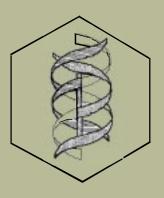
REB 2008

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



EDITADO DESDE 1982 COMO BOLETÍN DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA

VOL. 27

No. 3

SEPTIEMBRE 2008

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

LEONOR FERNÁNDEZ RIVERA RÍO

Facultad de Medicina

Universidad Nacional Autónoma de México

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

ANA CECILIA ZAZUETA MENDIZÁBAL

Departamento de Bioquímica Instituto Nacional de Cardiología

"Dr. Ignacio Chávez"

ALEJANDRO ZENTELLA DEHESA

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

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

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

JORGE LUIS RICO PÉREZ

Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán Universidad Nacional Autónoma de México

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, AC. 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, Redalyc 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. Distribución electrónica: Programa Universitario de Investigación en Salud (PUIS), UNAM (http://computo.sid.unam.mx/Bioquímica 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.

CONTENIDO

COMITÉ EDITORIAL	OTRAS COMUNICACIONES	
EDITORIAL	CRUCIBIOQ	
	BIOSÍNTESIS DE LÍPIDOS	
LA TECNOLOGÍA INFORMÁTICA CONTRIBUYE	Yolanda Saldaña Balmori	103
A FACILITAR EL APRENDIZAJE DE BIOQUÍMICA		
Leonor Fernández Rivera-Río y	SOLUCIÓN AL CRUCIBIOQ	
Marco Antonio Juárez Oropeza	BIOSÍNTESIS DE LÍPIDOS	
	Yolanda Saldaña Balmori	106
ARTÍCULOS		
	FOURTH WORKSHOP IN COMPARATIVE	
FUNCIÓN DE LA PROTEASA NS3 DEL VIRUS	ASPECTS OF OXIDATIVE STRESS IN	
DE LA HEPATITIS C	BIOLOGICAL SYSTEMS	107
Alejandro Daniel Bermúdez Aguirre79	BIOLOGICIE O I DI LING	107
	INSTRUCCIONES PARA LOS	
PEROXISOMAS: ORGANELOS POLIFACÉTICOS	COLABORADORES DE LA REVISTA DE	
Rocío Salceda Sacanelles85	EDUCACIÓN BIOQUÍMICA	108
Rocio Balecta Bacaneres	EDUCACION BIOQUIMICA	100
EL FANTÁSTICO MUNDO DE LA PROTEÍNA Bcl-2		
Amando Luna-López, Norma Edith López-		
Diazguerrero, Viridiana Yazmín González-Puertos,		
Francisco Triana-Martínez y		
Mina Königsberg Fainstein93		

REB 27(3): 77-78, 2008

EDITORIAL

LA TECNOLOGÍA INFORMÁTICA CONTRIBUYE A FACILITAR EL APRENDIZAJE DE BIOQUÍMICA

En la actualidad se busca hacer uso de las tecnologías de la información más avanzadas para que cualquier estudiante con sólo escribir un nombre en un buscador de la Internet pueda obtener mucha información relacionada con el tema de su búsqueda; a pesar de esto, para que un conocimiento sea útil debe de ser relacionado con los conocimientos previos y ejercitado por medio de la resolución de problemas relacionados con el tema en estudio, de manera que el estudiante establezca la relación causa-efecto o tal vez comprenda la razón de una serie de pasos a seguir para encontrar la solución de un problema dado.

En el caso de la enseñanza de la Medicina, los futuros médicos tienen acceso a variadas publicaciones en la Internet que pueden servirles para hacer más fácil el aprendizaje tanto de las ciencias básicas como de la clínica. Últimamente, en la Facultad de Medicina de la UNAM se ha iniciado la correlación básico - clínica para ayudar a los alumnos en el aprendizaje de los conceptos y conocimientos que forman parte del curriculum de la Carrera de Médico Cirujano.

En la carrera de Médico Cirujano el aprendizaje de las ciencias básicas representa mucha dificultad para los estudiantes y la bioquímica es especialmente dificil, debido a que los conceptos acerca de las moléculas, de las vías metabólicas y de las interacciones involucradas en la transmisión y expresión de la información genética tienen un componente abstracto muy importante.

El diseño de programas para la enseñanza de la bioquímica asistida por computadora y distribuidos por medio de la Internet, ha demostrado ser una herramienta eficaz para facilitar la enseñanza en el Departamento de Bioquímica y de Biología Molecular de la Facultad de Medicina de la UNAM y actualmente el portal "APRENDE BIOQUÍMICA" ofrece a los estudiantes y a los docentes una colección de programas diferentes.

El Laboratorio de Diseño y Evaluación de Programas para la Enseñanza de Bioquímica Asistida por Computadora fue iniciado y dirigido por la M. en C. Leonor Fernández Rivera Río desde 1993; fue el pionero en el diseño y la evaluación de programas para enseñanza de la bioquímica y desde entonces ha desarrollado 23 programas diferentes para facilitar la comprensión de las propiedades y las características estructurales de los carbohidratos, los lípidos, los aminoácidos, los nucleótidos, las proteínas y los ácidos nucleicos, así como las vías metabólicas más importantes; también ha desarrollado tres prácticas de laboratorio simuladas.

Otra aplicación de la tecnología informática es la realidad virtual. El laboratorio de Diseño y Evaluación de Programas para la Enseñanza de Bioquímica Asistida por Computadora en unión con el Observatorio de Visualización IXTLI inició el proyecto "Estructura de biomoléculas como una herramienta para favorecer el aprendizaje de la Bioquímica y de la Biología Molecular" en la que se diseñaron programas para la observación de moléculas en tercera dimensión (realidad virtual) que se pueden usar para impartir clases a los estudiantes; con esta tecnología se puede ver a las moléculas simples y complejas en tercera dimensión y en tiempo real.

La asociación de la bioquímica con la clínica es útil, ya que existen muchos aspectos bioquímicos que involucran a la etiología, a las pruebas y a los análisis que se usan para el diagnóstico de las enfermedades y a los tratamientos que se emplean para contender con éstas, es por esto que se inicia el proyecto de Correlación Bioquímica - Clínica que pretende desarrollar programas de enseñanza asistida por computadora que muestren las alteraciones bioquímicas que son la causa de numerosas enfermedades; con esto se espera facilitar el aprendizaje y establecer un puente entre las ciencias básicas y las ciencias clínicas. El proyecto incluye a varios programas en

los que se analizarán el síndrome de gota, la intolerancia a la lactosa, la galactosemia, la diabetes, las enfermedades por atesoramiento de glucógeno, la enfermedad pulmonar obstructiva crónica, la enfermedad de Alzheimer y la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob o de las vacas locas y otros padecimientos, además, se analizarán los principios bioquímicos para la determinación de la concentración de diferentes sustancias que se usan comúnmente para hacer diagnósticos en la clínica. Estos programas serán publicados en el sitio "Aprende Bioquímica" del Portal de Internet del Departamento de Bioquímica y Biología Molecular de la Facultad de Medicina de la UNAM.

El desarrollo de esta nueva tecnología para facilitar el aprendizaje, ha sido para la Facultad de Medicina de la UNAM, un adelanto muy importante que la sitúa entre las más avanzadas del mundo, ya que la incorporación de programas tutoriales, simulaciones de prácticas de laboratorio, animaciones representando a las reacciones

enzimáticas y las modificaciones de las moléculas en el metabolismo celular, así como de modelos moleculares en tercera dimensión en la Internet o en los Observatorios para realidad virtual, facilita en forma significativa la comprensión de la estructura tridimensional de las moléculas simples y complejas, como son los aminoácidos, los carbohidratos, los lípidos, las proteínas y los ácidos nucleicos y las estructuras subcelulares como el núcleosoma, el replicosoma y otros.

Se espera que con el desarrollo de estos programas se pueda contribuir a fomentar el interés de los alumnos por el estudio de las ciencias básicas y se favorezca el diseño de procedimientos para mejorar la salud de la población usando como herramienta el método científico.

> Leonor Fernández Rivera Río y Marco Antonio Juárez Oropeza Departamento de Bioquímica Facultad de Medicina, UNAM

REB 27(3): 79-84, 2008

FUNCIÓN DE LA PROTEASA NS3 DEL VIRUS DE LA HEPATITIS C*

Alejandro Daniel Bermúdez Aguirre

RESUMEN

El virus de Hepatitis C (VHC) es el principal agente causante de la Hepatitis tipo no-A no-B a nivel mundial. Actualmente existen 170 millones de personas portadoras del virus en riesgo de desarrollar cirrosis y cáncer hepático. La proteasa NS3 del VHC es esencial para la replicación viral y es por tanto uno de los principales objetivos para el desarrollo de terapias específicas contra la infección ya que además, es codificada por uno de los genes con menor variabilidad dentro del genoma del VHC.

PALABRAS CLAVE: VHC, Hepatitis, proteasas de serina, NS3.

ABSTRACT

Hepatitis C virus (HCV), is the major causative agent of non-A non-B hepatitis worldwide. There are 170 million chronic carriers at risk of developing liver cirrhosis and cancer. NS3 protease is essential for virus replication and is one of the most promising targets for specific anti-HCV therapy because the NS3 gene is considered one of the less variable genes in the HCV genome.

KEY WORDS: HCV, Hepatitis, Serin-protease, NS3.

INFECCIÓN POR EL VIRUS DE HEPATITIS C

El virus de hepatitis C (VHC) fue caracterizado molecularmente en 1989 por Choo y cols. cuando se logró clonar y secuenciar parte del genoma viral, lo cual permitió el desarrollo de pruebas específicas que identificaron a este virus como el agente causante de lo que hasta entonces era denominado como Hepatitis no A no B (Hepatitis NANB) (1).

La infección por VHC es la quinta causa de muerte por afecciones hepáticas en México y se calcula que existen 170 millones de personas infectadas en todo el mundo; este virus ocasiona aproximadamente 10,000 muertes al año, ya que en el 60 % de los pacientes la infección se vuelve crónica y en el 20% de estos casos degenera en cirrosis y finalmente en hepatocarcinoma (Fig. 1) (2, 3). Los procesos virales que causan estas le-

siones no han sido completamente establecidos, sin embargo parece ser que el virus por sí solo no es citopático ya que el daño hepático se debe principalmente a factores relacionados como la respuesta inmune inespecífica, el consumo de alcohol, obesidad, diabetes e infecciones virales asociadas (VHB, VIH) (2); asímismo, entre el 40 y el 74% de los casos se presenta una o varias manifestaciones extrahepáticas (MEH) como los tipos II y III de crioglobulinemia mixta (CM), MEHs de tipo endócrino: hipotiroidismo y diabetes mellitus, reumatológicas; artritis (que se presenta durante el proceso inmune asociado con la crioglobulinemia) y otros padecimientos como osteoesclerosis, cardiomiopatía hipertrófica, linfoma no Hodgkin y fibrosis pulmonar. Estas MEHs son importantes ya que pueden significar la primera señal de infección en pacientes de alto riesgo que no presentan síntomas hepáticos, pues los tejidos relacionados con MEHs actúan como reservorios de partículas virales en algunos casos (4).

Las diferencias en los casos de infección no solo se deben a las variantes que existen del VHC de las cuales se hablará más adelante, sino también al polimorfismo del genoma humano que interviene en la respuesta inmune y puede explicar los casos en los que el virus es eliminado espontáneamente en la fase aguda de la infección, así como los reportes de inmunidad natural al VHC. Uno de los procesos principales de la respuesta inmune es la presentación del antígeno por parte de células especializadas, las cuales "presentan" en su superficie un fragmento de la partícula viral asociado con el antígeno leucocitario humano (ALH) para ser reconocido por receptores específicos de células T

80 Bermúdez Aguirre AD

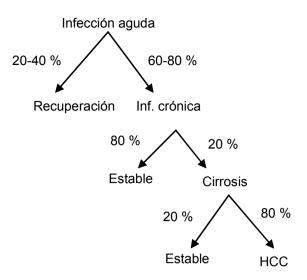


Figura 1. Proporción de los padecimientos desencadenados por la infección del VHC. (HCC, Hepatocarcinoma).

(CD4+ o CD8+); los ALH son glicoproteínas codificadas por al menos 1000 alelos diferentes del genoma humano, lo que permite diferencias en su secuencia de tan solo un aminoácido que condiciona su capacidad de unión al antígeno y provoca diferencias en la respuesta inmune, al afectar el proceso de presentación de antígeno (3, 5). Aunque existen escasas investigaciones sobre la relación del polimorfismo del ALH y la respuesta inmune durante la infección por el VHC, los estudios realizados en pacientes con hepatitis C coinciden en la relación específica que existe entre el alelo DQB1*0301 y la recuperación del individuo así como la presencia del alelo DQB1*0302 en individuos con progresión lenta de la infección y el predominio de ALH-Cw*04 o DQB1*0502 en pacientes con persistencia o progresión rápida de la infección respectivamente. Esta relación del polimorfismo humano con las características de la infección también ha sido hallada en infecciones causadas por otros virus, como la dependencia de la secuencia genética para el receptor CCR5 en células CD4+ y la entrada del virus de inmunodeficiencia humana (VIH) (3).

BIOLOGÍA MOLECULAR DEL

El VHC está clasificado en la familia Flaviviridae por ser un virus envuelto, de aproximadamente 50 nm de diámetro, con una sola cadena de ARN en sentido positivo (5'-3') y en el género Hepacivirus que se creó para distinguir las características poco comunes de este virus, como lo es la enzima multifuncional NS3 (6). El ARN viral codifica una poliproteína de 3010 aminoácidos (C(F)-E1-E2-p7-NS2-NS3-NS4A-NS4B-NS5A-NS5B) que genera al menos diez proteínas maduras al ser procesada por la señal peptidasa del retículo endoplásmico, la cual libera las proteínas C, E1, E2 y p7 que forman la cápside o núcleo viral (C), la envoltura de la partícula (E1 y E2) y p7 que se sugiere interviene en la liberación del genoma al formar canales iónicos en la envoltura viral (2); la región de las proteínas no estructurales (NS2-NS5B) que participan en la replicación son procesadas por 2 enzimas virales: NS2 y NS3 que generan un corte autocatalítico en las regiones NS2-NS3 y NS3-NS4A respectivamente y permiten la formación del complejo

proteasa de serina NS3/4A que procesa el resto de la poliproteína viral, provocando la maduración de las proteínas NS4B, NS5A y NS5B con función de polimerasa de ARN dependiente de ARN (NS5B) y de fosfoproteína (NS5A), mientras que la función de la proteína NS4B sigue siendo investigada, así como la existencia de un segundo marco de lectura (ORF +1) que provoca la síntesis de la proteína F y una variante de la proteína C (Fig. 2) (6, 7).

