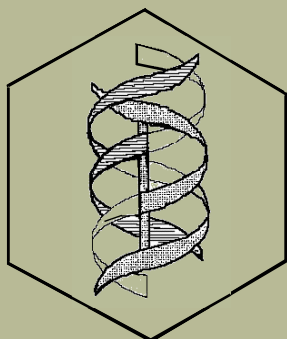


REB 2009

REVISTA DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA



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

Departamento de Bioquímica
Facultad de Medicina
UNAM



Facultad de Medicina
UNAM



Sociedad Mexicana de
Bioquímica, A.C.

EDITADO DESDE 1982 COMO BOLETÍN DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA

VOL. 28

No. 2

JUNIO 2009

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

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
Universidad Autónoma de Querétaro

ENRIQUE PIÑA GARZA

Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

YOLANDA SALDAÑA BALMORI

Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

SERGIO SÁNCHEZ ESQUIVEL

Instituto de Investigaciones Biomédicas
Universidad Nacional Autónoma de México

CORRESPONSALES

ROCÍO SALCEDA SACANELLES

Coordinadora
Instituto de Fisiología Celular
Universidad Nacional Autónoma de México

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 Giron”
Instituto Superior de Ciencias Médicas. La Habana, Cuba

ALEJANDRO MARTÍNEZ MARTÍNEZ

Instituto de Ciencias Biomédicas
Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, Chihuahua

MYRNA SABANERO LÓPEZ

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

SERGIO SÁNCHEZ-ARMÁSS ACUÑA

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

MARTHA ANGÉLICA QUINTANAR ESCORZA

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

MARÍA MALDONADO VEGA

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

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. Distribuidor: Servicio Postal Mexicano, Reg. No. PP09-1001; UNAM-Departamento de Bioquímica y Facultad de Medicina. Distribución electrónica: Programa Universitario de Investigación en Salud (PUIS), UNAM (<http://computo.sid.unam.mx/Bioquimica> o bien <http://www.puis.unam.mx>). Correspondencia: Comité Editorial, Apartado Postal 70-281, Coyoacán, C. P. 04510, México, D. F. Correo electrónico: reb@bq.unam.mx.

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

CONTENIDO

COMITÉ EDITORIAL

EDITORIAL

LA CRISIS DE LA INFLUENZA

¿CAMBIÓ LA MEDICINA?

José Víctor Calderón Salinas33

ARTÍCULOS

LAS BASES MOLECULARES DE LA PERCEPCIÓN DE TEMPERATURA EN EL HUMANO

Alfonso Rafael Salgado Aguayo y

Luis Alfonso Vaca Domínguez.....36

EL FACTOR INDUCIDO POR LA HIPOXIA-1 (HIF-1) Y LA GLUCÓLISIS EN LAS CÉLULAS TUMORALES

Alvaro Marín-Hernández.....42

TOXOPLASMA GONDII, UN PATÓGENO ASESINO RE-EMERGENTE

Saé Muñiz Hernández y

Ricardo Mondragón Flores.....52

OTRAS COMUNICACIONES

CRUCIBIOQ REGULACIÓN

Yolanda Saldaña Balmori.....59

SOLUCIÓN AL CRUCIBIOQ REGULACIÓN

Yolanda Saldaña Balmori.....62

LA SOCIEDAD MEXICANA DE BIOQUÍMICA, A. C. CONVOCA A TODOS LOS SOCIOS NUMERARIOS

Mesa Directiva 2007-2009.....63

SIGNAL TRANSDUCTION MEETING.

Rama de transducción de señales de la Sociedad
Mexicana de Bioquímica.....64

XVI CONGRESO DE BIOENERGÉTICA Y BIOMEMBRANAS.

