascosporas. La infección se inicia con la germinación de esporas asexuales en la superficie de las hojas y la formación de apresorios, estructuras que generan una enorme presión turgente lo que le permite al hongo penetrar la cutícula vegetal (2, 10).

Los apresorios son estructuras fúngicas que son utilizadas por varios miembros de este reino para penetrar

la superficie de su hospedero. El desarrollo de esta estructura involucra un proceso morfogénico muy complejo y parecen estar participando múltiples señales externas, tanto físicas como químicas. Se ha demostrado que la ruta de transducción dependiente de AMPc está involucrada en la formación de apresorios; el AMPc exógeno induce la germinación de los blastoconidios y del micelio vegetativo para producir apresorios en *M. grisea* (Fig. 3D). Con este hallazgo se realizaron más estudios y se logró identificar y caracterizar los componentes de la vía de señalización. Se identificó el gen que codifica para la subunidad catalítica de la proteína cinasa dependiente de AMPc (CPKA), las mutantes de este gen generan apresorios defectuosos sobre tejido epidérmico de cebolla y no causan lesiones en cultivos de arroz susceptibles de infección, además el defecto en la formación de apresorios no fue rescatado por la adición de AMPc exógeno. En ensayos de patogenicidad, todas las mutantes *cpkA* produjeron síntomas de la enfermedad en plantas con laceraciones, sin embargo en plantas sanas no lo hicieron, lo que confirma que el AMPc tiene un papel importante en la formación de apresorios, pero su participación es indispensable para la penetración (2, 10). Otra de las proteínas identificadas es *mac1* (AC), mutantes *mac1* muestran fenotipos pleiotrópicos y son avirulentas en plantas susceptibles. Mutantes *mac1* muestran una disminución significativa en el crecimiento

vegetativo y en la conidiación, también mostraron un fenotipo de esterilidad ya que son incapaces de producir peritecios. Por otro lado en *M. grisea* se han descrito tres genes que codifican para la subunidad G $\alpha$  de la proteína G heterotrimérica *MAGA*, *MAGB* y *MAGC*. La caracterización de las mutantes revelaron que *MAGA* interviene en la producción de las ascas maduras, de hecho, *MAGA* tiene poca similitud con *GPA1* y *GPA2* de *S. cerevisiae* y *C. neoformans*. *MAGC* parece estar involucrada en la formación de propágulos sexuales y asexuales. Mutantes de *MAGB* presentaron reducción significativa del crecimiento vegetativo, conidiación y formación de apresorios. No obstante, la formación de apresorios se induce en mutantes  $\Delta magB$  por la adición de AMPc, lo que indica que diferentes rutas de señalización, algunas independientes de proteínas G, regulan la formación de apresorios. En vista de estos hallazgos es necesario realizar más estudios sobre los componentes de la vía de respuesta a feromonas en este organismo (15).

### CONCLUSIONES

A la fecha se ha logrado un avance significativo en el estudio de las proteínas G heterotriméricas fúngicas, sin embargo aún se desconocen muchos de los elementos que participan en su regulación; los diversos estudios en diferentes hongos, incluyendo ascomicetos y basidiomicetos, han mostrado que estos organismos tienen rutas de

transducción de señales muy conservadas y que participan en la regulación del desarrollo y virulencia fúngica. Una es la cascada de las MAPK que es activada en respuesta a feromonas y la segunda es la vía que censa nutrientes AMPc-PKA. Se ha demostrado, además, que ambas vías funcionan de manera coordinada para regular procesos de apareamiento, filamentación y virulencia.

Aun resta identificar el papel que tienen algunas de las proteínas que participan en estas cascadas de transducción de señales, así como la función específica de cada subunidad G $\alpha$  de la proteína G heterotrimérica, ya que parecen estar involucradas en diferentes sistemas de transducción de señales.

El avance en el estudio de los sistemas de transducción de señales que conducen a la transcripción de genes involucrados en la patogénesis de algunos hongos de importancia médica o comercial ha contribuido a la comprensión de los factores de virulencia de dichos organismos y a la búsqueda de nuevas alternativas en el uso de fármacos que sean capaces de inhibir el crecimiento de los patógenos sin causar daños en los hospederos.

**Nota.** Este trabajo se realizó de manera parcial durante el curso de transducción de señales, que coordina la Dra. Ma. Eugenia Torres Márquez en el posgrado en Ciencias Biomédicas, UNAM.

### REFERENCIAS

1. Wettschureck N, Offermanns S (2005) Mammalian G proteins and their cell type specific functions. *Physiol Rev* 85:1159-1204.
2. Madhani HD, Fink GR (1998) The control of filamentous differentiation and virulence in fungi. *Trends Cell Biol* 8:348-353.
3. Dohlman HG (2002) G proteins and pheromone signalling. *Annu Rev Physiol* 64:129-152.
4. Rangel Serrano A (1998) Función y propiedades bioquímicas de las proteínas G. *BEB* 18: 53-59.



5. Dietzel C, Kurjan J (1987) The yeast SCG1 gene: a G alpha-like protein implicated in the a- and alpha-factor response pathway. *Cell* 50:1001-1010.
6. Kübler E, Mosch HU, Rupp S, Lisanti MP (1997) Gpa2p a G-protein alpha-subunit, regulates growth and pseudohyphal development in *Saccharomyces cerevisiae* via a cAMP-dependent mechanism. *J Biol Chem* 272: 20321-20323.
7. Maidan MM, De Rop L, Serneels J, Exler S, Rupp S, Tourna H, Thevelein JM, Van Dijck P (2005) The G protein-coupled receptor Gpr1 and the G $\alpha$  protein Gpa2 act through the cAMP-Protein Kinase A pathway to induce morphogenesis in *Candida albicans*. *Mol Biol Cell* 16: 1971-1986.
8. López-Martínez R, Méndez-Tovar LJ, Hernández-Hernández F, Castañón-Olivares R (2004) *Micología Médica. Procedimientos para el diagnóstico de laboratorio*. Editorial Trillas, Mexico, D.F. pp.192.
9. Sánchez-Martínez C, Pérez-Martin J (2002) Gpa2, a G-protein a subunit required for hyphal development in *Candida albicans*. *Eukaryotic Cell* 1, 865-874.
10. Lengeler KB, Davidson RC, D'Souza C, Harashima T, Shen WC, Wang P, Pan X, Waugh M, Heitman J (2000) Signal Transduction Cascades Regulating Fungal Development and Virulence. *Microbiol Mol Biol Rev.* 64:746-785.
11. Noverr MC, Williamson PR, Fajardo RS, Huffnagle GB (2004) CNLAC1 is required for extrapulmonary dissemination of *Cryptococcus neoformans* but not pulmonary persistence. *Infect Immun* 72:1693-1699.
12. Alspaugh JA, Perfect JR, Heitman J (1997) *Cryptococcus neoformans* mating and virulence are regulated by the G-protein alpha subunit GPA1 and cAMP. *Genes Dev.* 1:3206-3217.
13. Bahn YS, Hicks JK, Giles SS, Cox GM, Heitman J (2004) Adenylyl cyclase-associated protein Aca1 regulates virulence and differentiation of *Cryptococcus neoformans* via the cyclic AMP-protein kinase A cascade. *Eucaryot Cell* 3:1476-1491.
14. Regenfelder E, Spelling T, Hartmann A, Lauenstein S, Bölker M, Kahmann R (1997) G proteins in *Ustilago maydis*: transmission of multiple signals? *EMBO J* 16:1934-1942.
15. Liu S, Dean RA (1997) G protein alpha subunit genes control growth, development and pathogenicity of *Magnaporthe grisea*. *Mol Plant Microbe Interact* 10:1075-1086.