VARIANTES DEL VHC

Ya que este virus se trasmite por contacto directo con sangre infectada, los grupos de alto riesgo de infección por VHC se deben a la falta de infraestructura adecuada (utilización de productos sanguíneos contaminados). riesgos relacionados (personal de salud como paramédicos), desinformación (contacto sexual entre jóvenes o con personas asintomáticas, uso de narcóticos intravenosos) y personas que fueron trasfundidas antes de haber sido estandarizada la determinación de hepatitis NANB en los bancos de sangre (personas hemofilicas), principalmente (5).

El análisis del genotipo viral aislado de pacientes infectados ha revelado que este virus posee un alta variabilidad genética ($\sim 1.4 \times 10^3 - 1.9 \times 10^3$ sustituciones/nucleótido/año) la cual se debe principalmente a la sustitución nucleotídica que ocurre durante el proceso replicativo y por la falta de actividad de exonucleasa de la polimerasa viral, que impide la corrección de errores en la secuencia replicada. Sin embargo, esta variabilidad no es uniforme, ya que existen regiones altamente conservadas como la secuencia que codifica para la proteína de la cápside viral (C), la región para la proteasa de serina NS3 y los extremos 5' y 3' no traducibles de la cadena de ARN, mientras que otras regiones como las que codifican las

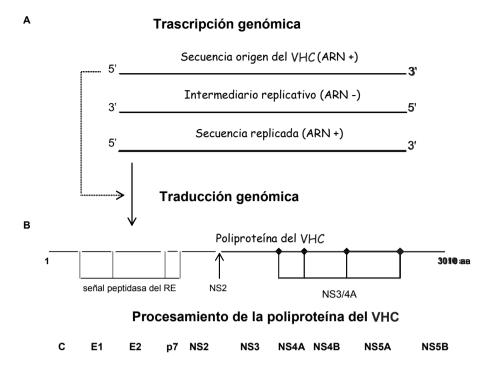


Figura 2. Proceso de trascripción - traducción del VHC. A. Tipos de ARN formados durante el proceso de replicación viral. B. Producción de las proteínas del VHC a partir del procesamiento de la poliproteína por enzimas de origen celular y viral. (VHC, virus de Hepatitis C; RE, retículo endoplásmico; aa, aminoácidos).

proteínas NS4B, NS5A y las regiones hipervariables 1 y 2 (RHV 1 y RHV 2) en la proteína de envoltura E2 difieren hasta en más de 50% (8). Estas diferencias en el genotipo del VHC dan origen a las variantes virales que se clasifican en grupos principales o Tipos (Tabla 1), cuando la secuencia nucleotídica difiere entre 31% - 34% y en Subtipos (a,b,c...) cuando la diferencia es de 20% - 30% (2, 6), así mismo existen bases de datos como DDJB (http://www.ddbj.nig.ac.jp) y euHCVDB (http://hepatitis.ibcp.fr) donde se recopilan las secuencias y han facilitado encontrar variantes del VHC características a determinada región del mundo (Tabla 1), también se ha determinado que el Tipo 1 de Hepatitis C Subtipo b (variante VHC 1b) es el que se presenta con más frecuencia en los pacientes que no responden al tratamiento antiviral (70% de los casos en Occidente). Otra característica del genotipo viral predictiva de la respuesta al

tratamiento es la secuencia de la región determinante de sensibilidad al Interferón (ISDR, por sus siglas en ingles) que comúnmente presenta cambios o mutaciones en los pacientes que responden favorablemente al tratamiento antiviral (8, 9).

La infección por VHC se trata principalmente administrando interferón- α (INF- α) pegilado, el cual limita la replicación viral a través de la desaminasa de adenosina de ARN de doble cadena (ADAR1) y causa la fosforilación del factor de inicio de la trascripción (eIF2) que impide la asociación eIF2-GTP-met-tARN, procesos que suprimen la trascripción y traducción de ARN; sin embargo, este tratamiento aún complementado con el análogo nucleotídico Ribavirina $(INF-\alpha 2b [1.5ug/Kg/semana] +$ Ribavirina [1 g/día]) no ha logrado una respuesta antiviral sostenida en casi la mitad de los pacientes infectados con VHC 1b (2, 5, 10). Esto se debe principalmente al tratamiento inespecífico con el que actualmente se cuenta, va que el INF-α, aunque induce la trascripción de más de 200 genes, solo unos cuantos participan en la respuesta antiviral y la Ribavirina, al ser un análogo nucleotídico, también es inespecífica contra la infección; por lo que se están desarrollando diversos métodos de estudio del VHC enfocados a procesos fundamentales del ciclo replicativo así como a la caracterización de proteínas virales particulares que permitan desarrollar com-

TABLA 1

Variante viral	Genotipo		Región
VHC	Tipo	Subtipo	
1b 1a 1 2	1 1 1 2 3	b a variable variable variable	América América Europa Europa Europa
2 4b 4c 4e 4m 2i	2 4 4 4 4 2	c hasta m b c e m i	África África África África África Asia
6p	6	p	Asia

Variantes del virus de Hepatitis C que predominan en las regiones indicadas.

puestos que interfieran específicamente con el proceso infeccioso del VHC

MODELOS DE ESTUDIO DEL VHC

El estudio del VHC ha sido lento, ya que la replicación de este virus es particularmente restrictiva a un tipo celular diferente de hepatocitos humanos, lo que ha impedido el desarrollo de un modelo animal o celular que genere una tasa replicativa experimentalmente útil. Se han realizado estudios inmunológicos en el modelo de chimpancé; sin embargo, recientemente se ha cuestionado su validez ya que parece ser que las características de la respuesta inmune que presenta son diferentes de la humana (2).

Por otra parte, se ha desarrollado el modelo de replicón subgenómico, que son moléculas de ARN de secuencias consenso del VHC 1b que codifican las proteínas NS3, NS4A, NS4B, NS5A y NS5B que permiten la autoreplicación de la molécula de ARN viral (1). Este modelo fue propuesto para realizar estudios del ciclo replicativo viral ya que se obtiene un alta tasa replicativa, aunque esta se debe principalmente a las mutaciones de tipo adaptativo del replicón a la línea celular (Huh-7) utilizada. Otro método también basado en la línea (Huh-7) de células hepáticas humanas fue desarrollado por Wakita y cols. (5) con la diferencia fundamental de que las secuencias utilizadas para el replicón subgenómico fueron obtenidas de un paciente con hepatitis C fulminante y se sugiere que este origen de la secuencia es la razón por la que se obtienen partículas virales que conservan su capacidad infecciosa en la línea celular; este avance permitió determinar que la capacidad infecciosa de las partículas virales puede ser neutralizada en cultivo celular por anticuerpos específicos CD81 y muestra la importancia de este grupo de diferenciación en el proceso de entrada viral a la célula. Recientemente se ha desarrollado un replicón genómico, que codifica tanto las proteínas estructurales como las no estructurales del VHC (1).

Además de las aportaciones de estos experimentos, recientemente se reportó que la apolipoproteína B (apo B) y la transferasa de triacilgliceroles microsomales (MTP), que se ubican característicamente en las vesículas membranales de células hepáticas participando en la síntesis de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL, por sus siglas en ingles), también intervienen en la producción de partículas virales, ya que al inhibir la síntesis de apo B y MTP la producción de partículas virales disminuye y se propone como una de las causas del alta especificidad replicativa de este virus a células hepáticas (11). Este hallazgo coincide con los experimentos de ultracentrifugación de muestras sanguíneas de pacientes con VHC, en donde las partículas virales que conservan su

capacidad infecciosa se detectan en el gradiente ~1.06 g/ml, donde están asociadas mayoritariamente las VLDL (2, 12).

Así mismo, existen modelos de estudio sobre proteínas especificas de VHC que realizan procesos clave en el ciclo replicativo y pueden servir como puntos de control de la infección al inhibir o modificar su actividad (Fig. 3). Las proteínas virales más estudiadas molecularmente son NS3 y NS5B, ya que NS5B actúa como polimerasa viral v NS3 provoca la maduración de las proteínas que intervienen en el proceso replicativo incluyendo NS5B; así también el alto grado de conservación de la secuencia para la proteasa de serina NS3 hace que el desarrollo de compuestos inhibidores de esta actividad sea un importante campo de investigación antiviral (5, 6).

LA PROTEASA DE SERINA NS3 DEL VHC

La proteína NS3 del VHC es una enzima multifuncional ya que presenta, en el primer tercio (N-

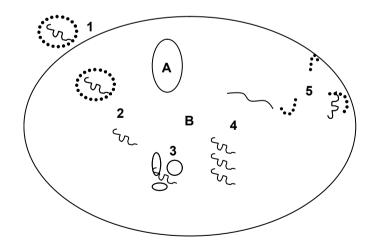


Figura 3. Representación esquemática de los principales procesos del ciclo replicativo viral que pueden servir como punto de control de la infección. (A, núcleo celular; B, citoplasma celular).

- 1. Unión de la partícula viral a la membrana celular. (proteína E2)
- 2. Liberación del material genético del HCV (proteína p7)
- 3. Replicación del ARN viral (polimerasa viral NS5B, fosfoproteína NS5A)
- 4. Procesamiento de la poliproteína viral (complejo serin-proteasa NS3/4A)
- 5. Localización / Ensamble de nuevas partículas virales (E1, E2)

terminal) de su estructura, actividad de proteasa de serina y en el resto, función de ARN helicasa DexH/D que revierte el enrollamiento de cadenas dobles de ARN formadas durante la replicación viral (Fig. 2 A) (6, 7).

El extremo N-terminal de NS3 presenta un plegamiento típico de la familia de las quimiotripsinas, compuesto por dos dominios tipo beta-barril con actividad de proteasa de serina que es optimizada por la asociación de la proteína NS4A.

NS4A es una proteína anfipática de 54 aminoácidos, tipo beta-plegada, que se asocia no covalentemente con las cadenas A0 y A1 de NS3 y provoca una reorganización en su estructura al reorientar el aminoácido D 81 de la triada catalítica (H 57, D 81, S 139), optimizando así la actividad de proteasa de NS3; además NS4A promueve la localización del complejo NS3/4A a la membrana del retículo endoplásmico donde es procesada la poliproteína viral (6, 7). Aunque la región de proteasa de NS3 posee características similares a otras enzimas con plegamientos tipo quimiotripsinas, los análisis de cristalización de NS3 han revelado que posee diferencias importantes con respecto a este tipo de enzimas y son la causa de que los inhibidores comunes de quimiotripsinas no tengan efecto sobre la actividad de NS3. De hecho, una de las diferencias principales de esta proteína son las estructuras tipo asa que en las quimiotripsinas se intercalan entre las hoja beta-plegada que forman la estructura principal de la enzima y en NS3 estas asas no existen o son más cortas de lo normal, lo que impide el efecto de los inhibidores (6).

Aunque se han desarrollado una gran variedad de métodos para estudiar la actividad de proteasa de NS3 y compuestos inhibidores, por razones de espacio solo se hará referencia de algunos que han trascendido en el área y al mismo tiempo representan una muestra de la variedad de estrategias y tipos de compuestos utilizados en el estudio de NS3.

La actividad de proteasa de NS3 se caracterizó en células E. coli transformadas simultáneamente con plásmidos de expresión para la proteasa y para proteínas con regiones de corte de la poliproteína viral que actúan como sustrato de la reacción. Este sistema permite determinar la eficiencia de NS3 en el procesamiento de la -proteína sustrato- la cual se expresa fusionada entre dos proteínas específicas (MBP - proteína sustrato -DHFR) que permiten su recuperación y análisis del extremo N-terminal; esta metodología también permite manipular la secuencia de la proteína sustrato y expresar diferentes regiones de corte de la poliproteína viral, analizar los requerimientos de la enzima NS3 para reconocerlo v/o procesarlo y determinar la eficiencia del proceso catalítico en presencia de compuestos antivirales (13).

Por otra parte, existen sistemas basados en células eucariotas en los que se utiliza el virus vaccinia con modificaciones genéticas que permiten expresar la proteína de estudio en el citoplasma de células de mamífero, fundamentos que se utilizan en el sistema de replicón-ELISA en el que además se expresa en una sola proteína tanto la región de proteasa de NS3 como varios sitio de corte de la poliproteína viral (NS3-NS4A-NS4B-NS5), lo cual representa un entorno más similar a lo que sucede in vivo durante el procesamiento de la poliproteína del VHC. Inicialmente, este sistema fue construido para analizar el efecto de compuestos previamente reportados como inhibidores de la actividad de proteasa de NS3 ya que permite estudiar la capacidad del compuesto para penetrar en la célula así como su actividad en el medio intracelular; sin embargo, debido a su gran utilidad ha sido modificado y actualmente permite la determinación cuantitativa de los resultados en el formato ELISA y utiliza el sistema de replicón subgenómico de VHC en lugar de virus vaccinia, por lo que este sistema es uno de los más relevantes en la determinación de compuestos inhibidores de NS3 (14).

También se han desarrollado sistemas basados en estructuras secundarias de ARN que reconocen específicamente la proteasa NS3 (aptámeros de ARN), como el sistema de expresión del aptámero G9 en células HeLa en el que las células son transformadas con plásmidos de expresión para el complejo proteasa de serina NS3/4A, para una región de la poliproteína viral (sustrato) v para un conjugado aptámero-ribozima HDV (inhibidor) en el que la secuencia del aptámero se inserta en el brazo IV no funcional de la ribozima HDV, lo cual permite obtener estructuras de ARN estable de las que se seleccionan aquellas que interfieren específicamente la actividad enzimática de NS3 (15).

Actualmente existen algunos compuestos con propiedades inhibidoras de NS3 en diferentes fases de prueba, tanto in vitro como in vivo (BILN 2061, VX-950, SCH 503034, SCH 6) (8), que podrían funcionar como antivirales específicos. Sin embargo, en el desarrollo de nuevos tratamientos debe tomarse en cuenta la alta tasa de variabilidad genética que caracteriza a este virus y que recientemente se ha remarcado por las diferencias halladas en el dominio de proteasa de NS3 que hasta hace poco se consideraba invariable (16); este hecho es importante ya que la presencia de partículas virales genéticamente distintas pueden escapar al efecto del inhibidor y generar resistencia al tratamiento. La resistencia al tratamiento por variabilidad genética se ha observado en virus como el de

inmunodeficiencia humana y es de preverse en virus con mayor tasa de variabilidad como el VHC.

CONCLUSIÓN

A casi dos décadas de haber sido caracterizado el VHC, la variedad y complejidad de investigaciones realizadas sobre este virus han permitido conocer parte de su biología molecular, la persistencia que

establece y la amplia gama de procesos celulares que interfiere, limita o mimetiza en el individuo, pero no ha sido posible establecer un modelo experimental que permita desarrollar un tratamiento específico y menos tóxico que reemplace las costosas y prolongadas alternativas actuales. Las investigaciones realizadas sobre la proteasa de serina NS3 del VHC han permitido acumular información

importante sobre esta proteína a la que inicialmente se le atribuía la función única de procesar la poliproteína viral y que actualmente se sabe que también presenta actividad autoproteolítica (17), conocimientos que manifiestan la complejidad de esta proteína pero al mismo tiempo representan nuevas alternativas en el desarrollo de estrategias antivirales contra la infección por VHC.