Sociedad Mexicana de Bioquímica, A.C.....65

CONVOCATORIA PARA PRESENTAR TRABAJOS EN EL XVII CONGRESO Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, A.C.66

CONVOCATORIA PARA EL REGISTRO DE CANDIDATOS PARA VICEPRESIDENTE Y SECRETARIO-TESORERO ADJUNTO DURANTE EL AÑO 2010

Mesa Directiva de la Asociación Mexicana de
Profesores de Bioquímica, A.C.68

INSTRUCCIONES PARA LOS COLABORADORES DE LA REVISTA DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA.....70

EDITORIAL

LA CRISIS DE LA INFLUENZA ¿CAMBIÓ LA MEDICINA?

Al momento que se escribe esta editorial, oficialmente se acabó la crisis epidemiológica que inició en el país por un brote con posibilidades pandémicas del que fue llamado un "nuevo virus de influenza" con características genéticas humana, aviar y porcina y con epítopes proteicos a los que se suponía no se habían expuesto los sistemas inmunológicos de los habitantes del mundo, con la posibilidad de que su virulencia y su mortalidad afectara a un importante sector de la población causando efectos patológicos severos y mortales.

A unos días de que se terminara esta crisis y en un momento donde se puede ver el problema un poco en perspectiva todos nos hacemos muchas preguntas y algunas reflexiones, mismas que seguramente tardarán en ser contestadas correctamente o tal vez nunca se conozcan las cifras y los elementos de decisión reales. Porque vivimos en un país donde el gobierno considera a la población general como individuos inmaduros, irresponsables e ignorantes y bajo esa premisa es factible hacerles entender y obedecer las situaciones sin explicaciones, con amenazas y de tal forma que sin afectar las imágenes políticas y sin riesgos electorales, resulte victorioso y todopoderoso el gobierno y el gobernante. Por otro lado, y por si fuera poco, somos una población poco activa, poco participativa y poco reflexiva, que preferimos aceptar las declaraciones en lugar de buscar explicaciones o entender las premisas en las que están basadas las reflexiones y conclusiones que se nos presentan.

El manejo de la crisis fue en muchos sentidos adecuado y en muchos sentidos deficiente y aún cuando las diferentes instancias de gobierno se empeñan en convencernos de que el manejo administrativo fue absolutamente eficiente y que el mismo evitó la mortalidad masiva. La realidad es simple, lo que evitó tal mortalidad es que el virus resultó poco patogénico, poco virulento y muy sensible a ciertos antivirales; según debemos derivar de los propios datos gubernamentales y de la información pública disponible. Claro que esto es generado de un análisis posterior a los acontecimientos y con ello, evidentemente, no nos encontramos en el supuesto y la justificación de los elementos iniciales y con el análisis genético

de que nos enfrentábamos a un virus no conocido, lo cual sin duda era suficiente para iniciar y aplicar las medidas recomendadas por la Organización Mundial de la Salud (OMS) y el Centro para el Control de Enfermedades (CDC, siglas en ingles) de Atlanta.

Cuando al avanzar la epidemia y hacerse evidente que la morbi-mortalidad era menor a la prevista inicialmente, se debieron modificar las estrategias iniciales y rediseñar las posteriores; sin embargo, se optó por la aplicación de las políticas en salud pública que justificaron, a su manera, el tener que extremar precauciones, como pudimos constatar en todos los ámbitos, antes que correr algún riesgo adicional.

Las declaraciones de que la aplicación de las medidas de protección y el impecable actuar de las instituciones de salud fueron las responsables de evitar la mortalidad es contraproducente, porque conducen a que la población lo crea y que las autoridades no vean, señalen ni traten de resolver los terribles problemas, carencias y enormes deficiencias de los sistemas de salud en la atención diaria y que por supuesto no es posible creer que milagrosamente cambiaran y se mejoraran, para dar puntual respuesta a una crisis epidemiológica de la magnitud que se presentó y menos aún a la que todos coinciden se presentará en un futuro. En tal sentido, las declaraciones gubernamentales en tal condición son contraproducentes ya que contar con poca información es tan malo como tener información incorrecta y la confianza ilimitada en que no pasa nada, es igual o más dañina que la desconfianza en las medidas aplicadas por el gobierno.