# LAS METALOTIONEINAS Y EL ESTRÉS QUIRURGICO\*

Elvia Harumi Scott López

## RESUMEN

Las metalotioneínas (MTs) son proteínas intracelulares de baja masa molecular (6 a 7 kDa) capaces de unir tanto metales esenciales como no esenciales. Contienen un alto contenido de grupos sulfhidrilo provenientes del aminoácido cisteína que constituyen el 33% de la molécula. Estudios *in vitro* han mostrado que estas proteínas son sintetizadas en respuesta a una gran variedad de estímulos fisiológicos y químicos, como son: hormonas, citocinas, especies reactivas de oxígeno, metales y de manera importante por estrés. Recientemente se han relacionado con procesos de estrés inflamatorio, especialmente durante una respuesta de fase aguda, aunque su función en estos procesos aún esta por definir.

**PALABRAS CLAVE:** Metalotioneínas (MTs), metales, homeostasis e inflamación.

## ABSTRACT

Metallothioneins (MTs) are a family of low-molecular-weight proteins (6-7 kDa). These proteins can bind essential or no essential metals. The MT are characterized by high contents of sulfhidric groups of cysteine residues that constitute the 33% of the total molecule. In vitro studies show how these proteins are synthesized after a wide variety of chemical and physiological factors like cytokines, hormones, oxygen reactive species, metals and most importantly: stress. Recent studies suggest that Mts are involved in inflammatory response, specially during acute-phase response, even though its specific function in this process has not yet been described.

**KEY WORDS:** Metallothioneins (MTs), metals, homeostasis, inflammatory response.

## ¿QUÉ SON LAS METALOTIONEÍNAS?

Las metalotioneínas (MTs) están presentes en todos los organismos vivos; constituyen una superfamilia de proteínas intracelulares capaces de unir metales de transición y metales pesados. Las MTs fueron descubiertas por Margoshes y Valle en el año 1957, cuando las aislaron de la corteza renal de los equinos e identificaron como proteínas capaces de unir cadmio (Cd) (1). Son proteínas de bajo peso molecular, menores a 7 000 Da compuestas por 61 a 68 aminoácidos. Un rasgo destacable en la secuencia de aminoácidos de las MTs es la gran proporción de cisteínas (Cys) altamente conservadas, aproximadamente de 18 a 23; agrupadas en secuencias Cys-

X-Cys, Cys-Cys y Cys-X-Y-Cys, donde X y Y son aminoácidos diferentes de la cisteína. En 1993 Kägi encontró que también es considerable la conservación, aunque en menor medida, de las argininas (Arg) y lisinas (Lys) (Fig. 1) (2).

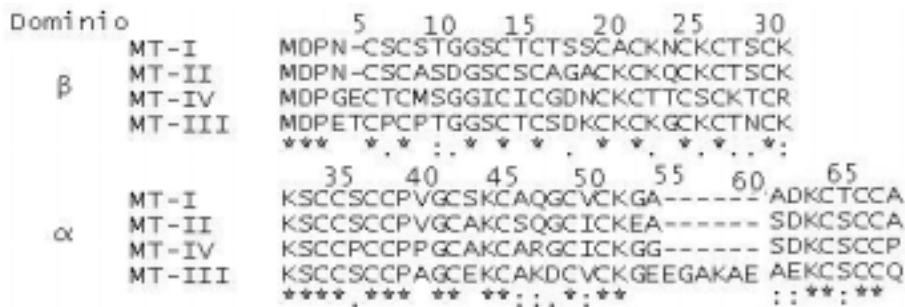
Se han descrito cuatro isoformas de las MTs (numeradas del I al IV). La MT-I y la MT-II se expresan en casi todos los tejidos del organismo siendo particularmente importante su presencia en órganos parenquimatosos como el hígado, riñón, intestino, testículos, pulmón, corazón y cerebro. Aunque las MT-I y MT-II se encuentran en prácticamente todos los tejidos no se expresan en todas las células del tejido. Así por ejemplo, en el hígado se expresan en los hepatocitos

pero no en las células de Kupffer (3). La MT-III predominantemente se expresa en cerebro, principalmente en neuronas glutamatérgicas, también en menor cantidad en páncreas e intestino, tracto reproductor masculino y femenino, estómago, corazón y riñón. La expresión de MT-IV se encuentra en el epitelio escamoso estratificado y la lengua. La expresión de las diferentes isoformas de MT esta asociada al tipo celular y a un extenso rango de eventos fisiológicos y patológicos (4).

Las MTs están formadas por dos dominios globulares similares, denominados  $\alpha$  y  $\beta$  en el extremo C-terminal y N-terminal, respectivamente. Cada dominio se encuentra unido entre sí por un *loop* o asa flexible (3).

\*Recibido: 28 de marzo de 2007 Aceptado: 8 de mayo de 2007

Posgrado en Ciencias Químicas, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Av. 14 Sur esq. Av. San Claudio s/n. Ciudad Universitaria. C.P. 72570, Puebla, Puebla, México. Correo E: atimurah@yahoo.es



**Figura 1.** Alineamiento de secuencias aminoacídicas de las cuatro isoformas de metalotioneínas de ratón (*Mus musculus*), obtenido de Blast y ClustalW (5 y 6).

## UNIÓN DE METALES A METALOTIONEÍNAS

El espectro de metales que pueden unirse a las MTs es bastante amplio. En condiciones fisiológicas las MTs suelen coordinar zinc (Zn) y/o cobre (Cu). No obstante si existen otros metales en el medio, como cadmio (Cd) o mercurio (Hg), estos pueden desplazar a los anteriores. Las MTs muestran diferentes afinidades dependiendo del metal, el Cu y el Hg figuran entre los metales con mayor afinidad por las MTs, mientras que el Zn es el menos afín. De manera resumida:  $Zn^{2+} < Plomo (Pb^{2+}) < Cd^{2+} < Cu^{1+} < Plata (Ag^{1+}) < Hg^{2+} < Bismuto (Bi^{2+})$  (7). La unión a los metales es reversible de manera que bajo determinadas condiciones, como un descenso del pH o variaciones en el estado redox, se pueden desplazar los átomos metálicos de la molécula de MT obteniendo así la apoproteína tioneína. Normalmente las MT-I y MT-II aisladas de tejidos biológicos contienen 7 átomos de Zn por molécula, aunque también pueden poseer ciertas cantidades de Cu (3).

Las MTs presentan dos "clusters" o agrupamientos diferenciados en los cuales cada átomo metálico divalente está coordinado con cuatro cisteínas. El agrupamiento más cercano al extremo N-terminal es capaz de coordinar tres metales mientras que el más cercano al C-terminal une cuatro metales.

Las moléculas de MT-I y MT-II poseen cierta plasticidad estérica debido a la presencia del asa que une los dos dominios. Esta capacidad se consigue gracias a que no poseen un alto grado de estructuración debido a la carencia de estructuras secundarias rígidas. (8) Adicionalmente a la variabilidad estérica, las MT-I y -II son moléculas dinámicas puesto que pueden intercambiar su contenido metálico con el medio, con otros ligandos o con otras MTs (8).

## LOCALIZACIÓN DE LAS METALOTIONEÍNAS

En cuanto a la localización subcelular las MT-I y -II son proteínas esencialmente citoplasmáticas aunque también se ha detectado su presencia en fracciones mitocondriales y núcleos celulares (9).