REFERENCIAS

- Lohmann V, Körner F, Koch JO, Herian U, Thellmann L, Bartenschlager R (1999) Replication of subgenomic Hepatitis C virus RNAs in a hepatoma cell line. Science 285:110-113.
- Pawlotsky JM (2004) Pathophysiology of Hepatitis C virus infection and related liver disease. Trends Microbiol 12:96-101.
- Ramos de andrade junior D, Ramos de andrade D (2004)
 The influence on the human genome on chronic viral
 Hepatitis outcome. Rev Inst Med tro S Paulo 46:119-126.
- Galossi A, Guarisco R, Bellis L, Puoti C (2007) Extrahepatic manifestations of chronic HCV infection. J Gastrointestin Liver Dis 16:65-73.
- 5. Houghton M, Abrignani S (2005) Prospects for a vaccine against the hepatitis C virus. Nature 436:961-965.
- 6. Kim JL, Morgenstern KA, Lin C, Fox T, Dwyer MD, Landro JA, Chambers SP, Markland W, Lepre CA, O'Malley ET, Harbeson SL, Rice CM, Murcko MA, Caron PR, Thomson JA (1996) Crystal structure of the Hepatitis C virus NS3 protease domain complexed with a synthetic NS4A cofactor peptide. Cell 87:343-355.
- Dubuisson J (2007) Hepatitis C virus proteins. World J Gastroenterol 13:2406-2415.
- Guillou-Guillemette HL, Vallet S, Gaudy-Graffin C, Payan C, Pivert A, Goudeau A, Lunel-Fabiani F (2007) Genetic diversity of the Hepatitis C virus: Impact and issues in the antiviral therapy. World J Gastroenterol 13:2416-2426.
- 9. Chayama K, Tsubota A, Kobayashi M, Okamoto K, Hashimoto M, Miyano Y, Koike H, Kobayashi M, Koida I, Arase Y, Saitoh S, Suzuki Y, Murashima N, Ikeda K, Kumada H (1997) Pretreatment virus load and multiple amino acid substitutions in the interferon sensitivity-determining region predict the outcome of interferon treatment in patients with chronic genotype 1b hepatitis C virus infection. Hepatology 25:745-749.

- Taylor DR, Puig M, Darnell MER, Mihalik K, Feinstone SM (2005) New antiviral pathway mediates Hepatitis C virus replicon interferon sensivity through ADAR1. J Virol 79:6291-6298.
- Huang H, Sun F, Owen DM, Li W, Chen Y, Gale Jr. M, Ye J (2007) Hepatitis C virus production by human hepatocytes dependent on assenbly and secretion of very lowdensity lipoproteins. Proc Nat Acad Sci 14:5848-5853.
- Wakita T, Pietscmann T, Kato T, Date T, Miyamoto M, Zhao Z, Murthy K, Habermann A, Kräusslich H, Mizokami M, Bartenschlager R, Liang TJ (2005) Production of infectious Hepatitis C virus in tissue culture from a cloned viral genome. Nature med 11:791-795.
- 13. Komoda Y, Hijikata M, Sato S, Asabe S, Kimura K, Shimotono K (1994) Substrate requirements of Hepatitis C virus serine proteinase for intermolecular polypeptide cleavage in Escherichia coli J Virol 68:7351-7357.
- 14. Chung V, Carroll AR, Gray NM, Parry NR, Thommes PA, Viner KC, D'Souza EA (2005) Development of cell-based assays for in vitro characterization of Hepatitis C virus NS3/4A protease inhibitors. Antimicrob Ag and Chem 49:1381-1390.
- Nishikawa F, Kakiuchi N, Funaji K, Fukuda K, Sekiya S, Nishikawa S (2003) Inhibition of HCV NS3 protease by RNA aptamers in cells. Nucleic Acids Research 31:1935-1943.
- Vallet S, Gouriou S, Nousbaum JB, Legrand-Quillien MC, Goudeau A, Picard B (2005) Genetic heterogeneity of the NS3 protease gene in Hepatitis C virus genotype 1 from untreated infected patients. J Med Virol 75:528-537.
- Kou YH, Chang MF, Wang YM, Hung ZM, Chang SC (2007) Differential requirements of NS4A for internal NS3 cleavage and polyprotein processing of Hepatitis C virus J Virol 81: 7999-8008.

REB 27(3): 85-92, 2008

PEROXISOMAS: ORGANELOS POLIFACÉTICOS*

Rocío Salceda Sacanelles

RESUMEN

Los peroxisomas son organelos derivados del retículo endoplásmico que llevan a cabo una gama de actividades metabólicas en respuesta a cambios ambientales y demanda celular. Alteraciones en la biogénesis de los peroxisomas, son la causa de diversos padecimientos en el ser humano que llevan a la muerte durante la infancia. Los cambios en el contenido de enzimas y en el número de peroxisomas se mantienen a través de una dinámica y compleja maquinaria de proteínas. Esta revisión presenta las diversas funciones de estos organelos, así como los recientes progresos en su biogénesis, proliferación, degradación y su relación con las mitocondrias.

PALABRAS CLAVE: peroxisomas, biogénesis, peroxinas, transporte de proteínas, glioxisoma, glucosoma, ubiquitinación, beta-oxidation, mitocondria.

ABSTRACT

Peroxisomes are endoplasmic reticulum-derived organelles in eukaryotic cells, which have diverse metabolic roles in response to environmental changes and cellular demands. The functional importance of peroxisomes in humans is highlighted by peroxisome biogenesis disorders. The accompany changes in enzyme content or abundance of peroxisomes are accomplished by dynamically operating membrane- and matrix-protein transport machineries. This review addresses recent progress in understanding peroxisomal biogenesis, proliferation, degradation, as well as its relation with mitochondria.

KEY WORDS: peroxisome biogenesis, peroxin, protein transport import, ubiquitination, glycolisis, glyoxalate, beta-oxidation, mitochondria.

INTRODUCCIÓN

células eucariontes caracterizan por separar sus diferentes vías metabólicas en compartimientos discretos aislados por membranas, denominados organelos. Los peroxisomas son organelos de una sola membrana, se observan como vesículas circulares u ovoides con diámetro de 0.1 a 1.0 µm. Se caracterizan por inclusiones cristalinas derivadas de una enorme concentración de enzimas que llevan a cabo una variedad de reacciones metabólicas, cuyas actividades se ajustan de acuerdo a las necesidades, estados de desarrollo v tipos celulares.

TIPOS DE PEROXISOMAS Y FUNCIÓN

Desde su primera descripción, hecha

por Rhodin en 1954, así como su caracterización bioquímica, llevada a cabo por de Duve en 1966, se identificó la existencia de distintos tipos de peroxisomas, llamados en conjunto microcuerpos (1); dentro de éstos se han caracterizado los gluosomas, glioxisomas y los peroxisomas propiamente dichos.

Los glucosomas son característicos de cinetoplástidos (como el tripanosoma), pueden verse como una rama de los peroxisomas con funciones adicionales, específicamente la glucólisis y reutilización de purinas. La presencia de enzimas glucolíticas para la conversión de glucosa en 3-fosfoglicerato es lo que distingue a los glucosomas. No existe síntesis neta de ATP en el glucosoma, pero el 3-fosfoglicerato es metabolizado

posteriormente en el citoplasma generando ATP por fosforilación a nivel de substrato. La regeneración de equivalentes reductores necesarios para la glucólisis se obtiene por una lanzadera entre el glucosoma y la mitocondria (2).

Por su parte, los glioxisomas se caracterizan por la presencia de una serie de enzimas que llevan a cabo el ciclo del glioxilato, se encuentran principalmente en plantas, particularmente en las semillas oleaginosas, en las que juegan un papel fundamental en la utilización de las reservas para iniciar la germinación (3). En esencia, el ciclo del glioxilato es una forma modificada del ciclo de Krebs, que ocurre en la mitocondria, el cual se salta los pasos de descarboxilación permitiendo la

^{*}Recibido: 17 de junio de 2008 Aceptado: 9 de septiembre de 2008

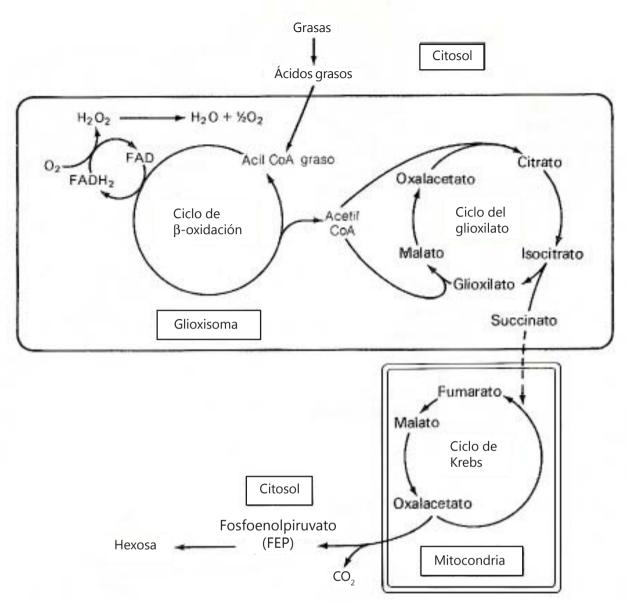


Figura 1. Conversión gluconeogénica de grasas en azúcares durante la germinación y crecimiento de las semillas. Los ácidos grasos entran al glioxisoma y son convertidos a acetil CoA la cual entra al ciclo del glioxalato, el succinato producido en este ciclo es transferido a la mitocondria, en donde es convertido a oxaloacetato en el ciclo de Krebs. El oxaloacetato sale al citoplasma, donde se convierte en azúcares. Notese que las reacciones asociadas a la beta- oxidación llevan a la producción de H₂O, que es eliminado por la actividad de la catalasa.

producción neta de esqueletos de carbono y no la pérdida como CO₂, participando así en la gluconeogénesis (Fig. 1).

86

La matriz de los peroxisomas contiene más de 50 enzimas diferentes relacionadas con distintas vías metabólicas (Tabla 1) (4). Dos vías altamente conservadas en los peroxisomas son la beta-oxidación de los ácidos grasos y el metabolismo del peróxido de hidrógeno (H₂O₂). En la

mayoría de los organismos los peroxisomas contienen un número de oxidasas (como la urato oxidasa requerida en el catabolismo de purinas) que reducen el oxígeno a través de oxidar a una variedad de substratos (lactato, glicolato, Daminoácidos, ácido úrico, etc.).

Además, participan en la alfaoxidación de ácidos grasos específicos, catabolismo de poliaminas, prostaglandinas, eicosanoides y en la biosíntesis de esteroles y plasmalógenos (que contribuyen a más del 80% del contenido de fosfolípidos en la materia blanca del cerebro). También están implicados en el metabolismo de radicales libres de oxígeno y óxido nítrico, así como en la señalización intra e intercelular (como el factor de transcripción de tipo receptor nuclear que participa en la proliferación peroxisomal, PPAR). Asimismo, estos organelos participan en los pasos

TABLA 1				
Enzimas y vías metabólicas en diferentes tipos de microcuerpos.*				

	Mamíferos	Levadura	Semilla	Tripanosoma
Beta-oxidación de ácidos grasos	s +	+	+	+
Catalasa	+	+	+	+
Síntesis de éter-fosfolípidos	+			+
Glucólisis				+
Ciclo del glioxilato		+	+	
Síntesis de isoprenoides	+		?	?
Reutilización de Purinas				+

^{*} Actividad enzimática presente (+), ausente (--), se desconoce (?).

finales en la síntesis de penicilina y reacciones de foto respiración en las hojas de las plantas.

En las células de mamíferos los peroxisomas se mueven continuamente en el citoplasma a través de microtúbulos y proteínas motoras: dineinas y cinesinas; se desconoce si los filamentos de actina participan en su desplazamiento.

BIOGÉNESIS

Formación de vesículas.

El origen de los peroxisomas ha sido controversial, aunque se consideran organelos autónomos que resultan de la herencia materna. Estudios bioquímicos recientes en los que se ha utilizado microscopía fluorescencia, proporcionaron evidencia de que el retículo endoplásmico (RE) es la fuente de membranas durante la formación de novo de los peroxisomas. La proteína Pex3 se observó que se concentra en distintos puntos del RE, formando un subcompartimiento dinámico: el retículo preperoxisoma. Múltiples observaciones demuestran que proteínas de la membrana peroxisomal son dirigidas al RE, secretadas en

sitios especializados e incorporados a vesículas que se separan del RE generando precursores de peroxisomas (preperoxisomas), las peroxinas se fusionan con estas vesículas permitiendo su crecimiento y maduración (Fig. 2), (5).

La introducción de un gen de síntesis de membrana peroxisomal en mutantes de levadura y células de mamífero, induce la formación de novo del oganelo, por lo que ahora se consideran como entidades semi autónomas que consituyen parte de la vía secretora.

La preservación de las funciones peroxisomales se debe a que las células desarrollan mecanismos moleculares que permiten mantener la población de estos organelos durante la división celular. El número de peroxisomas es regulado por varios procesos: formación a partir del RE, fusión de peroxisomas (aunque no se conoce el mecanismo), fisión que lleva a la formación de dos peroxisomas y pexofagia (degradación específica de peroxisomas), que ocurre cuando la célula se libera de condiciones que llevan a la proliferación de éstos.

La división del peroxisoma ocurre por elongación o crecimiento de éste, constricción de la membrana y fisión. Varias proteínas participan en la

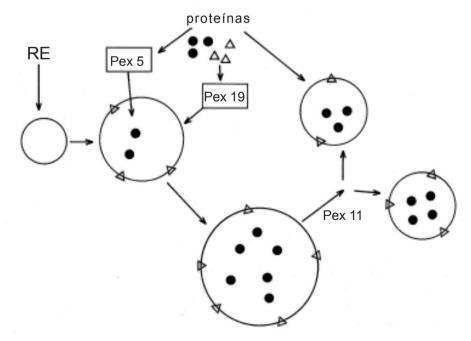


Figura 2. Biogénesis de peroxisomas. Vesículas peroxisomales se originan en regiones especializadas del retículo endoplásmico (RE). El crecimiento de estas vesículas ocurre por fusión con otras vesículas preperoxisomales, con la participación de Pex11, y a través de la incorporación de proteínas a la membrana y matriz del organelo.

biogénesis de este organelo a las que en general se les llama peroxinas (Pex) (5). La saturación de las proteínas de la matriz, promueve que la Pex16 inicie la biosíntesis y movimiento de lípidos de la membrana que permite su crecimiento.