En el caso de la crisis epidemiológica que tuvimos en el país a causa de la influenza por el virus A(H1N1), se ha declarado oficialmente que hay menos del 2% de mortalidad de los pacientes diagnosticados; pero estos son solamente los analizados que evidentemente deben de ser menores que los reportados, menos que los afectados, menos que los infectados, menos que los que tuvieron contacto con el virus y menos aún que los que estuvieron cerca de un paciente infectado. Elementos de los que evidentemente nunca se tienen cifras reales y menos en los primeros días de la crisis, en los que solo se cuen-

ta con aproximaciones epidemiológicas las cuales no suelen ser muy acertadas, a menos de que se trate de un agente terriblemente patogénico y con una mortalidad muy alta.

Los reportes internacionales de grupos de investigación de Canadá, el Reino Unido y los Estados Unidos de América, en los que participaron investigadores y epidemiólogos nacionales del Instituto de Epidemiología de la propia Secretaría de Salud, indican que de 6,000 a 32,000 personas debieron estar infectadas en México, con un índice de mortalidad con los casos identificados del 0.4%, desde la identificación del inicio del brote el 15 de febrero y hasta finales de abril, según los diferentes modelos epidemiológicos y estadísticos aplicados (Pandemic Potential of a Strain of Influenza A (H1N1): Early Findings. En: www.sciencexpress.org/11May2009/Page1/10.1126/science.1176062).

Sorprendentemente y a pesar de que esta información fue publicada en "Science", una de las revistas más importantes del mundo, y que en la misma publicación participó personal de epidemiología de la propia Secretaría de Salud, nunca se analizó en ningún foro público, que yo me enterara, y vaya que en esos días tuvimos que estar atentos a múltiples declaraciones matutinas y opiniones de expertos en todos los medios de información a todas horas.

Las medidas administrativas, políticas y económicas son susceptibles de un análisis profundo. En este espacio solo comentaré algunas de las medidas de divulgación en el orden médico que me parecieron lamentables y que están muy lejos de contribuir a la urgente e indispensable educación médica de la población. No sé si tales declaraciones fueran justificadas por la necesidad de atemorizar a la población, llevando al extremo el problema y pensando que con ello se atenderían mejor a las recomendaciones y a las medidas que se instauraron.

Sin embargo, se trató de escribir otro manual médico que no conocíamos los que presumimos de saber algo de medicina y que va en contra de lo que la población percibe, aun con su mala información médica. La población recibió mensajes y argumentos que van en contra de sus conocimientos ancestrales sobre las enfermedades virales y los cuadros gripales. Por supuesto que el resultado es incertidumbre y desconfianza a razonamientos débilmente soportados con premisas incorrectas, marcos conceptuales inestables y que no permiten a la población entender y menos aún justificar las acciones para hacer frente a la epidemia.

El primer concepto con serios problemas que se filtró a la población fue que solo había sanos o enfermos en camino a morir. Que quien tuviera contacto con alguien enfermo se contagiaría, enfermaría y moriría si no era tratado con antivirales. Lo anterior por supuesto ignoraba factores que influyen en el desarrollo de la enfermedad como son: la cantidad de virus; el estado de protección local; las condiciones fisiopatológicas y la inmunidad local de las mucosas; el estado del sistema inmunológico; la capacidad de respuesta inmunológica pobre o exagerada al ciclo viral; la posibilidad de que el hospedero fuera poco susceptible o incluso resistente a los procesos virales; qué acciones inmediatas permitieran una mejor defensa (reducir la fiebre, hidratarse, mantener su fisiología respiratoria, reposar, alimentarse bien, condiciones adecuadas de higiene) o; una rápida atención médica. Por lo cual, una vez que se ignoraban factores de susceptibilidad se simplificaba a una ecuación errónea: virus igual a contagio, igual a enfermedad, igual a muerte, excepto al tratar al paciente con antivirales.

Dicha ecuación engrandeció a los antivirales, cuando en las primeras clases de medicina, y hasta la fecha, se sabe de la baja eficiencia de los antivirales en el tratamiento y la restricción de su uso en condiciones graves o particulares del individuo que lo hacen susceptible o cuando en la enfermedad se presentan complicaciones o en epidemias con virus de alta infectividad o gran índice de mortalidad.