## FUNCIONES DE LAS METALOTIONEÍNAS

Las MTs están presentes en toda la escala evolutiva, se distribuyen prácticamente en todas las células del organismo y su expresión está activamente regulada por varios sistemas de control durante el desarrollo y la vida adulta. Estas características sugieren que las MTs pueden jugar un papel funcional importante, no solo para la célula u órgano sino en el organismo en cuestión, puesto que es extraordinario el grado de conservación de su estructura molecular; debió perdurar a pesar

de la adaptación química y metabólica propias de la presión evolutiva.

Sin embargo, a pesar de los numerosos esfuerzos realizados, las funciones que desempeñan las MTs no han sido dilucidadas en los 50 años transcurridos desde su descubrimiento. Se han propuesto numerosas funciones en las que podrían participar, sin embargo ninguna de ellas es plenamente satisfactoria. En 1985 Karin señaló que la función de estas proteínas estaba relacionada con la desintoxicación de metales pesados y xenobióticos, la regulación homeostática de metales esenciales y funciones antioxidantes celulares (10).

La relación existente entre los metales pesados y las MTs es evidente, los metales controlan la expresión de estas proteínas y forman parte de su estructura. Por lo tanto, muchas de las funciones propuestas para las MTs giran en torno a su interacción con el Zn, Cu y otros metales que contaminan el ambiente. Las MTs podrían contribuir a mantener la concentración del Cu y el Zn dentro de un intervalo fisiológico. Se ha propuesto que juegan un papel en la absorción, el transporte y la excreción de metales esenciales (11).

De igual manera, también se ha propuesto que las MTs funcionan como proteínas desintoxicantes o protectoras frente al exceso de metales pesados en el ambiente, como podrían ser Zn, Cu, Cd, Hg, Pb, etc. Entre ellos figuran metales no fisiológicos, altamente tóxicos, como el Cd, el Pb y el Hg. A nivel bioquímico el Cd puede afectar a múltiples procesos celulares. Por ejemplo, inhibe la polimerización de la actina e inhibe la actividad de múltiples enzimas, entre ellas la carboxipeptidasa. *In vitro* la adición de Zn-MT revierte los efectos tóxicos del Cd sobre la actina y la carboxipeptidasa (12).

Otra de las funciones propuestas considera que las MTs son una reser-

va de Zn o Cu, constituyendo un "pool" dinámico de Zn que proporciona a diferentes constituyentes celulares bajo determinadas situaciones de estrés (2).

*In vitro* se ha observado que las MTs pueden intercambiar metales con varias apoproteínas. En algunos casos la liberación de Zn ocurre a mayor velocidad que la degradación de las MTs sugiriendo que este fenómeno se encuentra regulado. Entre las proteínas que pueden intercambiar metales con las MTs se encuentran enzimas y factores de transcripción. Las formas apo de las proteínas superóxido dismutasa y fosfatasa alcalina son capaces de sustraer metales de las MT-I y MT-II lo que ocasiona su activación (3). Por otro lado las metalotioneínas podrían secuestrar metales de otras proteínas como los factores de transcripción Sp1 y TFIIIA inhibiendo su unión al DNA (3).

*In vivo* existen datos experimentales que indican que las MT-I y II podrían competir por el Zn con otras proteínas como el receptor de los glucocorticoides afectando así su actividad (3). Por todos estos datos se ha propuesto que las MTs podrían formar un par regulador con la tioneína (T) de manera similar al glutatión con el glutatión reducido (3). Mediante la transferencia de metales el par MT/T podría intervenir en una multitud de procesos enzimáticos, transcripcionales o de apoptosis celular (3). Este mecanismo de activación/desactivación debería estar regulado en la célula. *In vitro* se ha desarrollado un modelo que sugiere que la cesión de los metales podría estar acoplada al estado redox de la célula y por tanto a vías de transducción de señales (3).

De esta manera durante situaciones de estrés en las cuales se altera el equilibrio oxidativo y la disponibilidad de Zn puede ser un factor limitante, las MTs podrían jugar un papel importante en la regulación de

determinados procesos celulares.

Por otra parte, los animales "knock out" para las MT-I y II (MTKO) no presentan ninguna alteración en la síntesis de otras metaloproteínas y son perfectamente viables bajo condiciones estándares de laboratorio. Esto sugiere que las MT-I y II no serían necesarias para la actividad de ninguna enzima esencial. No obstante en situaciones de deficiencia de Zn se ha observado que los animales MTKO presentan un menor número de gestaciones que los animales controles y las pocas crías que se obtienen mueren a los pocos días. Estos resultados indican que las MTs cumplen un papel importante en situaciones en las que el Zn es limitante (3).

### REGULACIÓN DEL GEN DE LAS METALOTIONEÍNAS

No debemos confundir la ubicuidad de la MT-I y MT-II con uniformidad puesto que su nivel de expresión e incluso localización intracelular varía según el tejido y estado de desarrollo pre- y postnatal así como durante alteraciones de la homeostasis. Además, son proteínas altamente inducibles por gran variedad de condiciones fisiológicas y experimentales. No todos los tejidos responden igual ante un mismo estímulo, siendo quizá el hígado el órgano con mayor capacidad de respuesta desde el punto de vista de las MTs; por lo tanto, generalmente se ha usado este órgano en el estudio de la regulación de las MTs. (3).

### INDUCTORES DE LA SÍNTESIS DE METALOTIONEÍNAS

Las MTs son capaces de sintetizarse ante una gran variedad de estímulos o inductores. Muchos de ellos son capaces de actuar tanto *in vivo* como *in vitro*. Teóricamente los inductores pueden actuar sobre varios niveles de regulación, siendo quizá el principal la tasa de transcripción, sin embargo en el gen de las MTs pueden confluir diferentes vías de transmisión de se-

ñales. A pesar de ser genes con diferentes elementos de respuesta y multirregulados, parece obvio que no puede haber un mecanismo individual para cada uno de los inductores (3).

La lista de inductores es extensa y de diversa naturaleza. Entre ellos encontramos los metales pesados, hormonas, factores de crecimiento, agentes inflamatorios, vitaminas, antibióticos, agentes citotóxicos y condiciones de estrés (Tabla 1). Además, existe una serie de situaciones que modulan la expresión de las MTs, como son el desarrollo, la regeneración tisular y la edad. También se ha descrito que la concentración de MTs aumenta durante procesos patológicos como el cáncer, enfermedades degenerativas o lesiones tisulares (3).

Entre otros agentes inductores encontramos agentes alquilantes, disolventes orgánicos, drogas anticancerígenas y herbicidas. Dada la diversidad y naturaleza xenobiótica de la mayoría de estos compuestos es difícil pensar que puedan existir mecanismos de respuesta específicos. Es muy probable que muchos de ellos induzcan la síntesis de MTs de una manera inespecífica a través de la producción de una respuesta secundaria en el organismo, como una respuesta al estrés, una inflamación o sobreproducción de radicales libres (3).