La proteína Pex11 participa en la elongación y proteínas relacionadas a la dinamina (GTPasa grande que participa en muchas reacciones de escisión de vesículas) catalizan la fisión. Además, la Pex11 participa en el eficiente proceso de transporte a través de la membrana y la importación de proteínas a la matriz del peroxisoma. La GTPasa Rho1 participa en la organización de actina en la membrana peroxisomal, que permite la elongación y posterior fisión del mismo; el evento de fisión se asocia a proteínas relacionadas a la dinamina, Vps1 y Dnm1, que también participan en la fisión mitocondrial.

Otras peroxinas están implicadas en la regulación del tamaño y número de peroxisomas (Pex30, Pex31, Pex32), la carencia de Pex30 lleva a un aumento en el número, mientras que la ausencia de Pex31 o Pex32, lleva a un amento en el tamaño, aunque el mecanismo se desconoce.

PROLIFERACIÓN

Una característica de los peroxisomas es su capacidad de proliferar y multiplicarse, o ser degradados en respuesta a estímulos nutricionales o ambiente extracelular. Así, en las células de mamífero, su número y tamaño incrementan notablemente cuando se añaden activadores del receptor PPARa, que pertenece a la familia de factores de transcripción nuclear, el cual se activa por ligandos lipídicos y regula la expresión de genes asociados al metabolismo de lípidos y la diferenciación de adipocitos (6). La proliferación de peroxisomas también se induce por la exposición de ciertos xenobióticos que activan la transcripción de genes que participan en la función del organelo.

HERENCIA

Los peroxisomas son organelos altamente dinámicos que presentan cambios en su forma y tamaño. La distribución de estos organelos, particularmente durante la división celular, requiere de su movimiento a lo largo del citoesqueleto, el cual se efectúa por proteínas motoras. En levaduras, cuando la yema se hace visible los peroxisomas se reúnen en la corteza de la célula madre y son rápidamente transportados a la yema, esto ocurre a través de filamentos de actina y la fuerza motriz se realiza por una miosina de tipo V, Myo2; la mitad de los peroxisomas se transportan a la célula hija y el resto permanecen fijos a la superficie de la célula madre. Las proteínas Inp1 e Inp2 participan en la retención y movilidad de los peroxisomas, respectivamente. La Inp1 es una proteína periférica de la membrana del peroxisoma que se une a la membrana plasmática y permite la retención del organelo a la célula madre. La Inp2 es una proteína integral de la membrana que funciona como un receptor de peroxinas que reclutan a la miosina (5).

IMPORTACIÓN DE PROTEÍNAS AL PEROXISOMA

Debido a que los peroxisomas no contienen DNA, todas las proteínas de la membrana del peroxisoma son codificadas en el núcleo, sintetizadas en ribosomas libres en el citoplasma y transportadas al interior del peroxisoma totalmente plegadas y aún en forma oligomérica.

Existen al menos dos tipos de señal para dirigir a las proteínas al peroxisoma, las proteínas de membrana de clase I y II; las primeras requieren de Pex19, que funciona como chaperona y receptor para la importación de estas proteínas. Las

proteínas de clase II no se dirigen directamente al peroxisoma, viajan al RE por una ruta desconocida y después se insertan en la membrana.

Las proteínas de la matriz son transportadas a través de cuatro etapas: son identificadas por un receptor citoplásmico que las guía a un sitio de anclaje en la membrana peroxisomal, después de su traslocación, el complejo se separa y el receptor regresa al citoplasma (7).

La mayoría de las proteínas de la matriz presentan un tipo de señal (PTS1) en el C-terminal que consiste de un tripéptido (ser/ala, lis/arg/his, leu), secuencia que es reconocida por el receptor soluble, Pex5. El otro tipo de señal (PTS2) corresponde a un nonapéptido con una secuencia consenso (arg/gln, leu/val/ile)-X5, (his/gln), (leu/ala) cercana al N-terminal de la proteína, que es reconocida por Pex7. Alternativamente, un número pequeño de proteínas puede importarse independientemente de estas dos PTS.

El receptor soluble, Pex5, de la señal PTS1 es el principal factor de reconocimiento de esta señal destinada a los peroxisomas. El ciclo de este receptor involucra reconocimiento de la molécula cargo en el citosol, anclaje del complejo receptor-cargo a la membrana, la liberación del cargo en la matriz y translocación del receptor hacia el citosol (Fig. 3).

El complejo de anclaje de la maquinaria de importación en la membrana peroxisomal consiste de tres peroxinas: Pex13, Pex14 y Pex17; que se piensa forman un poro transitorio en la membrana en el que Pex14 es el sitio de entrada del receptor al complejo.

El mecanismo de translocación se desconoce, una vez que la proteína se libera en la matriz, Pex5 es translocado al citoplasma. Estudios en sistemas libres de células y utilizando células silvestres y mutantes, demostraron que Pex5 es importado y exportado por

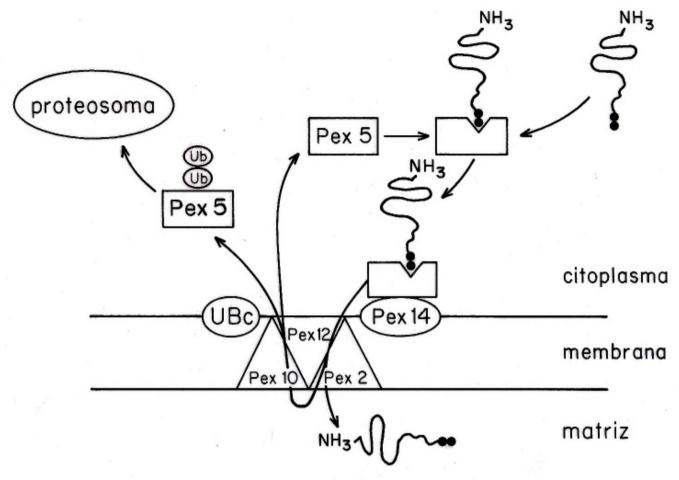


Figura 3. Importación de proteínas a la matriz del peroxisoma. El receptor Pex5 reconoce y asocia a las proteínas con la señal PTS, el complejo se ancla a varias proteínas, entre ellas Pex14 y se liberan las proteínas PTS en la matriz del peroxisoma. Pex5 puede monoubiquitinarse y ser exportado nuevamente al citoplasma por un mecanismo dependiente de ATP, mediado por Pex1 y Pex6. Adicionalmente, Pex5 puede poliubiquitinarse en la membrana siendo así etiquetado para su degradación en el proteosoma.

múltiples ciclos en el peroxisoma, lo que ocurre de manera independiente de ATP pero dependiente de temperatura. Por el contrario, la liberación de Pex5 al citoplasma requiere de ATP, y Pex1 y Pex6 son las proteínas motoras de esta translocación (8). Pex1 y Pex6 son miembros de una gran familia de ATPasas asociadas con varias actividades celulares (AAA) que incluyen el transporte vesicular, reparación de ADN y localización de la GTPasa Rho1. Se piensa que el pegado e hidrólisis de ATP inducen cambios conformacionales en las peroxinas AAA que generan la fuerza motriz que empuja a Pex5 hacia fuera del peroxisoma.

Más interesante aún, los receptores de PTS, Pex5, Pex18 y Pex20 son ubiquitinados. Pex5 puede modificarse por mono ubiquitinación, la cual constituye una señal de exportación hacia el citoplasma. La ubiquitina se activa de forma dependiente de ATP y la hidrólisis de otro ATP por Pex1 y Pex6 se requiere para la separación del receptor ubiquitinado de la membrana. Alternativamente, Pex5 puede poliubiquitinarse, lo que ocurre exclusivamente en la membrana peroxisomal; la poliubiquitinación requiere la actividad de las enzimas Ubc4p, Ubc5 y Ubc1 y marca al receptor para su degradación en el proteosoma (Fig. 3) (7).

PEXOFAGIA

La degradación selectiva de peroxisomas ocurre vía un proceso relacionado con la autofagia llamado pexofagia que se ha estudiado ampliamente en levaduras. Existen dos formas de pexofagia: macro y micropexofagia (9). La primera ocurre únicamente en peroxisomas maduros. Los peroxisomas marcados para degradación son secuestrados por varias capas de membranas, de origen desconocido, que constituyen el pexofagosoma que se fusiona con la vacuola, en levaduras, y es degradado por las enzimas hidrolasas.

En la micropexofagia, la membrana vacuolar desarrolla profusiones en su membrana cercana 90 Salceda Sacanelles R

a los peroxisomas y los engloba. Este mecanismo parece requerir de más de 14 proteínas, muchas de las cuales participan también en la macropexofagia.

INTERRELACIÓN CON LA MITOCONDRIA

Bajo condiciones en que la biogénesis de peroxisomas es defectuosa, se han observado alteraciones funcionales y estructurales de la mitocondria; por ello, se piensa que cambios en la relación entre estos organelos puede estar asociada a la degeneración celular y enfermedades en el ser humano.

Los peroxisomas y mitocondrias son organelos de diferente origen evolutivo. La mitocondria, adicional a su función en la conversión de energía, participa en el control del estado redox de la célula, la homeostasis del calcio y en la apoptosis (10). A pesar de las claras diferencias entre estos organelos, diversos estudios indican que comparten ciertas similitudes morfológicas y funcionales: ambos organelos adoptan una variedad de formas y comparten componentes de su maquinaria de división.

Mientras que la mitocondria realiza funciones específicas (producción de ATP), los peroxisomas, se considera, tienen múltiples funciones. La homeostasis de los lípidos en la célula se mantiene por la oxidación de ácidos grasos y acumulación de triglicéridos en la que participan ambos organelos.

En la mitocondria, el primer paso de la beta-oxidación de ácidos grasos es catalizada por varias deshidrogenasas unidas a FAD, las cuales donan sus electrones a la cadena respiratoria. La beta-oxidación en los peroxisomas no participa en la formación de ATP, la energía se disipa como calor y por tanto contribuye a la termogénesis; por su parte donan los electrones directamente al oxígeno molecular

formando H₂O₂, que se rompe en O₂ y agua por la actividad de la catalasa. Más aún, una gran interacción metabólica existe entre los peroxisomas, mitocondrias y cloroplastos en las hojas de las plantas en donde los peroxisomas convierten el glicolato, formado en la fotosíntesis, en glicina y serina lo que se conoce como foto respiración (11).

células animales los peroxisomas y las mitocondrias presentan sistemas de beta-oxidación de lípidos, los cuales tienen diferente especificidad de sustratos. Los peroxisomas oxidan ácidos grasos de cadena muy larga, ácidos dicarboxílicos de cadena larga, precursores de ácidos biliares, prostaglandinas, leucotrienos y ácidos grasos poli insaturados; mientras que la mitocondria cataliza la beta-oxidación de ácidos grasos de cadena menor como: el palmitato, oleato y linoleato.

La cadena respiratoria de la mitocondria es el sitio principal de producción de radicales libres. La formación de radicales superóxido ocurre en el complejo I (NADH- coQ reductasa) así como en el complejo III (citocromo c oxidasa) de la cadena respiratoria. El superóxido puede rápidamente convertirse en especies reactivas de oxígeno (ERO) más potentes (H₂O₂, radicales hidroxilo, peroxinitrito), los cuales pueden actuar sobre diferentes moléculas llevando a la inactivación de proteínas. lípidos y DNA en la mitocondria u otras regiones de la célula.

La mitocondria contiene moléculas antioxidantes (glutatión, NADH, tioredoxina) y enzimas que minimizan el daño oxidativo a partir de la descomposición de ERO (superóxido dismutasa dependiente de manganeso (Mn-SOD), glutatión reductasa, peroxidasa).

En los peroxisomas, las numerosas oxidasas, junto con el citocromo B5 y un citocromo P-450, producen ERO (H₂O₂, radicales superóxido, radicales hidroxilo y óxido nítrico) (12). Se estima que cerca del 35% del H₂O₂ producido en el hígado de la rata se genera por las oxidasas de peroxisomas, constituyendo 20% del total del consumo de oxígeno. Estos organelos también tienen múltiples enzimas antioxidantes (catalasa, Cu-Zn-SOD, glutatión peroxidasa).

Mitocondrias y peroxisomas comparten distintas vías metabólicas y la maquinaria de fisión; además, recientes estudios demostraron que una proteína unida a la membrana externa mitocondrial se incorpora en pequeñas vesículas que fusionan su contenido a los peroxisomas, indicando nuevas rutas de comunicación entre ellos (13).

Por lo anterior, resulta relevante el hecho de que la mitocondria pueda iniciar la apoptosis celular. En este sentido, recientemente se han descubierto nuevas funciones de los peroxisomas en el desarrollo, diferenciación y morfogénesis (10, 12) y defectos en este organelo están conectados con carcinogénesis, neurodegeneración y envejecimiento (10).

PATOLOGÍAS

La importancia de los peroxisomas resalta por los desordenes en su biogénesis que llevan a alteraciones en humanos que incluyen el síndrome de Zellweger, enfermedad infantil de Refsum y adrenoleucodistrofia neonatal. Se conocen al menos 20 enfermedades peroxisomales de origen genético con manifestaciones clínicas y bioquímicas heterogéneas, las que se caracterizan por defectos en la biogénesis o deficiencia en alguna enzima, como el caso de la urato oxidasa que causa la gota. Ambos tipos presentan defectos similares, la mayoría presentan daño neurológico y llevan a la muerte a temprana edad (14).

Trece grupos complementarios de heterogeneidad genética se han identificado en los desordenes de la biogénesis de peroxisomas, en la que más de 30 peroxinas se requieren. Análisis de estos grupos complementarios reveló que la causa más común de desórdenes en la biogénesis peroxisomal son mutaciones en Pex1.

EVOLUCIÓN

Para los peroxisomas, se ha propuesto un origen endosimbiótico; mas, estudios recientes sugieren que se derivaron de la membrana plasmática, de manera semejante al RE (15). Se ha especulado que, inicialmente, los peroxisomas pudieron llevar a cabo función protectora una destoxificación de oxígeno y que fueron previos a la mitocondria. Conforme a lo anterior, las enzimas de la beta-oxidación de ácidos grasos son completamente peroxisomales en plantas y hongos.

Análisis del genoma del parásito *Plasmodium falciparum* no ha revelado la presencia de genes PEX, sugiriendo que no existen peroxisomas en este protozoario. En contraste, varios

genes PEX se han identificado en tripanosomátidos (16). Verdaderos homólogos de proteínas semejantes a la dinamina se desconocen en Saccharomyces. Proteínas participan en los procesos de endocitosis no tienen parecido alguno a la dinamina; es posible que los eucariontes evolucionaran construyendo la dinamina a través de reclutar dominios de una proteína primitiva semejante a ésta. Puede especularse que por duplicación y divergencia de genes, estas proteínas evolucionaron en distintos grupos con distintas funciones en diversos procesos celulares.