Lo anterior podría ser solo estrategia de comunicación, pero en la población obligaba a tener que encontrar a condenados a muerte o sanos; por lo que al no ver a los vecinos muriendo o severamente enfermos, las población dejó de creer en la epidemia, en la pandemia y en la crisis epidemiológica, generando incertidumbre e incredulidad a que algo pasara y viendo como los que no se protegían de ninguna manera "gubernamentalmente correcta" no se enfermaban a pesar de estar en el transporte público o en los centros comerciales, en las fiestas o en las reuniones. Obligando a pensar que todo fue una farsa.

Por el contrario, el explicar que la posibilidad de contagio es general, pero que no todos se enferman y se mueren, permite justificar acciones y medidas sin tener que ver caer muertos por todos lados. Si se explica que puede morir el 2% de los enfermos y que estos enfermos provienen de un porcentaje "x" de contagiados, es posible justificar la acción de protección sanitaria, con la incertidumbre de que no es posible saber quienes se pueden contagiar y quienes pueden estar en ese 2% de

mueritos; esto sin la necesidad de ver gente muriendo en todos lados y enfermos en cada esquina. Con la ventaja adicional de implantar y convencer de la necesidad de protección, porque no es posible saber si uno mismo es un portador sano o débilmente enfermo y por lo tanto hay que protegerse de los demás y proteger a los demás.

Esta misma idea de enfermos o sanos planteó el concepto de que no existían infectados sin manifestaciones y que todo infectado debería de estar enfermo y al borde de la muerte, desaparecieron de pronto los portadores sanos, los enfermos leves y los resistentes naturales a la infección. Por lo cual, se tiene ahora la idea de que sólo los estudiados fueron enfermos y que sólo los hospitalizados estuvieron con problemas, sin explicar que seguramente miles fueron portadores, otros miles enfermos leves, otros no fueron sensibles y que seguramente algunos murieron sin estar en las estadísticas.

Lo anterior provoca que mucha gente no pueda justificar la intensidad de perjuicio económico por las medidas establecidas, con tan pobres números de infectados y de muertos. Para los familiares de las personas que murieron, sin duda la situación fue crítica y una lamentable pérdida para todos, pero a nivel general no parece sustentar las medidas establecidas, aún con las proyecciones epidemiológicas de que las mismas evitarán las 800, en números conservadores, o las 8,000 muertes en las estimaciones gubernamentales, que parecen ser similares o menores a los números anualizados de muerte por influenza estacional y que la población nunca ha percibido como un programa de urgencia nacional, sino como una serie de recomendaciones, antes de iniciar o al encontrarse en la época invernal.

Seguramente una explicación correcta, indicando que el análisis encontró y mostró solo la punta del iceberg de un problema infecto-contagioso, que recorrió al país y del que los números son sólo un reflejo epidemiológico de los seguramente pocos casos que llegaron a los hospitales y se pudieron estudiar, permitiría a la población entender y justificar la magnitud de las acciones y no pensar en una falsa alarma, una alarma fallida o una farsa, que hace evidentes la incapacidad de las autoridades y la mala preparación que tenemos para afrontar este tipo de crisis.

En lugar de tratar de dar discursos triunfalistas y pensar que la certera y oportuna intervención salvó al país y al mundo, deberíamos hacer una correcta revisión de los sistemas de protección y de respuesta epidemiológica, así como preparar a la población con información correcta y confiable, con razonamientos adecuados, que dejen ver la magnitud del problema, sin tratarla de manera infantil e infundiendo miedo para que obedezcan; sino optar por la opción de la información para que entiendan y actúen y por supuesto hacer un correcto análisis de la capacidad de respuesta de nuestras instituciones de salud, que lejos de vanagloriarse con falsos laureles, deberían de hacer los cambios necesarios para, de verdad, generar la capacidad de respuesta necesaria.