### METALOTIONEÍNAS Y ESTRÉS

El estrés es un concepto amplio, pero desde un punto de vista genérico se puede decir que este término denota la respuesta del organismo, desarrollada durante la evolución, a cualquier perturbación de la homeostasis. Se trata de una respuesta general, poco específica, que puede ser desencadenada por muchos estímulos diferentes. No obstante las características concretas dependen de diferentes factores como la naturaleza, intensidad y duración del estímulo. Los estímulos

TABLA 1

Agentes inductores de MT-I y MT-II <i>in vitro</i> y/o <i>in vivo</i>	
<b>Metales</b> Cd, Zn, Cu, Hg, Au Ag, Co, Ni, Bi	<b>Antibióticos</b> Estreotocina Cicloheximida Acetaminofeno
<b>Hormonas y factores de crecimiento</b> Glucocorticoides Progesterona Estrógenos Catecolaminas Glucagón Insulina Angiotensina II IGF-1 EGF	<b>Agentes citotóxicos</b> Hidrocarburos Etanol Isopropanol Cloroformo Tetracloruro de carbono EDTA
<b>Agentes inflamatorios y citoquinas</b> LPS Dexametazona Turpentina IL-1 IL-6 IFN- $\alpha$ y $-\gamma$ TNF- $\alpha$	<b>Condiciones estresantes</b> Privación de movimiento Inflamación Irradiación Inmovilización

Adaptado de la referencia 2.

estresantes incluyen cambios en el medio interno (lesión tisular, infección, alteraciones del estado de oxidación), cambios en el medio externo (frío, calor, etc.) o alteraciones psicológicas (miedo, ansiedad, etc.) (3).

Se ha observado que estos tres tipos de estímulos estresantes son capaces de inducir MT-I y MT-II, sugiriendo que estas proteínas forman parte de la respuesta al estrés. Estudios en cultivo de células humanas y de roedores han mostrado que estos estímulos estresantes no son inductores de las MTs *per se* sino que necesitan una respuesta orgánica para producir su efecto sobre estas proteínas (3).

### METALOTIONEÍNAS E INFLAMACIÓN

Se ha analizado la síntesis de MTs en el hígado durante el proceso de inflamación aguda en ausencia de infección; un agente experimental empleado con frecuencia es el lipopolisacárido

bacteriano (LPS), también denominada endotoxina. Es una molécula derivada de la pared bacteriana de los microorganismos gram negativos, es un potente antígeno T independiente, es decir capaz de activar los linfocitos B de manera independiente de las células T. Su administración produce un incremento de la síntesis de citoquinas proinflamatorias en diversos órganos, proceso parecido al que se produce tras inflamación, infección o traumatismo. (3).

Se podría definir a la respuesta de fase aguda como la reacción del organismo frente a una variación de la homeostasis debida a infección, daño tisular, crecimiento neoplásico, desórdenes inmunológicos o estrés; su objetivo es restaurar la homeostasis. Por lo tanto, comienza por la producción de citoquinas proinflamatorias, IL-1, IL-6 y TNF- $\alpha$  por parte de los macrófagos residentes en el lugar de inicio de la reacción.

Estas citoquinas actúan sobre el endotelio incrementando la permeabilidad y la presencia de proteínas de adhesión. A su vez pueden activar a otras células convirtiéndolas en productoras de citoquinas y de factores quimiotácticos. Como consecuencia, se produce infiltración del tejido por células inmunes activadas que sintetizan una segunda onda de citoquinas que pueden alcanzar la circulación. Estos mediadores contribuyen a incrementar la respuesta local y pueden conducir a la generalización sistémica de la reacción.

La fase se caracteriza por un incremento de la temperatura corporal, leucocitosis, activación del eje hipotalámico-pituitario-adrenal (HPA), descenso de la concentración de suero y variaciones en la concentración de determinadas proteínas sintetizadas en el hígado como es el caso de los aumentos en las concentraciones de MT-I y MT-II, por todo esto se les ha considerado como proteínas de fase aguda (3).

### MODELOS DE ESTUDIO DE METALOTIONEÍNAS E INFLAMACIÓN

Se ha estudiado otro modelo de inflamación en ausencia de infección: la cirugía. Ésta consiste en realizar una incisión abdominal observar los órganos sin extirpación de alguno y se sutura pasando aproximadamente un minuto después de la incisión. En este modelo se ha observado en las primeras 24 h la inducción en la síntesis de MTs hepáticas inducida posiblemente por la liberación de mediadores inflamatorios, como hormonas y citoquinas. Mostrando un incremento significativo durante las primeras 12 horas posteriores a la cirugía (13).

Hernández y col. en el 2000 mostraron en ratón que después de un estrés por inmovilización se incrementaban los niveles de mRNA MT-I y MT-I y MT-II. También se observó una dis-

minución de esta respuesta al administrar RU-486 que es un bloqueador del receptor de glucocorticoides; además al realizar una extirpación quirúrgica de las glándulas adrenales (adrenalectomía; ADX) tiende a disminuir los niveles de MT I y II bajo el mismo estímulo estresante (14).

Las hormonas glucocorticoides (GC's) inducen la síntesis de MT (4). Los receptores de hormonas glucocorticoides (GRs) se encuentran normalmente en el citoplasma de las células y están unidos a proteínas de choque térmico (Hsps) las cuales mantienen a los GRs en una conformación inactiva.

Las hormonas glucocorticoides entran a la célula y se unen al monómero GR inactivo induciendo la disociación de las Hsps y la activación de GR. Los monómeros GR activados ahora se combinan para formar homodímeros de GR, los cuales se traslocan al núcleo unidos a elementos de respuesta a glucocorticoides (GREs) en la región reguladora del gen MT y activan la transcripción de los genes de MT-I y MT-II (15). Los GREs son elementos "enhancer" o mejoradores del GC dependiente presentes como una copia simple dentro de los primeros cientos de pares de bases (pb) río arriba del lugar de inicio de la transcripción en el gen humano MT-II y como dos copias en el gen de ratón MT-II y MT-I. Las copias tándem están separada por aproximadamente 150 pb y son 1kb río arriba del sitio de inicio de transcripción del gen de ratón MT-II, y 7kb río arriba del gen de ratón MT-I (4).

Cada GRE media independientemente o sea, solo y sin un segundo GRE la respuesta transcripcional a los glucocorticoides endógenos como por ejemplo la hidrocortisona y a la dexametasona que es un glucocorticoide agonista sintético, por medio de interacción del GC con un GR citoplásmico (15). El tratamiento de

células con RU-486 (Mifepristone), un antagonista del receptor GC, suprime la expresión de MT que inducen las GCs. En ratones la inducción de MT-I y -II mediante los GCs es aproximadamente igual que en humanos, la MT-II es más fuertemente inducida que la MT-I (15).

A pesar de la presencia de un GRE capaz de unir al GR en la región reguladora de los genes de mamíferos MT-I, los genes MT-I no responden a los GCs cuando se prueban en expresiones recombinantes en sistemas de vectores. Por lo tanto, los GRE localizados río arriba del gen de humanos y roedores de MT-II río arriba de MT-I, median la respuesta de MT-I y MT-II por los GCs (4, 15).

En respuesta a la inflamación o infección se activan las células T y macrófagos, los cuales liberan interleucina-1 (IL-1), interleucina-6 (IL-6) y factor de necrosis tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ). El estrés incrementa las citocinas las cuales estimulan el eje hipotálamo-pituitaria-adrenal y se unen al complejo citoplásmico receptor de glucocorticoides (GRF) a activa a los elementos de GREs en el gen-MT (15).

Cuando los glucocorticoides inducen la síntesis de MT inicia el secuestro de Zn desde el plasma y originan una poza intracelular de Zn, el cual activará los elementos de respuesta a metales (MREs) mediante el factor de transcripción de metales-1 (MTF-1), produciendo una regulación positiva. La inducción de IL-6 posiblemente sea por la IL-1 y el TNF- $\alpha$  en una variedad de tejidos y por las catecolaminas (15). La IL-6 regula la expresión de MT y varias proteínas de respuesta de fase aguda por medio de inducir la fosforilación de tirosina de los transductores de señal y activadores de la transcripción (STAT) de proteínas, que interactúa con los sitios de la región promotora del gen-MT (15). La síntesis de STAT3 es estimulada como respuesta a IL-6, oncostatina M, factor inhibidor de leucemia, la IL-11, el factor de crecimiento epidermal (EGF), y factor de estimulación de colonia de granulocitos (G-CSF) (15).