CONCLUSIONES

Si bien en los últimos 20 años se han realizado grandes avances en el estudio de los peroxisomas, uno de los retos que se presentan es dilucidar los mecanismos moleculares de inserción de proteínas de membrana del organelo; de particular interés es conocer los mecanismos de gemación de peroxisomas a partir del RE y la fisión del peroxisoma maduro, así como la identificación de nuevos componentes de la pexofagia, lo que

permitirá entender la homeostasis de peroxisomas.

La presencia de diversas vías metabólicas en glucosomas y glioxisomas ofrece la oportunidad de estudiar los genes participantes y señales que los regulan, así como su biogénesis.

Asimismo, el proceso que mantiene la comunicación con otros organelos, en particular la mitocondria y el cloroplasto, está lejos de ser comprendido. La mitocondria y el peroxisoma están unidos metabólicamente, lo que requiere una coordinación entre la biogénesis, recambio y herencia, que puede estar asociada a la degeneración celular observada en distintas enfermedades. El estudio de la interrelación de estos dos organelos y su implicación funcional ampliará el conocimiento de la dinámica celular y permitirá avances en aspectos clínicos.

AGRADECIMIENTOS Apoyado parcialmente por PAPIME / UNAM EN217504.

REFERENCIAS

- 1. de Duve C (1996) The birth of complex cells. Sci Am 274: 50-57.
- 2. Opperdoes FR (1987) Compartmentation of carbohydrate metabolism in trypanosomes. Annu Rev Microbiol 41: 128-151.
- 3. Eastmond PJ, Graham A (2001) Re-examining the role of the glyoxylate cycle in oilseeds. Trends Plant Sci 6: 72-77.
- 4. Wanders RJA, Waterham HR (2006) Biochemistry of mammalian peroxisomes revisited. Annu Rev Biochem 75: 295-332.
- Fagarasanu A, Fagarasanu M, Rachubinski RA (2007) Maintaining peroxisome populations: A story of division and inheritance. Ann Rev Cell Dev Biol 23: 321-344.

- Kliewer SA, Umesono K, Noonan DJ, heyman RA, Evans RM (1992) Covergence of 9-cis retinoic acid and peroxisome proliferators signalling pathways through heteromer formation of their receptors. Nature 358: 771-774.
- 7. Platta HW, Erdman R (2007) Peroxisomal dynamics. Trends Cell Biol 17: 474- 484 (3).
- 8. Gouveia AM, Guimaraes CP, Oliveira ME, Reguenga C, Sa-Miranda, Azevedo JE (2002) Characterization of the peroxisomal cycling receptor Pex5p, using a cell-free in vitro import system. J Biol Chem 278: 226-232.
- 9. Sakai Y, Oku M, van der klei IJ, Kiel JA (2006) Pexophagy: Autophagic degradation of peroxisomes. Biochem Biphys Acta 1763: 1767-1775.

92

- 10. Schrader M, Yoon Y (2007) Mitochondria and peroxisomes: are the "big brother" and the "little sister" closer than assumed? BioEssays 29: 1105-1114.
- 11. Reumann S, Weber AP (2006) Plant peroxisomes respire in the light: some gaps of photorespiratory C (2) cycle have become filled-others remain. Bichim Biophys Acta 1763: 1496-1510. (30 de 4).
- 12. Schrader M, Fahimi HD (2006) Peroxisomes and oxidative stress. Bichim Biophys Acta 1763: 1755-1766.
- 13. Neuspiel M, Schauss AC, Braschi E, Zunino R, Rippstein P, Rachubinski RA, Andrade-Navarro MA, McBride HM (2008) Cargo-selected tansport from the mitochondria to peroxisomes is mediated by vesicular carriers. Curr Biol 18: 102-108.

- 14. Wanders RJ (2004) Metabolic and molecular basis of peroxisomal disorders: a review Am J Med Genet 126A: 355-375.
- Schluter A, Ripp R, Fourcade S, Mandel JL, Poch O, Pujol A (2006) The evolutionary origin of peroxisomes: An ER-peroxisome connection. Mol Biol Evol 23: 838-854.
- Flaspohler JA, Rickoll WL, Beverley SM, Parsons M (1997) Functional identification of a Leishmania gene related to the peroxin2 gene reveals common ancestry of glycosomes and peroxisomes. Mol Cell Biol 17: 1093-1101.

EL FANTÁSTICO MUNDO DE LA PROTEÍNA BCI-2*

Amando Luna-López, Norma Edith López-Diazguerrero, Viridiana Yazmín González-Puertos, Francisco Triana-Martínez, Mina Königsberg Fainstein

RESUMEN

Bcl-2 es una proteína que tradicionalmente se ha relacionado con la prevención de la muerte celular programada o apoptosis. Sin embargo, en los últimos años se le han adjudicado otras funciones fisiológicas como son la protección contra el estrés oxidativo, el mantenimiento de la homeostasis del calcio y la regulación del ciclo celular. Todo ello le convierte en una molécula de supervivencia celular. En este artículo se discutirán algunas de esas funciones, se describirá el promotor de Bcl-2 y se mencionarán algunos de los mecanismos que regulan su expresión.

PALABRAS CLAVE: Apoptosis, membrana mitocondrial, supervivencia celular, estrés oxidativo, retículo endoplásmico.

ABSTRACT

Bcl-2 is a protein that has traditionally been related to programmed cell death or apoptosis prevention. However, in the last years other physiological functions for this protein have been described, such as oxidative stress damage prevention, calcium homeostasis preservation and cell cycle regulation, all these suggests that Bcl-2 is a molecule involved in cell survival. In this paper some functions of Bcl-2 will be described, as well as the Bcl-2 promoter and some mechanisms that regulate Bcl-2 expression.

KEY WORDS: Apoptosis, mitochondrial membrane, cell survival, oxidative stress, endoplasmic reticulum.

INTRODUCCIÓN

Así como todos los cuentos de hadas inician con "había una vez en un país muy lejano...", todos los artículos que tratan sobre la proteína Bcl-2 empiezan diciendo: "El gene bcl-2 fue originalmente descubierto como el oncogen responsable del linfoma folicular humano de células B, producido por la translocación cromosomal t(14;18), que yuxtapone el locus de bcl-2 (B-cell leukemia/ lymphoma-2) del cromosoma 18 con cadena pesada inmunoglobulina J del cromosoma 14 (Fig. 1). Debido a que la región codificante queda bajo el control del promotor de dicha inmunoglobulina, el resultado es una sobreexpresión excesiva de bcl-2 (1)".

Lo anterior se ha convertido en una frase que se transcribe sin pensar, sin

embargo, parte del postulado debería de ser analizado con más cuidado, en particular donde se menciona que *bcl-2* es un oncogen. La definición clásica de un oncogen es aquel que puede promover o permitir la proliferación celular descontrolada.

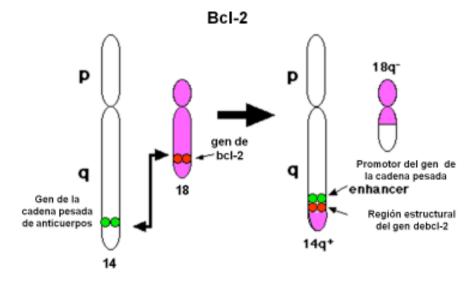
El caso de Bcl-2 es especial porque desde hace varios años se ha demostrado que su sobreexpresión no induce proliferación celular, sino que por el contrario, la retarda, puesto que prolonga la fase G1 del ciclo celular (2) e incluso puede promover que el ciclo se detenga permanentemente fomentando lo que se conoce como senescencia replicativa (3, 4).

No obstante, es cierto que Bcl-2 es una proteína de supervivencia celular. Esto significa que cuando hay altos niveles de dicha proteína, la célula hará todo lo posible por mantenerse viva, inducirá todo tipo de sistemas de defensa y detendrá el programa de muerte apoptótico, aun y cuando la célula se encuentre dañada genéticamente. Aquí es donde está el truco: la sobreexpresión de *bcl-2* es un arma de doble filo, ya que no es deseable para un organismo mantener sus células vivas a toda costa cuando contienen mutaciones que podrían ser perjudiciales.

Si además la célula dañada expresa algún oncogen importante que induzca proliferación, como *c-myc* o *k-ras*, la célula tendrá el camino libre para proliferar sin morirse, puesto que el tener altos niveles de Bcl-2 previene la muerte por apoptosis. En este caso la presencia de Bcl-2 sí permitiría que las células continuaran proli-ferando y eso perpetuaría el daño.

En los últimos años se han

^{*}Recibido: 7 de abril de 2008 Aceptado: 9 septiembre de 2008



LA TRANSLICACIÓN 14:18 EN
LINFOMA FOLICULAR DE CÉLULAS B
PROPORCIONA SUPERVIVENCIA CELULAR

Figura 1. TRANSLOCACIÓN 14,18. Translocación 14,18 del gene de la proteína Bcl-2, presente en el linfoma folicular de los linfocitos B según lo propuesto por Tsujimoto y colaboradores, 1987 (referencia 1).

empezado a comprender algunos de los mecanismos por los cuales Bcl-2 realiza su función de supervivencia (además de prevenir la apoptosis) como son la inducción de sistemas antioxidantes y la participación en la regulación del ciclo celular. En este artículo se discutirán algunas de esas funciones, así como los mecanismos de expresión de Bcl-2.

GENERALIDADES DE LA PRO-TEÍNA Bcl-2

Un artículo sobre Bcl-2 no puede menos que incluir la descripción clásica de esta proteína y de su familia relacionada con el fenómeno de la apoptosis.

La familia de Bcl-2 se divide en dos grandes grupos: el primero, el de las proteínas pro-apoptóticas que incluye a Bax, Bcl-Xs, Bak, Bid, Bad, Hrk, entre otras; y el segundo, en el que se ubican las proteínas antiapoptóticas: Bcl-2, Bcl-_{XL}, Bcl-w, A1, mcl-1, etc.

Se sabe que los miembros de la familia tienen hasta 4 dominios conservados llamados dominios homológos de Bcl-2 conocidos como BH1, BH2, BH3 y BH4. Una característica distintiva entre los dos grupos es que las proteínas antiapotóticas presentan generalmente los cuatros dominios, mientras que las pro-apoptóticas pueden tener de 1 a 3 dominios (Fig. 2 y Fig. 3) (5).

En particular, Bcl-2 es una proteína de 26 kDa que se encuentra anclada a las membranas externas de las cister-

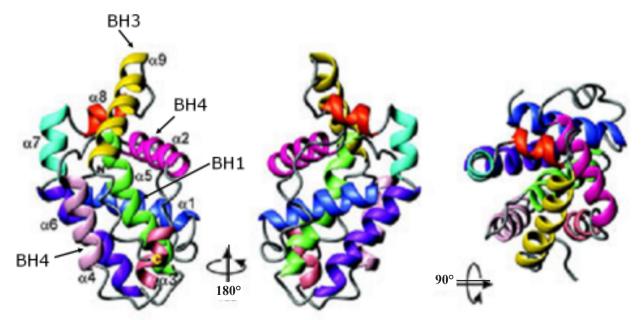


Figura 2. ESTRUCTURA PROPUESTA PARA Bcl-w. Esta estructura está basada en la determinación de cristalografía por rayos X, para otro miembro de la familia de Bcl-2 denominado Bcl-w. Se ha sugerido que la estructura para Bcl-2 sería muy parecida. Se observan los dominios BH1, BH2, BH3 y BH4 característicos de la familia de Bcl-2 con efecto pro-apoptótico. Los miembros anti-apoptóticos carecen del dominio BH4. (Figura modificada de Hinds y col. 2003, referencia 25).

nas nucleares, del retículo endoplásmico y a la externa mitocondrial. Sus funciones precisas en cada uno de estos sitios no han sido determinadas totalmente, pero su anclaje en la membrana mitocondrial es una característica que ha sido relacionada con su propiedad anti-apoptótica. Es bien conocido que la proteína Bcl-2 es una de los guardianes de la integridad de la membrana mitocondrial durante periodos de estrés y estímulos que generan la apoptosis, como son la exposición a radiación ionizante, el tratamiento con agentes quimioterapéuticos, el daño por isquemia/reperfusión, el daño por ausencia de suero y factores de crecimiento, entre otros.

En la regulación de la muerte celular, la proteína Bcl-2 actúa ya sea de manera independiente o interaccionando con otros miembros de la familia. Además, su actividad puede variar dependiendo del tipo de tejido y de varios factores a diferentes niveles como interacciones proteína-proteína, modificaciones post-

traduccionales y cambios en su estado de fosforilación, entre otras. La concentración relativa tanto de moléculas pro-apoptóticas como de anti-apoptóticas, puede modular el programa de muerte.

La manera en que la proteína Bcl-2 protege a la célula de la muerte no se conoce con exactitud, aunque parece que el sitio clave de acción está en la membrana externa mitocondrial en donde controla la permeabilidad membranal impidiendo la liberación del citocromo c (inicialmente denominado APAF-2) y del factor inductor de la apoptosis (AIF) a través del canal de aniones dependiente de voltaje (VDAC). Lo anterior evita que se forme el apoptosoma y se desencadene la cascada de caspasas, que son proteasas de cisteína efectoras de la apoptosis (6) (Fig. 4). Para una revisión más completa de las características de Bcl-2 y los miembros de su familia ver las referencias 5 y 6.

Cabe mencionar que la primera vez que se asoció a la proteína Bcl-2 con

una función anti-apotótica fue cuando se encontró que era homóloga al producto génico de ced-9 del nemátodo C. elegans. La familia de genes "ced" se relacionan con el proceso de apoptosis y de ahí su nombre: genes de muerte celular (del inglés cell death gene: ced). De esta familia, las proteínas que fomentan la muerte apoptótica son CED-4 y CED-3, homólogos de APAF-1 v la procaspasa 9 respectivamente, mientras que la proteína CED-9, que impide la muerte apoptótica, es homóloga de Bcl-2. Sin embargo, como estos hallazgos fueron posteriores a su participación en el linfoma folicular humano de células B, se mantuvo en nombre de Bcl-2 que nada tiene que ver con su función antiapoptótica.

Bcl-2 PROTEGE A LAS CÉLUAS DEL ESTRÉS OXIDATIVO

Dentro de las funciones menos conocidas de Bcl-2, se encuentra la protección contra el estrés oxidativo. Se ha demostrado que esta proteína

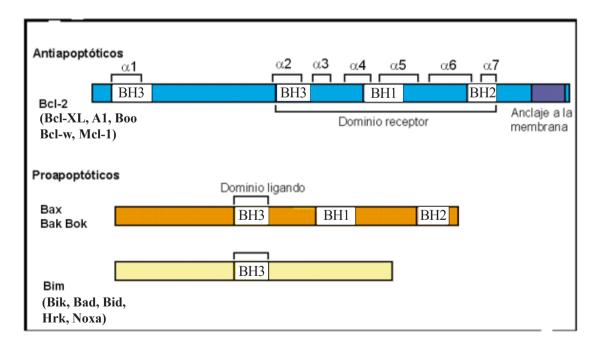


Figura 3. DOMINIOS ESTRUCTURALES DE LA FAMILIA DE Bcl-2. El dominio BH4 está confinado únicamente a las moléculas de prosupevivencia. A1, Bad, Bid y Noxa no poseen una región hidrofóbica en el segmento carboxilo-terminal (anclaje a la membrana). En las subfamilas de Bcl-2 y Bax, el dominio que es capaz de formar un poro que corresponde a las regiones α5 y α6 de la estructura de Bcl-XL. La homología en los dominios (BH) corresponde a 4 de las 7 α hélices reveladas por la estructura 3D de Bcl-XL.