A nadie ayuda la desinformación, y menos cuando lo que está en juego es una crisis epidemiológica que además puede regresar en cualquier momento y nos encontrará sin la mejor herramienta, "la información" y con el peor enemigo "la desconfianza". ¿O será que la medicina cambió y los que decimos saber algo, ni nos dimos cuenta?

José Víctor Calderón Salinas
Editor en Jefe

LAS BASES MOLECULARES DE LA PERCEPCIÓN DE TEMPERATURA EN EL HUMANO*

Alfonso Rafael Salgado Aguayo¹ y Luis Alfonso Vaca Domínguez ²

RESUMEN

Recientemente se ha comprendido cómo los seres humanos somos capaces de percibir temperaturas desde frías nocivas hasta calientes nocivas. Existen distintos tipos de neuronas sensoriales con capacidad de responder a distintas temperaturas; uno de estos son las neuronas nociceptoras (responsables de la percepción del dolor) que se activan a temperaturas mayores de 43°C. La capsaicina, molécula responsable de la sensación de picor debida al chile, genera en estas neuronas una respuesta muy similar a la debida a altas temperaturas; el receptor de capsaicina resultó ser un canal iónico activado a temperaturas mayores a 43°C, y perteneciente a la superfamilia de canales TRP. A partir del descubrimiento de este primer canal iónico activado por calor, se han identificado otros 5 canales pertenecientes a la misma superfamilia de proteínas, cada uno con sensibilidad a distintos rangos de temperatura, explicando la percepción de la misma en los humanos.

PALABRAS CLAVE: Percepción de temperatura, canales iónicos, canales TRP, nocicepción.

ABSTRACT

Human beings can experience a wide range of temperatures, from noxious cold to noxious heat, and only recently we have gained insight on the molecular basis of this phenomenon. There are subpopulations of sensorial neurons that show different thermal activation thresholds; for example nociceptors are pain detecting neurons that respond to thermal stimulus of over 43°C, considered by most people as uncomfortable heat. These nociceptors are also activated by capsaicin, the molecule found in chilli peppers responsible for the burning sensation elicited when eating spicy food. The capsaicin receptor expressed by these nociceptors is an ion channel from the TRP channel superfamily that is activated by temperatures over 43°C. After its cloning, other 5 channels, all of them belonging to the same superfamily and having different thermal sensitivity, have been cloned, providing an explanation to thermal sensing in humans.

KEY WORDS: Thermosensation, ionic channels, TRP channels, nociception.

Los seres humanos vivimos en un mundo potencialmente peligroso: no es raro encontrar objetos afilados o pesados que puedan lastimarnos. En la antigüedad los animales eran un peligro del cual había que cuidarse, y siempre hemos tenido que lidiar tanto con microorganismos patógenos, como con sustancias naturales tóxicas capaces de envenenarnos. Como mecanismo de defensa ante todos estos peligros, el ser humano tiene un complejo sistema sensorial que, en la medida de lo posible, nos previene para

evitar la exposición a los agentes dañinos. Probablemente los sistemas sensoriales que primero se nos vienen a la mente son la vista y el oído, que brindan gran información sobre el entorno y sus potenciales riesgos, pero también contamos con otro tipo de sistemas sensoriales que nos protegen de eventualidades no tan fácilmente detectables con ojos u oídos. La temperatura representa un peligro inaudible e invisible, y como todos sabemos por experiencia propia, el cuerpo humano cuenta con un excelente sistema de percep-

ción que nos permite evitar el calor o el frío excesivo, además de ser capaz de discriminar un rango de temperaturas no peligrosas. La presente revisión intenta aclarar las bases biológicas de la termocepción o percepción de la temperatura, con un énfasis especial en los mecanismos moleculares de este sistema sensorial.