Los glucocorticoides juegan un papel muy importante en la inducción de la MT-hepática mediada por IL-6 y la sinergia entre los dos glucocorticoides

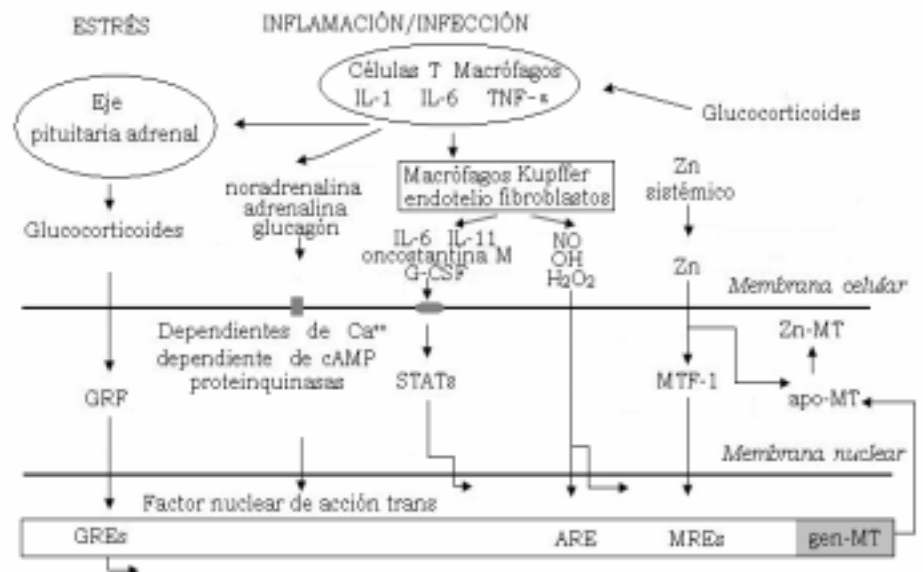


Figura 2. Esquema de la regulación del gen-MT hepática en respuesta a la inflamación e infección Adaptado de la referencia 15.

e IL-6, parece requerir la interacción física de los elementos de respuesta de cada uno. Las citocinas también causan expresiones variables de isoformas de MT en diferentes tejidos, la IL-6 y TNF- $\alpha$  inducen más MT-II que MT-I en el hígado mientras que el TNF- $\alpha$  es un inductor más fuerte que la IL-6 de la MT-I en pulmón y corazón (15). Las catecolaminas y el glucagón inducidos por mediadores inflamatorios se unen a los receptores de membrana y vía segundos mensajeros activan los factores nucleares de transcripción que interactúan con elementos de control todavía no

identificados. Especies reactivas de oxígeno formadas durante la respuesta inflamatoria pueden interactuar con los elementos de respuesta antioxidantes (ARE) y/o varios MRES (15) (Fig. 2).

Todas estas hormonas han sido propuestas como inductoras de la síntesis de las diferentes isoformas de las metalotioneínas, de manera diferente en cada una de ellas, actuando directa o indirectamente sobre el promotor del gen-MT.

Las MTs son biomoléculas que pueden funcionar como un sistema de desintoxicación de metales pesados,

captura y neutralización de radicales libres, así como un sistema de regulación homeostática para el ión Zn y como un mecanismo de reparación tisular. Por lo que queda pendiente muchos trabajos experimentales para abundar más en el conocimiento de esta proteína como respuesta a procesos inflamatorios, estrés, metales pesados y efectos neuroprotectores; sobre todo en la producción de ratones genéticamente modificados como una herramienta poderosa que ayude de forma importante en el conocimiento de los posibles papeles de estas proteínas.

## REFERENCIAS

- Margoshes M, Valle BL (1957) A cadmium protein from equine kidney cortex. *J. Am. Chem. Soc.* 79:4813-4814.
- Kägi JHR (1993) Evolution, structure and chemical activity of class I metallothioneins: an overview. In *Metallothionein III*. Suzuki KT, Imura N and Kimura M, Eds, Birkhäuser Verlag, Basel, Switzerland. 29-55.
- Carrasco TJ (2000) Regulación de las metalotioneínas durante el estrés y la inflamación, y su influencia durante la respuesta inflamatoria. Memoria de Tesis, Universidad Autónoma de Barcelona.
- Hag F, Mahoney M, Koroptnick J (2003) Signalling events for metallothionein induction. *Review. Mutation Research* 533: 211-226.
- <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/Blast.cgi?> (Fecha de consulta: 19/03/2007).
- <http://www.ebi.ac.uk/clustalw/> (Fecha de consulta: 19/03/2007).
- Kägi JH, Kojima Y (1987) Chemistry and biochemistry of metallothionein. *Experientia* 52:25-61.
- Messerle BA., Schäffer A, Vasák M (1992) Comparison of the solution conformation of human (Zn7)-metallothionein-2 and (Cd7) using nuclear magnetic resonance spectroscopy. *J Mol Biol* 225: 433-443.
- Banerjee D, Onosaka S, Cheroam MG (1982) Immunohistochemical localization of metallothionein in cell nucleus and cytoplasm of rat liver and kidney. *Toxicology* 24:95-105.
- Karin M (1985) Metallothioneins: Proteins in search of function. *Cell* 41: 9-10.
- Cousins RJ (1985) Absorption, transport and hepatic metabolism of copper and zinc: special reference to metallothionein and ceruloplasmin. *Physiol Rev* 65: 238-309.
- Huang PC (1993) Metallothionein structure/function interface. In *Metallothionein III*, Suzuki KT, Imura N and Kimura M, Eds. Birkhäuser Verlag, Basel, Switzerland. 407-426.
- Brambila E, Muñoz SJL, Albores A, Waalkes M (1999) Early effects of surgery on zinc and metallothionein levels in female rats. *Biological Trace Element Research* 70: 173-182.
- Hernández J, Carrasco J, Belloso E, Giratt M, Bluethmann H, Lee KD, Andrews GK, Hidalgo J (2000) Metallothionein induction by restraint stress: Role of glucocorticoids and IL-6. *Citokine* 12(6): 791-796.
- Coyle P, Philcox JC, Carey LC, Rofe AM (2002) Metallothionein: The multipurpose protein. *CMLS, Cell. Mol. Life Sci.* 59:627-647.

## PROBLEMA BIOQUÍMICO

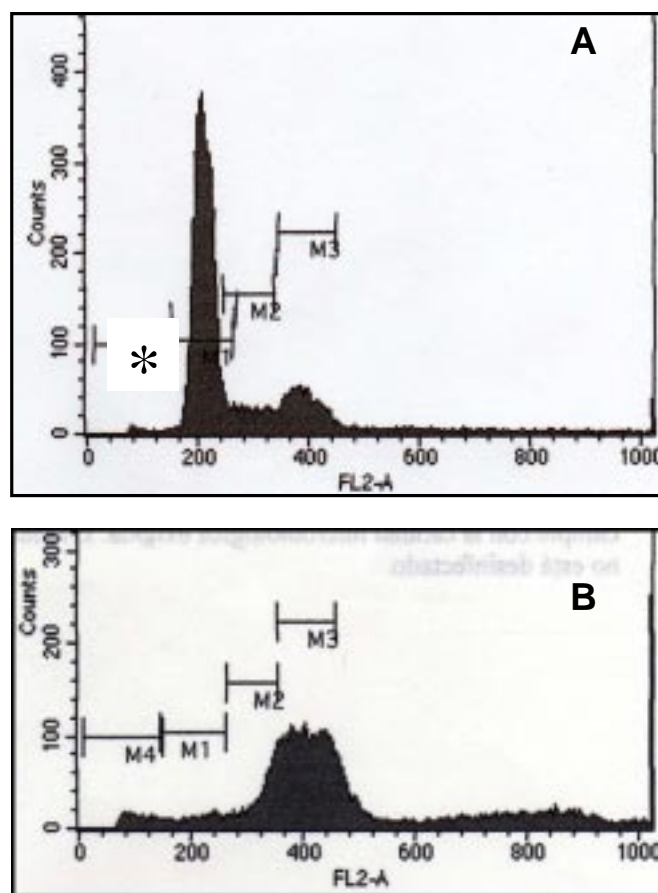
Juan Carlos Gallardo-Pérez y Sara Rodríguez-Enríquez  
 Departamento de Bioquímica. Instituto Nacional de Cardiología.  
 Correo E: jcgallardo@ciencias.unam.mx, rodsar@cardiologia.org.mx