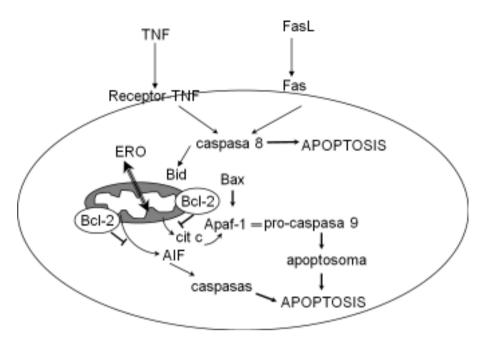


Figura 4. PARTICIPACIÓN DE Bcl-2 EN LA APOPTOSIS. La proteína Bcl-2 se encuentra anclada en la membrana externa mitocondrial. Cuando se encuentra como homodímero mantiene inhibidos a Apaf-1 y a la procaspasa 9 e impide la formación del apoptosoma. Cuando se libera el citocromo c, o cuando Bcl-2 forma un heterodímero con Bax, se libera el complejo formado por Apaf-1 y la procaspasa 9 y la célula inicia el proceso de apoptosis. Bcl-2 también se ha relacionado con impedir la salida del citocromo c (cit c) y del factor inductor de la apoptosis (AIF) de la mitocondria. Las especies reactivas de oxígeno (ERO) también pueden desencadenar la liberación del cit c.

tiene la capacidad de activar mecanismos antioxidantes que contrarrestan los niveles de especies reactivas de oxígeno (ERO) y disminuyen la lipoperoxidación (7).

Los primeros estudios sobre Bcl-2 y el estrés oxidativo llevaron inicialmente a proponer que dicha proteína podía evitar el daño oxidativo al contender directamente con las ERO, sin embargo, el grupo de trabajo de Halliwell (8) encontró que Bcl-2 no tiene una habilidad significativa en reducir los niveles de superóxido ni de peróxido de hidrógeno, pero si disminuye los niveles de peroxinitrito y otras especies reactivas de nitrógeno.

Además de los trabajos donde se observa su actividad antioxidante, existen otros estudios que apoyan el papel pro-oxidante de la proteína Bcl-2, cuya función al parecer es la de alertar o preparar a la célula a enfrentar un estrés oxidativo severo (9). Entre

ellos se encuentran los estudios de Degli-Esposti (10) en donde se transfectó el gen *bcl-2* en células de linfoma de Daudi y se reportó un aumento en la producción de peróxido de hidrógeno, aunado a un incremento en las defensas antioxidantes celulares. La sobreexpresión de Bcl-2 aumenta la actividad del proteosoma, los niveles de GSH y de la enzima superóxido dismutasa de CuZn (SOD1) (8).

Mucho se ha discutido si el papel de Bcl-2 es antioxidante o prooxidante, no obstante el mecanismo de acción de Bcl-2 en respuesta al estrés oxidativo aun no ha sido esclarecido. De manera interesante, también se ha reportado que la sobreexpresión de la proteína Bcl-2 puede promover la presencia de las enzimas de reparación del ADN, tales como la endonucleasa apurínica/apirimidínica. Esto implica que las células que sobreexpresan bcl-

2 podrían sobrevivir más tiempo con un incremento en la capacidad de reparación del daño en el ADN. Por ejemplo, al someter a un estrés oxidativo con óxido nítrico a la línea neuronal PC12 que sobreexpresa bcl-2, se encontró un bloqueo en la producción de las ERO y una disminución en la fragmentación del ADN nuclear y mitocondrial. Al parecer la proteína Bcl-2 tiene una posible participación en la regulación de la expresión o función de enzimas de reparación como la uracil-DNA glicosidasa, la endonucleasa, la DNA ligasa y la 8-oxoguanina DNA glicosidasa (11).

Bcl-2, EL CICLO CELULAR Y LA SENESCENCIA REPLICATIVA

Como se mencionó antes, de manera contraria a lo que se pensaba cuando Bcl-2 fue descubierta, se ha demostrado que no posee una actividad oncogénica dominante, pero sí tiene influencia sobre el ciclo celular.

Las propiedades de supervivencia celular de Bcl-2 y de algunos de los miembros de su familia han sido extensamente estudiadas y están relacionadas con sus efectos fisiológicos y su capacidad de regular el ciclo celular (12). Por lo que Bcl-2 pudiera tener un papel fundamental en los eventos de diferenciación, como lo es la supervivencia de aquellas células neuronales que han sido seleccionadas durante el desarrollo embrionario, así como, en la maduración de las células B.

Se sabe que la proteína Bcl-2 en células normales puede favorecer la transición del estado de progresión del ciclo celular al estado quiescente, o bien puede detener el ciclo en la fase G1 de manera transitoria. Sin embargo, los mecanismos de esta nueva función son poco comprendidos.

Por ejemplo, se ha encontrado que en las células de mamíferos que sobreexpresan bcl-2, presentan tanto sobrevivencia como retraso en la proliferación aún ante estímulos apoptóticos, con prolongación de la fase G0/G1 del ciclo celular. Cuando simultáneamente se expresa a Bcl-2 con la proteína pro-apotótica Bax, se revierte este fenómeno (2). Sin embargo, en un estudio realizado en una línea celular de cáncer ovárico, se encontró que la sobreexpresión de bcl-2 retrasó la progresión del ciclo celular promoviendo la acumulación de células en la fase S. Esta propiedad antiproliferativa se ha utilizado para explicar la actividad supresora de tumores de la proteína Bcl-2 (3). Como por ejemplo, los tumores hematopoyéticos como los linfomas foliculares B-CLL no-Hodgkin que normalmente sobreexpresan bcl-2, son de bajo grado y contienen un elevado número de células detenidas en estado G1.

Aunque el mecanismo exacto por el cual actúa sobre el ciclo celular aun se desconoce, se he sugerido que Bcl-2 pueda retrasar la entrada al ciclo por el incremento de los niveles de p27 y de un miembro de la familia de Rb como es p130. Cuando aumenta p130, esta molécula se une a E2F4 formando un complejo que impide la transcripción de E2F1 necesaria para la progresión del ciclo celular (12) (Fig. 5).

Se ha reportado que la proteína Bcl-2 no sólo participa en la inducción del estado quiescente, sino que también del estado senescente.

La senescencia replicativa es un estado en el cual las células quedan detenidas permanentemente en la fase G0/G1 del ciclo, por lo que son incapaces de continuar dividiéndose. Además, presentan algunas características distintivas como la morfología grande y aplanada, el aumento en el número de vacuolas en el citoplasma, la expresión de β-galactosidasa y la resistencia a los estímulos apoptóticos. Para mayores

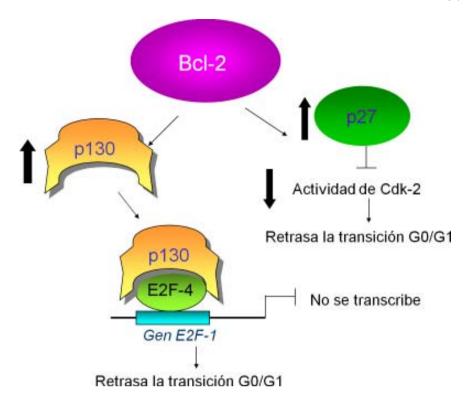


Figura 5. PARTICIPACIÓN DE Bcl-2 EN EL CICLO CELULAR. Se ha propuesto que la proteína Bcl-2 pudiera incrementar los niveles del inhibidor de Cdk's, p27, así como la de algunos represores constitutivos de la familia de la proteína del retinoblastoma Rb, específicamente de p130. El aumento en la concentración de estas proteínas retrasaría la transición de G0 a G1 deteniendo el ciclo celular.

detalles sobre senescencia replicativa ver referencia 13.

Crescenzi y colaboradores (3) observaron que la expresión de bcl-2 en una línea celular de carcinoma de endometrio humano inducía la detención en la fase G1 del ciclo celular de manera irreversible. En este caso, las células adquirieron un fenotipo senescente con características morfológicas alteradas y un aumento en la actividad de Bgalactosidasa. Al parecer, la inducción de senescencia prematura está dada por la inhibición de la actividad de la cinasa Cdk2 mediada por p27. Por tanto se propone que la proteína Bcl-2 tiene la capacidad de inducir senescencia prematura endógena, lo que le permite a su vez, suprimir el crecimiento de tumores.

En nuestro laboratorio se encontró que al sobreexpresar a *bcl-2* en

fibroblastos primarios de pulmón de ratón, se inducía la senescencia celular y se aumentaban los niveles de ERO, sugiriendo que la regulación del estado redox por parte de la proteína Bcl-2 podría modular la respuesta celular antioxidante y la detención del ciclo (4).

Recientemente, se ha reportado que la senescencia celular está asociada con niveles elevados de la proteína Bcl-2 y con la detención del ciclo celular en la fase G1; mientras que la apoptosis está asociada con bajos niveles de la proteína Bcl-2 con la detención del ciclo celular en la fase G2.

Bcl-2 EN LA MEBRANA DEL RE-TÍCULO ENDOPLÁSMICO Y NUCLEAR

El retículo endoplásmico (RE) es un organelo con múltiples funciones, entre las que destacan el almacenamiento del calcio (Ca⁺²) y el

procesamiento y plegamiento de proteínas de membrana y de secreción. En cuanto a ésta última función, se sabe que algunas condiciones como la fuga de Ca+2, la inhibición del proteosoma o cambios en el estado redox, generan problemas en el plegamiento de las proteínas de RE haciendo que se acumulen proteínas mal dobladas. A este estado se le conoce como estrés del RE. Para aliviar dicho estado, la célula activa una compleja vía de señalización denominada "respuesta desplegamiento de proteínas" (UPR, del inglés unfolded protein response). El programa UPR inicia por una serie de sensores transmembranales entre los que destaca la cinasa-endonucleasa dependiente de inositol (IRE1α). En los últimos años, se ha demostrado la participación de la proteína Bcl-2 y de algunos miembros de su familia (BAX y BAK) en la activación del programa UPR, ya que estos modulan la amplitud de la señal de IRE1α al controlar su fosforilación v oligomerización (14).

Por otro lado, se ha propuesto que para eliminar parte del RE cuando está en condiciones de estrés o para controlar la tasa de expansión de este organelo, la célula puede iniciar el mecanismo de autofagia. Es interesante comentar que durante dicho mecanismo, también se ha observado la participación de Bcl-2. Al parecer ella regula negativamente a la autofagia inhibiendo a una proteína importante durante el proceso conocida como Beclina-1 o Atg6 (14). Otra de las funciones principales de la familia de Bcl-2 en el RE se relacionan con el control de la homeostasis del Ca⁺², ya que la regulación del flujo de este elemento se ha asociado con la actividad anti-apotótica de los miembros de dicha familia.

Así mismo, la presencia de Bcl-2 en la membrana del RE ha sido asociada con los canales de Ca⁺² activados por inositol trifosfato (IP3), por lo que a Bcl-2 también se le ha asignado un papel en el mecanismo de transducción de señales relacionado con la regulación del ciclo celular (15).

En cuanto al núcleo, aún no se han descrito funciones específicas, sin embargo, se ha sugerido que al acumularse en la membrana nuclear, Bcl-2 bloquea los poros e impide la entrada de factores de transcripción. También se ha observado que en la apoptosis inducida a través de TNF-

 α , su distribución en el núcleo aumenta (16).

EL PROMOTOR DE Bcl-2

La diversidad de funciones fisiológicas en las que participa Bcl-2 sugiere un alto nivel de regulación, es por ello que el análisis de su promotor es importante para comprender la función de esta proteína.

El gen bcl-2 normalmente está localizado en el cromosoma 18, particularmente en el brazo q en la región 21.3, con una orientación que va del telómero hacia el centrómero. Este gen posee 3 exones, el primero no se transcribe y tiene un tamaño aproximado 400 kb. El promotor está formado por dos regiones que se denominan P1 y P2. Cada una de las cuales tiene un sitio alterno de inicio de la transcripción (Fig. 6). La porción P1 está localizada entre los pares de bases (pb) 1386 a 1423, corriente arriba del sitio de inicio de la transcripción. Esta es una región rica en GC, con múltiples sitios Sp1, desde donde se puede iniciar la trascripción. A la región P1 se le atribuyen los niveles constitutivos de la expresión de Bcl-2. El segmento del promotor denominado P2, está localizado aproxi-

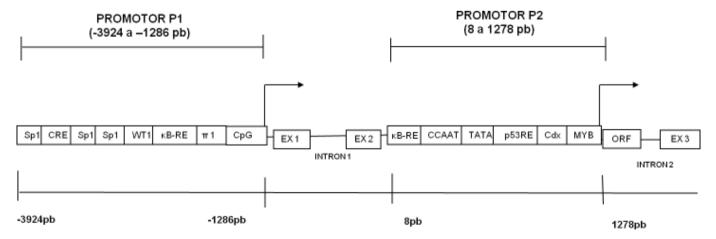


Figura 6. PROMOTOR DE Bcl-2. En la figura se observan las porciones P1 y P2 de la región reguladora del gen bcl-2, así como los elementos de respuesta a diferentes factores de transcripción, que se describen con más detalle en el texto. Abreviaturas: Sp1 (sitio de respuesta a Sp1), CRE (elemento de respuesta a AMP cíclico), WT1 (elemento de respuesta a WT1), κ B-RE (elemento de respuesta a NF- κ B), π 1 (elemento de respuesta a π 1), CpG (islas de dinucléotidos C-G susceptibles a ser metiladas), p53RE (elemento de respuesta a p53) Cxd (elemento de respuesta a Cdx), MYB (elemento de respuesta a MYB), EX (exón), ORF (marco abierto de lectura).

madamente a 1.3 kpb corriente debajo de P1. Éste incluye una caja TATA y una CCAAT, que son considerados como elementos que inician discretamente la trascripción. Se ha demostrado que la región P2 también contiene motivos de octámeros, similares a los presentes en los promotores de la inmunoglobulina y a los presentes en los amplificadores del virus 40 de simio (SV40), proponiendo a esta región del promotor como un sitio potencial para cuestiones de aumento en la expresión de Bcl-2.