### Ciclo Celular y Apoptosis

El ciclo celular involucra una secuencia ordenada de eventos que incluye la duplicación del contenido y la división celular. El ciclo celular ocurre a través de 4 distintas fases:  $G_1$ , S,  $G_2$  y M (1). En la fase  $G_1$ , las células aumentan su volumen intracelular y la síntesis de proteínas como las DNA helicasas, primasas y polimerasas involucradas en la síntesis del DNA, así como factores de transcripción y componentes de la maquinaria de traducción de proteínas involucradas en el metabolismo general de la célula. La fase S implica la duplicación del material genético, mientras que la fase  $G_2$  se caracteriza por un aumento en el tamaño celular y en la síntesis proteica continua. Finalmente en la fase M, la célula reparte los cromosomas duplicados dando lugar a dos células hijas.

La citometría de flujo es una herramienta útil que permite el análisis del curso del ciclo celular y aporta evidencia del efecto de ciertos compuestos que inducen muerte celular (2). En esta técnica, las células previamente fijadas con etanol al 70%, se permeabilizan y se exponen al yoduro de propidio (IP) un indicador fluorescente que se intercala y reacciona con el DNA celular. Por lo tanto, una célula en estado  $G_1$  emitirá menor fluorescencia del IP que una célula en fase S. Lo anterior puede analizarse utilizando los histogramas obtenidos del citómetro de flujo.

La figura 1A muestra un histograma general donde se observan las distintas fases del ciclo celular del tumor mamario T47-D, incubado con IP para registrar la fluorescencia emitida desde la superficie celular. Cuando el haz de luz del citómetro incide sobre las células, la fluorescencia emitida es proporcional a su tamaño celular (o superficie celular). Por lo tanto, la intensidad de fluorescencia (FL2A= Forward-scattered Light 2 Area) se grafica contra el número de células analizadas. El valor de 100 cuentas en el eje y, representa 10,000 células analizadas. El ciclo celular se analiza con un "software" (Cell Queso Pro v 4.0.2; Becton-Dickinson, New Jersey) que proporciona el porcentaje de células que se encuentran en cada fase o estadio celular. Para la figura 1A, el 70 %



**Fig. 1.** Células TD-47 ( $1 \times 10^5$  cells/ml) se cultivaron en ausencia (A) y en presencia (B) del compuesto X. La citometría de flujo se realizó 72 h después de la exposición al compuesto X. Abreviaciones: M1,  $G_0/G_1$ ; M2, S; M3,  $G_2/M$ .

de la población celular se encuentra en fase  $G_0/G_1$  (M1), mientras que el 10 y 20 % se encuentra en la fase S (M2) y  $G_2/M$  (M3), respectivamente.

El empleo de esta técnica permite la identificación y clasificación de poblaciones celulares en tejidos heterogéneos (sangre) aplicando el marcador de superficie correcto. También es útil para determinar específicamente el mecanismo de acción de diversos compuestos (antineoplásicos, antiinflamatorios no esteroideos, antihistamínicos) sobre cada fase del ciclo celular.



Analice el experimento de la figura 1B y responda lo siguiente:

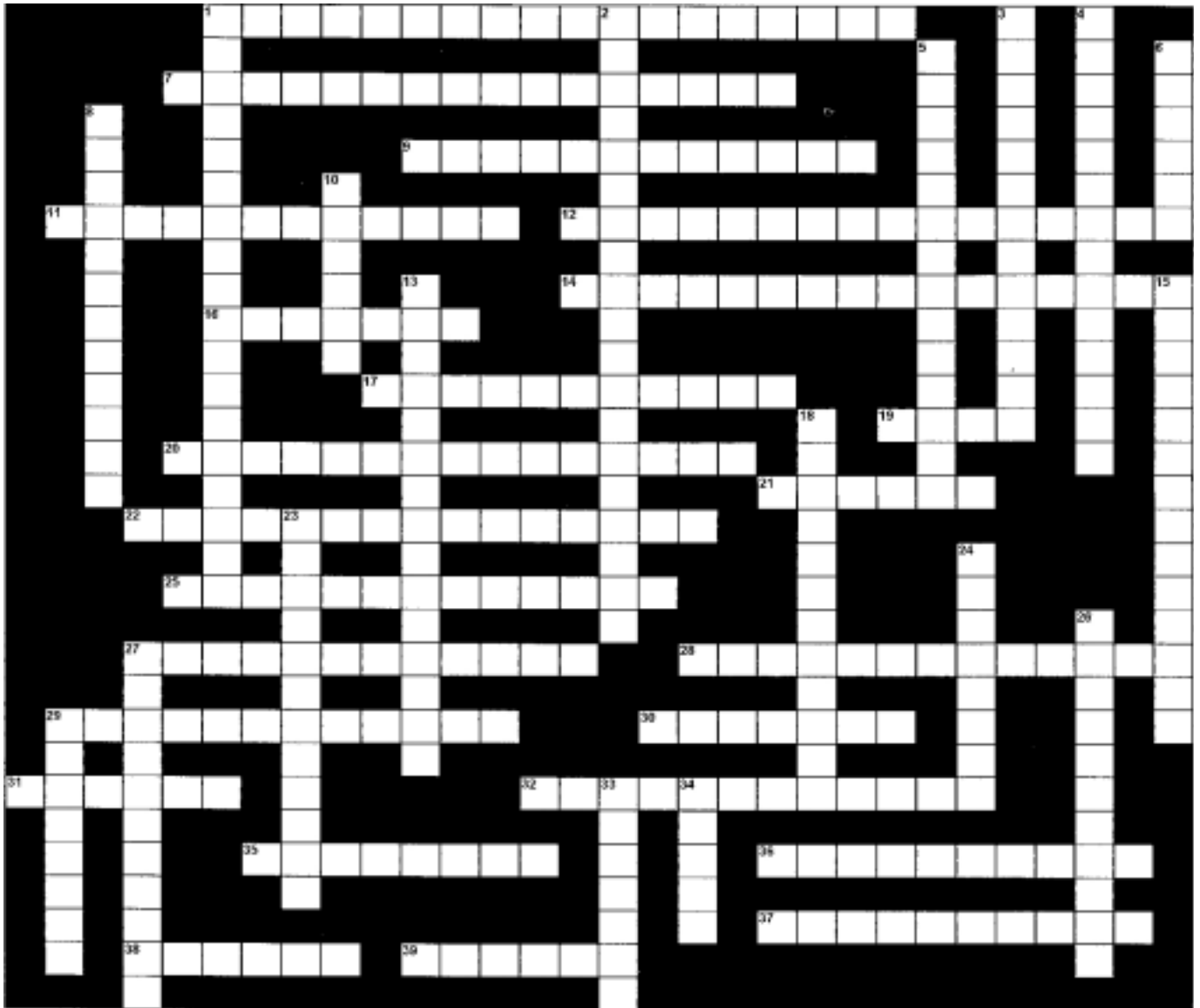
1. ¿Cuál es el efecto del compuesto X sobre las diferentes fases del ciclo celular?
2. ¿Cuál puede ser la naturaleza del compuesto X?