En las regiones P1 y P2 existen diferentes elementos de regulación negativa y positiva. Entre los primeros, destacan un elemento de respuesta a la proteína Rb y un sitio de unión a la proteína Cdx. Uno de los elementos más importantes en la regulación negativa de la expresión de Bcl-2 es el elemento de respuesta a p53, localizado en el promotor P2, el cual es esencial para determinar la supervivencia celular, ya que éste responde a diferentes estímulos relacionados con el daño al ADN generados por el estrés oxidativo y algunos otros factores ambientales (17).

En cuanto a los elementos de regulación positiva, se encuentra el elemento de respuesta al AMP cíclico llamado CRE, particularmente CRE-I que se localiza cerca del segmento P1 del promotor. El elemento de unión CRE resulta ser uno de los más importantes en cuanto al aumento en la expresión de Bcl-2. Asimismo, existen diversos factores que actúan de manera paralela para aumentar su expresión, entre los que destacan los factores de transcripción AP-1 y NF-кВ que tienen que ver con la sobrevivencia celular (18).

Además, existen otras regiones reguladoras descritas en el promotor de Bcl-2, entre las que se encuentra una isla CpG localizada en la región 5` terminal entre el promotor y el primer exón.

Como puede entenderse de lo antes descrito. la diversidad de interacciones de los diferentes factores de trascripción, sus elementos de respuesta y las interacciones con otras proteínas, sugieren una regulación compleja. Adicionalmente hay que considerar los procesos señalización que afectan la eficiencia transcripcional de bcl-2. Por todo esto, existen algunos estudios encaminados a determinar algunos mecanismos de transducción de señales implicados en la expresión de Bcl-2 en respuesta a diversos estímulos y estados fisiológicos.

MECANISMOS DE EXPRESIÓN DE LA PROTEÍNA BCI-2 EN RES-PUESTA AL ESTRÉS OXIDA-TIVO

La regulación de la expresión de la proteína Bcl-2 en respuesta al estrés oxidativo por medio del factor de transcripción NF-κB ha sido demostrada en cultivos de la línea celular del feocromocitoma (PC12), transfectada para sobreexpresar bcl-2 y resistir la muerte celular por apoptosis inducida con peróxido de hidrógeno. En estas células, NF-kB mostró mayor afinidad de unión al ADN. Esta evidencia confirma que dicho factor responde al estado de estrés oxidativo y que podría jugar un papel importante en la regulación de Bcl-2 en respuesta al nivel de estrés oxidativo en esta línea celular.

Por otra parte, se ha visto que los niveles de expresión de la proteína Bcl-2 no sólo se ven alterados por moléculas involucradas directamente con el estado de estrés oxidativo. Entre las moléculas inductoras más importantes se puede mencionar a TNF-α, la que participa en una vía de transducción de señales en la que se involucra la expresión de Bcl-2 y la respuesta antioxidante. TNF-α se une a su receptor membranal cambiando su estructura promoviendo su

asociación con la proteína TRADD, que por su parte, se asocia con TRAF-2 de dos maneras. La primera está relacionada con la activación del factor de transcripción AP-1 y el aumento en la expresión de genes involucrados en la respuesta antioxidante debidas al estado de estrés oxidativo, que activa la vía JNK. En la segunda forma, también conocida como la vía clásica o canónica de NF-kB. TRAF-2 estimula a la cinasa del factor nuclear κB (NIK), que a se vez fosforila a la cinasa que actúa sobre IkB (IKK), que por su parte, fosforila a IkB, el inhibidor de NF-κB. Una vez fosforilado el inhibidor, este es ubiquitinado y degradado por el proteosoma; dejando en libertad a NFκB que migra al núcleo y activa la expresión de genes involucrados en la supervivencia celular entre los que destaca Bcl-2 (Fig. 7) (19).

La expresión de la Bcl-2 es muy diversa en diferentes tipos de tejidos y sus niveles dependen del estado de diferenciación, de esta manera se ha observado que en células comprometidas a un linaje celular específico o totalmente diferenciadas, los niveles de expresión de Bcl-2 son altos, por el contrario en aquellos tipos celulares poco comprometidos y que tienen una taza elevada de duplicación los niveles de la expresión de Bcl-2 son bajos (3, 5). Nuestro grupo de trabajo demostró que la concentración de Bcl-2 determinada en homogeneizados de pulmón, hígado, riñon y bazo de ratón, aumenta gradualmente en forma directamente proporcional con la edad del organismo, desde recién nacidos y hasta 24 meses de edad (20). Sin embargo, si se obtienen cultivos primarios de fibroblastos de pulmón provenientes de ratones jóvenes y viejos, y se les cultiva hasta llegar a la senescencia in vitro, el contenido de Bcl-2 no aumenta, por lo que es probable que sea necesario otro es-

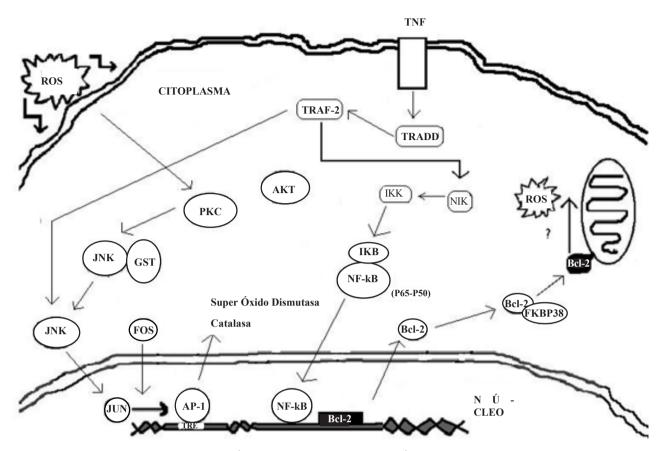


Figura 7. POSIBLES RUTAS EN LA SEÑALIZACIÓN QUE REGULAN LA EXPRESIÓN DE Bcl-2. En la figura se muestran posibles vías que inducen la expresión de Bcl-2, así como parte de la respuesta antioxidante que podría despertar esta proteína.

tímulo ausente del cultivo para que aumente la expresión de esta proteína (21).

OTROS MECANISMOS DE RE-GULACIÓN DE Bcl-2

La proteína Bcl-2 es también susceptible a ser fosforilada por varias cinasas como por ejemplo la cinasa regulada por señales extracellulares (extracellular signal-regulated kinase, ERK1/2). El sitio de fosforilación es una tirosina en la región BH3 y al parecer la fosoforilación es una señal para que Bcl-2 sea degradada vía el proteosoma (22)

Por otro lado, se ha sugerido que existe una relación entre los niveles de Ca⁺² y la regulación de la presencia de Bcl-2 en la membrana del RE y de la mitocondria. Se sabe que Bcl-2 es dirigida a estas membranas gracias a la participación de la chaperona

FKBP38 (proteína de unión 38 a FK506). FKBP38 es una proteína multimérica que pertenece a una familia de peptidil-prolil cis/trans isomerasas (PPIasas). Estas enzimas son proteínas que participan durante el proceso de doblamiento, biogénesis, ensamble y transporte intracelular de otras proteínas. Además catalizan la isomerización cis/trans de las prolinas, lo cual confiere actividad biológica a la conformación nativa de algunas proteínas (23). Las proteínas FKBP comparten características estructurales como es el dominio N-terminal con actividad de PPIasa, seguido de la repetición de tres tetratricopéptidos (TPR) y un motivo de unión a calmodulina (CaM). Asimismo, cuenta con un sitio de anclaje a la membrana en el C-terminal. Por lo que se le ha co-localizado con Bcl-2 en las membranas externas de la mitocondria

y la de RE (23). Ahora se sabe que para que FKBP38 se active, se requiere de la presencia de Ca⁺² y CaM para que se forme un complejo Ca⁺²/CaM/FKBP38, el cual cambia su conformación y es capaz de unirse a Bcl-2. Se ha propuesto que el complejo Ca⁺²/CaM/FKBP38, no solo transporta a Bcl-2 a la mitocondria y RE, sino que puede anclarse en las membranas junto a Bcl-2 e interactuar con dicha proteína. Esto cambiaría la conformación de Bcl-2 y favorecería su unión con Bad permitiendo el inicio de la apoptosis.

Se ha reportado que al aumentar los niveles de Ca⁺² se favorece el complejo antes mencionado y se induce la apoptosis, así mismo, al inhibir la liberación del Ca⁺² de sus reservorios celulares con el agente inhibidor conocido como GPI1046 o empleando RNAi contra FKBP38 se

previene la apoptosis mediada por Bel-2 (24, 25).

CONCLUSIÓN

De todo lo anterior se puede deducir que la expresión de Bcl-2 está regulada por diversos factores y procesos de señalización tanto intracelulares como extracelulares, ya que Bcl-2 está involucrada tanto con la supervivencia celular, como con la regulación del ciclo y la inducción de la senescencia.

Ahora bien, habrá que aclarar que el significado de los modelos experimentales donde se analiza la función de Bcl-2 induciendo su sobreexpresión en contraste con los estudios realizados en células de linfomas y otras neoplasias en las cuales Bcl-2 está sobreexpresada por la translocación 14;18, descrita por Tsujimoto puede ser distinto (1). Ya que dicha translocación es un caso aberrante de una patología en la cual Bcl-2 no está regulada por su promo-

tor sino por el de la cadena pesada de la inmunoglobulina y por eso se encuentra sobreexpresada induciendo la supervivencia celular.

El segundo caso todos los estudios en los cuales se induce la sobreexpresión de la proteína Bcl-2 de manera exógena, mediante la introducción de plásmidos que contienen el cDNA de dicha proteína. En estos casos, Bcl-2 también aumenta su sobreexpresión de manera artificial puesto que los sistemas de transfección casi siempre incluyen la participación de promotores exógenos.

Por último habría que mencionar los estudios que analizan los patrones de expresión endógena regulada por los promotores P1 y P2 que son las que realmente utiliza la célula en los procesos naturales de supervivencia que representan una minoría del total de estudios sobre Bcl-2, pero son los que nos ayudarán a entender su función a nivel fisiológico.

Para finalizar, es importante concluir diciendo que la familia de la proteína Bcl-2 no solo está relacionada con el mecanismo de apoptosis sino que al parecer se encuentran participando en la homeostasis que determina la sobrevivencia celular, pero que si sus funciones o su expresión están desreguladas, este equilibrio se rompe conduciendo a alteraciones fisiológicas.

De modo que el entender los mecanismos de regulación en la expresión de Bcl-2 es un reto importante que aún queda por resolverse para entender los mecanismos que determinan la vida y la muerte celular.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue apoyado por el CONACYT con el proyecto CB-2006-1-59659. A. Luna-López y VY. González-Puertos son becarios de CONACYT para estudios de Posgrado.

REFERENCIAS

- Tsujimoto Y, Bashir MM, Givol I, Cossman J, Jaffe E, Croce CM (1987) DNA rearrangements in human follicular lymphoma can involve the 5' or the 3' region of the bcl-2 gene. Proc Natl Acad Sci USA 84:1329-1331.
- 2. Borner C (1996) Diminished cell proliferation associated with the death-protective activity of Bcl-2. J Biol Chem 271:12695-12698.
- 3. Crescenzi E, Palumbo G, Brady HJ (2003) Bcl-2 activates a programme of premature senescence in human carcinoma cells. Biochem J 375:263-274.
- López-Diazguerrero NE, López-Araiza H, Conde-Pérezprina JC, Bucio L, Cárdenas MC, Ventura JL, Covarrubias L, Gutiérrez-Ruiz MC, Zentella A, Königsberg M (2006) Bcl-2 protects against oxidative stress while inducing premature senescence. Free Radic Biol Med 40: 1161-1169.

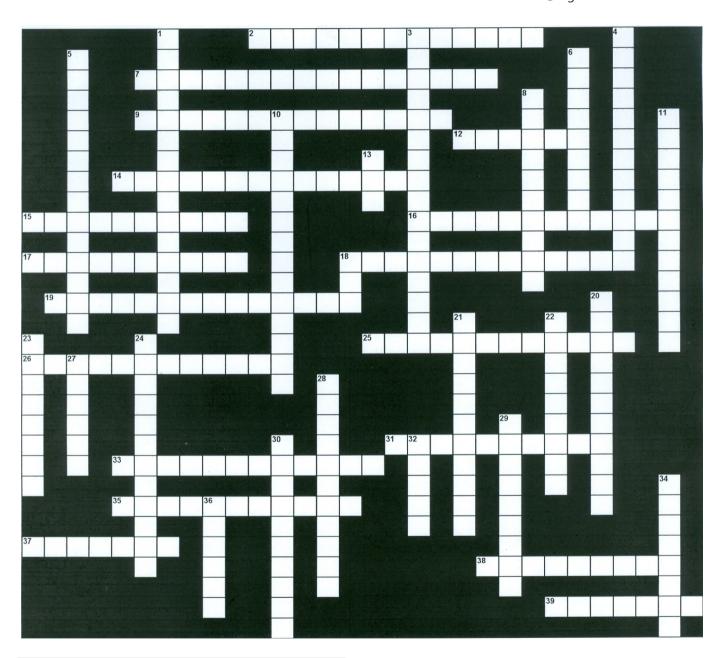
- 5. Adams JM, Cory S (2007) The Bcl-2 apoptotic switch in cancer development and therapy. Oncogene 26:1324-1337.
- 6. Youle RJ, Strasser A (2008) The Bcl-2 protein family: opposing activities that mediate cell death. Nature Rev. 9: 47-59.
- 7. Hockenbery DM, Oltavi Z, Ying X, Milliman C, Korsmeyer S. (1993) Bcl-2 functions in an antioxidant pathway to prevent apoptosis. Cell 75:241-251.
- 8. Lee M, Hyun DH, Marshall KA, Ellerby LM, Bredesen DE, Jenner P, Halliwell B (2001) Effect of overexpression of BCL-2 on cellular oxidative damage, nitric oxide production, antioxidant defences, and the proteasome. Free Radic Biol Med. 2001 31:1550-1559.
- 9. Steinman H (1993) The Bcl-2 oncoprotein functions as a pro-oxidant. J Biol Chem 270:3487-3490.