## REFERENCIAS

1. Massague J. 2004. G1 cell cycle control and cancer. *Nature* 432, 298-306.
2. Darzinkiewics Z, Huang X, Okafuji M. 2006. Detection of DNA strand breaks by flow and laser scanning cytometry in studies of apoptosis and cell proliferation (DNA replication). *Methods Mol Biol* 314, 81-93.

# CRUCIBIO FOSFOLÍPIDOS

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



## HORIZONTALES

- 1 En este fosfolípido el alcohol que se esterifica al residuo de fosfato es el glicerol.
- 7 La deficiencia de esta enzima ocasiona la enfermedad neurodegenerativa llamada Niemann-Pick en la que el lípido no degradado se acumula en hígado y bazo y ocasiona hepatoesplenomegalia.
- 9 Se produce cuando la enzima lecitina-colesterol acil transferasa actúa sobre la fosfatidilcolina, esta enzima

- transporta un residuo de ácido graso del fosfolípido al colesterol.
- 11 Glicerofosfolípido humano con propiedades antigénicas; está constituido por dos moléculas de ácido fosfatídico que están unidos por sus grupos fosfato mediante una molécula de glicerol.
  - 12 Fosfolípido abundante en las membranas, en el que el residuo de ácido fosfórico tiene esterificado una base nitrogenada con un grupo trimetilamina.
  - 14 En este fosfolípido el grupo polar que se esterifica al ácido fosfatídico es un aminoácido no esencial.
  - 16 Es el incremento de lípidos en la sangre; es un proceso fisiológico si este aumento es posterior a la ingesta de alimentos grasos.
  - 17 Se produce cuando la trimetiletanolamina se fosforila en presencia de ATP; posteriormente esta molécula al reaccionar con CTP da lugar a la CDP-colina.
  - 19 Número de moléculas de glicerol presentes en una cardiolipina.
  - 20 Lípidos de gran importancia en las membranas del tejido nervioso, se encuentran presentes en las vainas de mielina y en la sustancia gris del cerebro.
  - 21 La S-adenosilmetionina cede este grupo en tres reacciones sucesivas a la fosfatidiletanolamina para producir fosfatidilcolina.
  - 22 Llamado así al síndrome caracterizado por trombosis, pérdida fetal y trombocitopenia asociada a la presencia de anticardiolipina; se plantea que la trombosis se debe a que los anticuerpos inhiben reacciones en la cascada de la coagulación catalizadas por fosfolípidos.
  - 25 Tipo de fosfolípidos en los que una de las dos cadenas acilo está pegada al glicerol por una unión éter.
  - 27 Enzimas que tiene como función romper los enlaces éster de los fosfolípidos.
  - 28 Lipoproteínas plasmáticas formados por triacilglicéridos estabilizados por una capa de proteína y fosfolípidos y tiene como función transportar a los lípidos desde el intestino hacia los tejidos.
  - 29 Principales componentes lipídicos de las membranas, forman una bicapa en donde la parte apolar de las moléculas están orientadas hacia el centro y su cabeza polar lo está hacia el exterior en contacto con la fase acuosa.
  - 30 Palabra proveniente del griego *lipos* (grasa), se designan así a las sustancias de origen biológico que son solubles en solventes orgánicos, pero insolubles en agua; este término incluye a las grasas, los aceites, ciertas vitaminas y algunas hormonas.
  - 31 Forma en la cual se asocian los lípidos de la membrana que impide el paso de sustancias iónicas y polares; para que estas sustancias puedan atravesar la membrana deben desprenderse de su capa de solvatación.
  - 32 Membrana de un organelo que al igual de la del retículo, del núcleo y del aparato de Golgi, el fosfolípido más abundante es la fosfatidilcolina.
  - 35 Formada por lípidos y proteínas en una combinación variable, delimita espacios ya sea dentro o fuera de la célula, participa en la recepción de señales y en la producción de energía.
  - 36 Prefijo constante en los fosfolípidos, el que al unirse al nombre del alcohol con el que reacciona, recibirá un nombre específico.
  - 37 Componente lipídico de naturaleza esteroide que endurece las membranas, reduciendo su fluidez y permeabilidad.
  - 38 Parte del fosfolípido, es un grupo fosfato con carga negativa el cual es polar e hidrofílico.
  - 39 Tipo de difusión que se lleva a cabo en la que los compuestos apolares fluyen a favor del gradiente de concentración a través de los lípidos de la membrana.

## VERTICALES

- 1 Se sintetiza por la condensación de CDP-diacilglicerol con inositol.
- 2 Lípidos de membrana originados por la esterificación de dos ácidos grasos al primero y segundo carbonos del glicerol y en el tercero se encuentra un grupo polar sostenido por una unión fosfodiéster.
- 3 Moléculas formadas por lípidos y proteínas, dependiendo de su composición se designan como de muy baja, de baja o de alta densidad.
- 4 Llamada así a la patología en la que hay acumulo constante del contenido lipídico en el plasma, debido a un mal funcionamiento de la lipoproteinlipasa.
- 5 Molécula no fosforilada derivada del glicerol, es precursora de fosfolípidos y triacilgliceroles.
- 6 Su nombre químico es trimetiletanolamina y es una base nitrogenada de un grupo de fosfolípidos, en su síntesis interviene la S-adenosilmetionina como donador de grupos metilo.
- 8 El grado de \_\_\_\_\_ de los ácidos grasos presentes en los fosfolípidos le confieren fluidez a la membrana.
- 10 Investigador que junto con Nicholson en 1972 propuso el término de mosaico fluido para identificar la estructura de la membrana; la cual está constituida por una bicapa lipídica complementada con diversos tipos de proteínas y en donde se mantiene dicha estructura por uniones no covalentes.

- 13** Se obtiene por la acción de la fosfolipasa A que hidroliza uno de los dos ácidos grasos de los fosfolípidos.
- 15** Enfermedad multifactorial que se caracteriza por el depósito de colesterol en la íntima de las arterias; una causa de esta patología es el exceso de LDL en plasma y una baja concentración de HDL que participa eliminando al colesterol.
- 18** Característica de la membrana debido a las interacciones no covalentes entre los lípidos de la bicapa y los movimientos de los lípidos -isoprenoides, esteroides, derivados glucosilados de fosfatidilinositol- que están unidos en forma covalente.
- 23** En los fosfolípidos esta unión se mantiene por la participación del grupo fosfato hacia el alcohol del glicerol y hacia la base nitrogenada.
- 24** Triol presente en grasas neutras, glicerofosfolípidos y galactolípidos.
- 26** Característica de la los lípidos de la membrana, debido a que tienen una parte hidrofílica y otra hidrofóbica.
- 27** Ácido que es precursor de los glicerofosfolípidos, es el resultado de la esterificación de dos ácidos grasos al primero y segundo carbonos del glicerol y en el tercero se une al ácido fosfórico.
- 29** Enzimas que facilitan la difusión flip-flop de moléculas de fosfolípidos que son sintetizados en el interior de la membrana; son responsables de que los fosfolípidos pasen en breve tiempo hacia el otro lado de la bicapa.
- 33** Enfermedad genética poco frecuente caracterizada por una ausencia casi total de lipoproteínas de alta densidad en el plasma, coincide con disminución de colesterol plasmático y acumulación de colesterol esterificado en muchos tejidos como amígdalas y tejido nervioso.
- 34** En un fosfolípido corresponden a las dos cadenas hidrocarbonadas de los ácidos grasos que se esterifican al glicerol; estas cadenas son apolares e hidrofóbicas.

# RESPUESTA AL PROBLEMA BIOQUÍMICO

Juan Carlos Gallardo-Pérez y Sara Rodríguez-Enríquez  
 Departamento de Bioquímica. Instituto Nacional de Cardiología.  
 Correo E: jcgallardo@ciencias.unam.mx, rodsar@cardiologia.org.mx

Cuando las células en cultivo alcanzan una confluencia mayor al 90%, se observa que la mayor proporción de células (pico mayor del histograma 1A) del tumor T47D se encuentran en fase  $G_0/G_1$  indicando que las células están preparándose para ingresar a la fase de síntesis. Esta es la distribución normal de células en proliferación. La fase de mitosis tiene una duración muy corta con respecto a la fase  $G_1$ , por eso es que un histograma de células control siempre mostrará este patrón.

En el histograma 1B, el compuesto X indujo un desplazamiento de las células a través del ciclo celular culminando en una acumulación de las células tumorales en la fase  $G_2/M$  (> 70%), mientras que pocas células se mantuvieron en la fase S (13%) y  $G_0/G_1$  (5%). Los fármacos que promueven un arresto del ciclo celular en fase  $G_2$  son aquellos que bloquean la polimerización de los microtúbulos del citoesqueleto, esenciales para la separación de cromosomas y la progresión a través del ciclo celular (1). Ejemplos de este tipo de drogas tenemos al taxol (1), a la colcemida o nocodazol (2), a los ligandos para GPCRs (Receptores acoplados a proteínas G)(3), y otros.

La clasificación en fases en el histograma es un reflejo de la cantidad de DNA y el volumen de cada célula analizada en el citómetro de flujo. La acumulación observada detrás del pico de  $G_0/G_1$  (asterisco) representa células muertas, por apoptosis o por necrosis (imposible de

diferenciar), y detritus celulares. La mayor parte de su DNA ya está degradado por lo que no alcanza a emitir una fluorescencia que las incorpore en el cuadrante de  $G_0/G_1$ . Esta zona es conocida como pico hipodiploide y su importancia radica en que un aumento en la fluorescencia en esta zona es indicativo de muerte celular.

La citometría de flujo apoyada por otras técnicas (análisis de la expresión de ciclina; doble bloqueo con timidina tritiada; análisis con bromodesoxiuridina) permite analizar la cronología de eventos involucrados en el mecanismo de acción de nuevos compuestos de interés clínico.

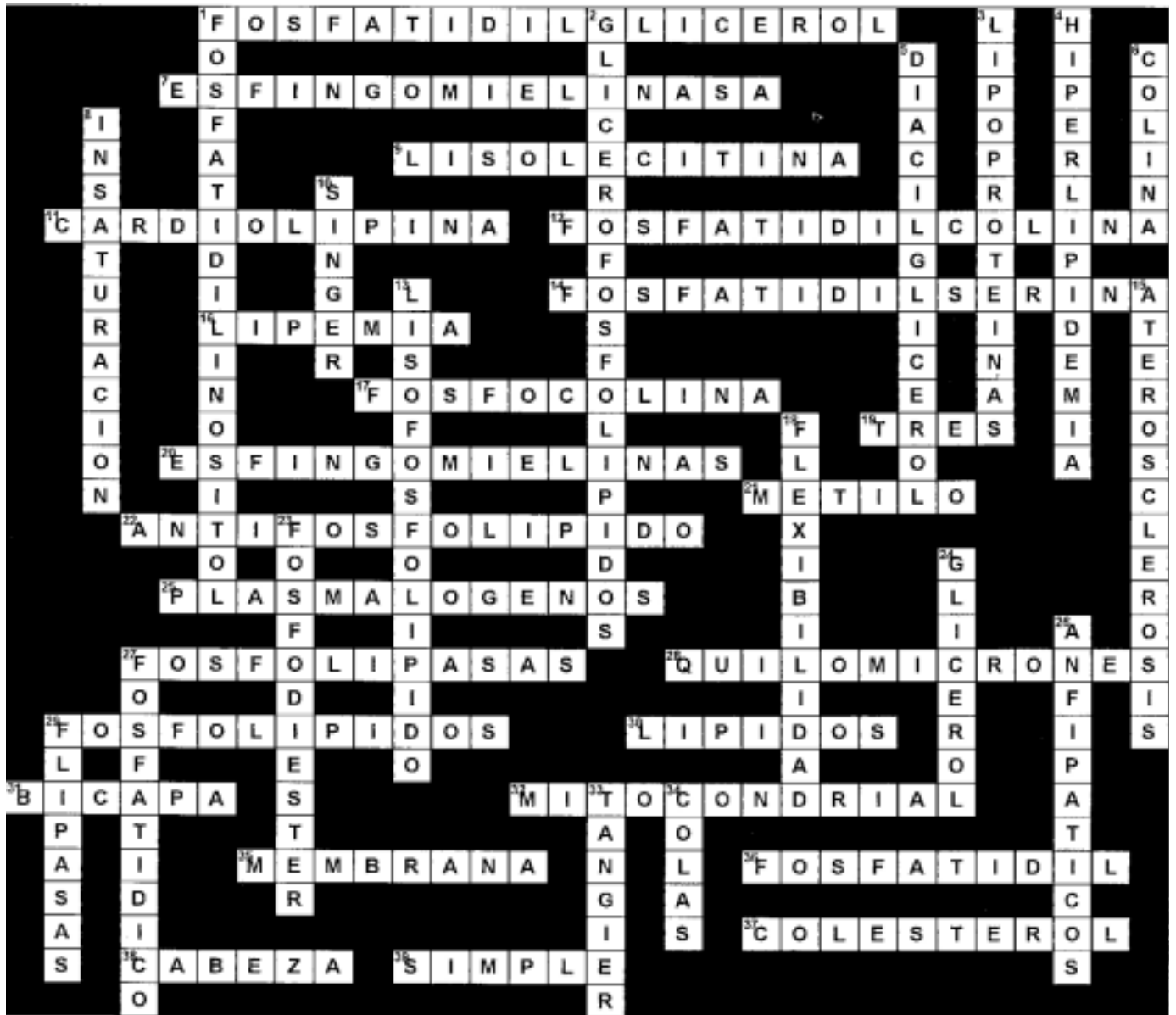
## REFERENCIAS

1. Fabbri F, Carloni S, Brigliadori G, et al, 2006. Sequential events of apoptosis involving docetaxel, a microtubule-interfering agent: A cytometric study. *BMC Cell Biology* 7, 6.
2. Hixon ML, Flores AI, Wagner MW, Gualberto A. 1998. Ectopic Expression of cdc2/cdc28 kinase subunit Homo sapiens 1 uncouples cyclin B metabolism from the mitotic spindle cell cycle checkpoint. *Mol Cell Biol* 18, 6224-6237.
3. Weng Z, Fluckiger AC, Nisitani S, et al. 1998. A DNA damage and stress inducible G protein coupled receptor blocks cells in G2/M. *PNAS* 95, 12334-12339.

# SOLUCIÓN AL CRUCIBIOO

## FOSFOLÍPIDOS

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



# 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. *Nature gen* 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.