- 10. Degli-Esposti M, Hatzinisiriou I, Mclennan H (1999) Bcl-2 and mitochondrial oxygen radicals. J Biol Chem 274: 29831- 29837.
- 11. Deng G, Su J, Ivins K, Van Houten B, Cotman C (1999) Bcl-2 facilites recovery from DNA damage after oxidative stress. Exp Neurol 159:309-318.
- 12. Vairo G, Soos TJ, Upton TM, Zalvide J, DeCaprio JA, Ewen ME, Koff A, Adams JM (2000) Bcl-2 retards cell cycle entry through p27(Kip1), pRB relative p130, and altered E2F regulation. Mol Cell Biol 20: 4745-4753.
- 13. López-Diazguerrero, NE. Martínez Garduño CM, Königsberg M (2005) La senescencia replicativa como una respuesta celular al estrés. REB 24: 47-53.
- 14. Hetz C, Glimcher L (2007) The daily job of night killers: alternative roles of the Bcl-2 family in organelle physiology. Trends Cell Biol 18:38-44.
- 15. Distelhorst CW, Shore GC (2004) Bcl-2 and calcium: controversy beneath the surface. Oncogene 23: 2875-2880.
- 16. Hoetelmans RW (2004) Nuclear partners of Bcl-2: Bax and PML. DNA Cell Biol. 23:351-354.
- 17. Bredow S, Juri DE, Cardin K, Tesfaigzi Y (2007) Identification of a novel Bcl-2 promoter region that counteracts in a p53-dependent manner the inhibitory P2 region. Gene 404:110-116.
- Kim SJ, Nian C, Widenmaier S, McIntoch CH (2008) Glucose-dependent insulinotropic polypeptide-mediated up-regulation of beta-cell antiapoptotic Bcl-2 gene expression is coordinated by cyclic AMP (cAMP) response element binding protein (CREB) and cAMPresponsive CREB coactivator 2. Mol Cell Biol 28:1644-1656.

- 19. Haddad JJ (2004) On the antioxidant mechanisms of Bcl-2: a retrospective of NF-kB signalling and oxidative stress. Biochem Biophys Res Comm 322: 355-363.
- López-Araiza H, Ventura JL, López-Diazguerrero NE, González-Marquez H, Gutiérrez-Ruíz MC, Zentella DA, and Königsberg FM (2006) Organ- and Tissue-specific Alterations in the Anti-apoptotic Protein Bcl-2 in CD1 Female Mice of Different Ages. Biogerontology 7:63-67.
- 21. Königsberg M, López-Díazguerrero NE, Aguilar MC, Ventura JL, Gutierrez-Ruiz, MC, Zentella A (2004). Senescent phenotype achieved in vitro is indistinguishable, with the exception of Bcl-2 content, from that attained during the in vivo aging process. Cell Biol Intern 28:641-651.
- 22. Pérez-Galán P, Roué G, López-Guerra M, Nguyen M, Villamor N, Montserrat E, Shore GC, Campo E, Colomer D (2008) Bcl-2 phosphorylation modulates sensitivity to the BH3 mimetic GX15-070 (Obatoclax) and reduces its synergistic interaction with bortezomib in chronic lymphocytic leukemia cells. Leukemia. Jul 3. [Epub ahead of print]
- 23. Edlich F, Weiwad M, Erdmann F, Fanghänel J, Jarkzowski F, Rahfeld JU, Fischer G (2005) Bcl-2 regulator FKBP38 is activated by Ca2+/calmodulin EMBO J 24:2688-2699.
- 24. Edlich F, Maestre-Martínez M, Jarkzowski F, Weiwad M, Moutty MC, Malesevic M, Jahreis G, Fischer G, Lücke C (2007) A novel calmodulin/ Ca2+ target recognition activates the Bcl-2 regulator FKBP38 J Biol Chem 282: 36496-36504.
- 25. Hinds MG, Lackmann M, Skea GL, Harrison PJ, Huang DCS, Day CL (2003) The structure of Bcl-w reveals a role for the C-terminal residues in modulating biological activity. EMBO J 22:1497-1507.

CRUCIBIOQ **BIOSÍNTESIS DE LÍPIDOS**

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



HORIZONTALES

- Son agregados lipoproteicos con un diámetro de 100 a 500 nm, están constituidos de fosfolípidos,
- Molécula precursora de la fosfatidiletanolamina, se produce cuando la serina desplaza al CMP del CDPdiacilglicerol.

triacilgliceroles y varias apolipoproteínas y se sinte-

tizan en el retículo endoplásmico y se desplazan por el sistema linfático y la sangre hacia los tejidos.

^{*}Apoyado por PAPIME EN217504

REB 27(3): 103-105, 2008

- 9 Esta patología se produce cuando la suma del colesterol sintetizado y el ingerido sobrepasa los requerimientos celulares y el excedente se deposita en los vasos sanguíneos.
- 12 Estructura formada por la agregación de moléculas anfipáticas en donde los dominios polares interaccionan directamente con el ambiente acuoso, protegiendo de esta manera a las moléculas apolares.
- 14 Se encuentran presentes en la membrana interna de los cloroplastos; quizá sean los lípidos de membrana más abundantes en la naturaleza, su estructura es 1,2 diacil glicerol y galactosa unida por enlace glucosídico.
- 15 Isoprenoide, llamado también coenzima Q, participa como transportadora de electrones en las reacciones de oxido-reducción que impulsan la síntesis de ATP.
- 16 Moléculas de 20 átomos de carbono derivadas del ácido araquidónico, se encuentran formando parte de las prostaglandinas, los leucotrienos y los tromboxanos.
- 17 Cuando hay un alto consumo de carbohidratos, estas células convierten a la glucosa en ácidos grasos que son almacenados como triacilgliceroles, éstos son hidrolizados ante un requerimiento energético.
- 18 Son las moléculas encargadas de transportar a los lípidos en el torrente sanguíneo, las hay de varios tipos (HDL, LDL, VLDL y quilomicrones).
- 19 Llamado vitamina D₃, se forma en la piel a partir de 7-deshidrocolesterol a través de la acción fotoquímica de la luz ultravioleta solar.
- 25 Lípidos estructurales de la membrana constituidos por glicerol o esfingosina esterificados a ácidos grasos, fosfato y un alcohol; en la célula eucariótica se sintetizan en el retículo endoplásmico y en la mitocondria.
- 26 Son las unidades de cinco carbonos que participan en la síntesis del escualeno, se forman a partir de tres moléculas de acetil-CoA y por múltiples reacciones dan lugar al isopentenil pirofosfato.
- 31 Los lípidos se encargan de proporcionar a los seres vivos la mayor cantidad por molécula gramo de esta reserva, misma que utilizan para desarrollar sus funciones durante la inanición.
- 33 Su síntesis se realiza por la acción de la desmolasa en la mitocondria, posteriormente se transporta al retículo endoplásmico donde se convierte en progesterona.
- 35 Proceso mediante el cual se sintetiza acetoacetato, β-hidroxibutirato y acetona a partir de la condensación de dos moléculas de acetil CoA; tanto el acetoacetato como el β-hidroxibutirato, son combustibles metabólicos en tejidos como corazón y músculo esquelético.
- 37 Conjunto de moléculas que con estructuras y funciones diferentes han sido agrupadas mediante la carac-

- terística de ser insolubles en agua y solubles en solventes orgánicos; son un reservorio energético y constituyentes de las membranas biológicas.
- **38** Ácido graso (16:0) que requiere para su síntesis de una molécula de Acetil CoA, 7 de malonil CoA y 14 de NADPH + H⁺.
- 39 Molécula que al reunirse con la opsina forma la rodopsina; en la oscuridad esta molécula se encuentra en la forma cis y con luz visible pasa a la forma trans.

VERTICALES

- Derivadas del ácido araquidónico, se encontraron por primera vez en la glándula prostática, su síntesis es bloqueada por los antiinflamatorios no esteroideos; las moléculas de este grupo tienen diversas funciones, algunas estimulan la contracción del músculo liso durante el parto, otras elevan la temperatura corporal y causan inflamación y dolor, etc.
- **3** Hormonas esteroideas producidas por la corteza suprarrenal.
- 4 De naturaleza lipídica, son los pigmentos naranja que se encuentran en la mayoría de las plantas, la vitamina A y las xantofilas pertenecen a este grupo.
- 5 Lípidos complejos de membrana que desempeñan funciones muy variadas: de reconocimiento, grupos sanguíneos etc., están constituidos por un amino alcohol y un ácido graso, ambos de cadena larga y generalmente un grupo de cabeza polar unido por enlace glucosidico. Su nombre se debe a lo enigmático de su función, como la Esfinge.
- 6 Molécula que es el producto de la condensación de seis unidades de isopreno activo, se aisló por primera vez del hígado de tiburón y mediante reacciones de oxidación y ciclización se sintetiza al colesterol.
- **8** Ácidos grasos participantes en la constitución de la membrana, deben ser incluidos en la dieta ya que los mamíferos no pueden sintetizarlos.
- 10 La síntesis de prostaglandinas inicia cuando esta enzima, convierte al ácido araquidónico en PGG₂, esta reacción es inactivada por el ácido acetilsalicílico ya que acetila a un residuo de serina.
- 11 Hormona esteroide que regula los cambios fisiológicos en el útero, durante el embarazo se producen grandes cantidades por la placenta lo que impide las contracciones del músculo liso.
- 13 Siglas de las lipoproteínas que son ricas en proteínas y contiene poco colesterol; entre otras

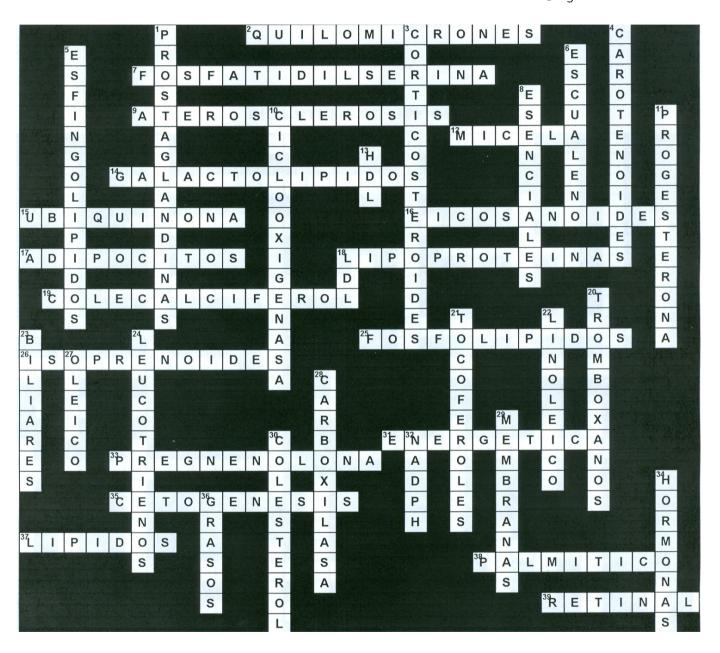
- apolipoproteínas posee a la ApoA-I que tiene la función de activar a la lecitina-colesterol acil transferasa (LCAT) para formar ésteres de colesterol.
- 18 Siglas de las lipoproteínas muy ricas en colesterol y sus ésteres, tiene la función de transportar al colesterol hacia los tejidos extrahepáticos.
- 20 Eicosanoides que se producen en las plaquetas, participan en la formación de coágulos sanguineos.
- 21 Grupo de lípidos que contienen un anillo aromático sustituido (tocol) y una larga cadena isoprenoide, son antioxidantes que participan en la membrana secuestrando a los radicales libres del oxígeno y con ello previenen la lipoperoxidación.
- 22 Este ácido graso (18:2) no puede ser sintetizado por los mamíferos sino que debe obtenerse de fuentes vegetales, éste ácido da lugar al araquidónico, precursor de eicosanoides.
- 23 Las sales _____ son compuestos anfipáticos con función de detergentes biológicos, emulsionan a las grasas de la dieta en el intestino delgado y forman micelas.
- 24 Derivados de ácido araquidónico, la sobreproducción de estas sustancias produce ataques asmáticos y participa en la contracción del músculo liso del pulmón en el shock anafiláctico; se llaman así porque se encontraron por primera vez en los leucocitos.

- 27 Ácido graso monoinsaturado (18:1) es uno de los más abundante en los seres vivos.
- 28 La α-acetil CoA ______ se encuentra en el tejido adiposo, tiene como función sintetizar malonil CoA a partir de la carboxilación de acetil CoA, proceso en el que interviene la biotina.
- 29 Compuestas principalmente por glicerofosfolípidos, esfingolípidos y proteínas periféricas o integrales; sirven para definir los límites de la célula y regular el tráfico de moléculas que entran o salen.
- 30 Se sintetiza a partir de acetil-CoA, en el proceso sintético intervienen isopentenil pirofosfato, β-hidroxiβ-metilglutaril-CoA, entre otras moléculas, es precursor de los ácidos biliares y de algunas hormonas y vitaminas.
- 32 Siglas del piridin nucleótido reducido indispensable para la biosíntesis de ácidos grasos, la mayor cantidad de esta molécula se obtiene de la ruta de las pentosas fosfato.
- 34 Todas las estructuras lipídicas de este tipo derivan del colesterol y quedan incluidas en dos grupos los mineralocorticoides y los glucocorticoides.
- 36 Los ácidos son carboxílicos, alifáticos de cadena larga, se encuentran en las grasas y en los aceites naturales y forman parte de los fosfolípidos y glucolípidos de las membranas.

106 REB 27(3): 106, 2008

SOLUCIÓN AL CRUCIBIOQ BIOSÍNTESIS DE LÍPIDOS

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



REB 27(3): 107, 2008

Fourth Workshop in Comparative Aspects of Oxidative Stress in Biological Systems









In its Fourth Edition, the Workshop brings together again national and international researchers and specialists in the Oxidative Stress field. The Conferences given at the Workshop will include the following:

Dr. Victor Darley-Usmar - University of Alabama, Birmingham, USA.

Dr. Evgeny Nudler - New York University Medical Center, USA.

Dr. Paolio Di Mascio - Universidade de São Pablo, Brasil.

Dr. Ali Syed - National Center for Toxicological Research, Arkansas, USA.

Dr. José Carlos Fernández-Checa - Hospital Clínico, C/Villarroel, Spain.

Dr. V.I. Lushchak - Precarphatian National University, Ukraine.

Dra. Marisa Medeiros - Universidade de São Pablo, Brasil.

ORGANIZING COMMITTEE:

Mina Konigsberg Fainstein mkf@xanum.uam.mx
Abel Santamaría del Angel absada@yahoo.com
Julio Morán Andrade imoran@ifc.unam.mx
Luis E. Gómez Quiroz legq@xanum.uam.mx
María del Carmen González Castillo
gonzalez.castillocarmen@fcg.uaslp.mx
Tania Zenteno-Savín tzenteno04@cibnor.mx







March 31-April 3, 2009 - Hotel Montetaxco - Taxco, Guerrero. Mexico
Website: http://www.cibnor.gob.mx/eplant1.php?paglD=anuncios/oxistress/index































108 REB 27(3): 108, 2008

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, definirlas 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.
- Resumen. Se deberán incluir un resumen en idioma español y uno en inglés (Abstract) de no más de diez renglones.
- Palabras clave. Se deberá proporcionar de tres a seis palabras clave en idioma español y en inglés.
- 5) Referencias. Se sugieren no mas 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.

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

II) OTRAS COMUNICACIONES

- 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.
- El contenido deberá ser desarrollado en forma resumida y de una manera explícita en no más de dos páginas.
- 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.