El papel de las neuronas en la percepción de la temperatura

Las neuronas son células especializadas en la transmisión de información,

*Recibido: 2 de julio de 2008 Aceptado: 14 de abril de 2009

¹Departamento de Investigación, Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias, México, D.F. ²Departamento de Biología Celular, Instituto de Fisiología Celular, UNAM. México, D.F. Correo E: aaguayo@ifc.unam.mx

acarreando señales desde todos los tejidos del cuerpo hacia el sistema nervioso central y viceversa. Se sabe que algunos tipos de neuronas son sensibles a estímulos térmicos, pues ciertos rangos de temperatura generan potenciales de acción en estas células. Dichos potenciales de acción se propagan a través de las fibras nerviosas desde los tejidos periféricos hasta la médula espinal y al cerebro, donde se interpretan como información térmica.

Existe un tipo especializado de neuronas conocidas como nociceptoras o sensibles a estímulos dolorosos. Algunos nociceptores se activan a temperaturas tan altas que pueden resultar dañinas (más de 43°C); dicha activación se interpreta en el cerebro como la sensación de calor quemante. De igual manera existen otras células nerviosas que responden a temperaturas peligrosamente bajas (menores a 10°C), dando como resultado la sensación de dolor por frío intenso (1, 2). Como veremos a continuación, estos nociceptores expresan ciertos canales catiónicos que les confieren la sensibilidad a temperatura. La caracterización de estas proteínas llevó al descubrimiento de otras similares, expresadas en neuronas sensoriales que no sean nociceptoras, que les confieren sensibilidad a temperaturas que se encuentran entre el frío intenso y el calor quemante.

TRPV1, una proteína responsable de la sensibilidad térmica

Los productos naturales que provocan sensaciones similares a las producidas por calor o frío ayudaron a definir el mecanismo molecular de la sensibilidad térmica. Por ejemplo, a partir del chile se purificó la molécula capsaicina, responsable de la sensación quemante producida por la comida picante; esta molécula resultó central en el descubrimiento de las proteínas sensibles al calor. En primer lugar se descubrió que solo ciertas

neuronas nociceptoras expresan un "receptor a capsaicina", es decir, una proteína que les confiere la capacidad de reaccionar a la capsaicina. Dadas las características de la respuesta a capsaicina, se supuso que el receptor a esta molécula era un canal catiónico no selectivo que, al permitir el paso de iones a través de la membrana plasmática, induce un potencial de acción en los nociceptores. Además todas las neuronas sensibles a capsaicina se activaban a temperaturas calientes nocivas (alrededor de 43°C o más), lo cual sugería que en estas neuronas el receptor de capsaicina también es el sensor térmico. Existía un gran interés en describir a este receptor, y el grupo de Caterina et al lo logró empleando una biblioteca de ADNc ("ADN complementario": el ADN sintetizado in vitro a partir del ARN mensajero expresado en un tipo particular de célula) obtenida de neuronas sensibles a capsaicina, a partir de la cual se buscó el ADNc que, al ser expresado en células insensibles a capsaicina, les confiriera sensibilidad a dicha molécula. Gracias a esta estrategia se clonó el gen del receptor de capsaicina, y se descubrió que esta proteína, responsable de conferir sensibilidad a capsaicina, también brindaba sensibilidad a temperaturas mayores a 43°C a células normalmente insensibles a temperatura. Este gen codifica, como se había previsto, para un canal iónico, ahora conocido como TRPV1 (Transient Receptor Potential, Vanilloid 1). TRP hace referencia al fenotipo de las moscas *D. melanogaster* donde se identificó al primer miembro de esta familia de canales, y Vanilloid se refiere a la familia de moléculas vainilloides, a la cual pertenecen la capsaicina y la vainillina, responsable del sabor y olor de la vainilla. Este canal permite el paso de iones a través de la membrana plasmática al abrirse en respuesta a capsaicina o a tempera-

turas mayores de 43°C, iniciando así el potencial de acción en las neuronas nociceptoras (3).

La clonación de TRPV1 permitió proponer una explicación al fenómeno de hiperalgesia (respuesta exagerada de dolor ante estímulos no necesariamente dañinos) observado en procesos inflamatorios, ya que la inflamación en respuesta a patógenos puede resultar en una acidificación del líquido intersticial y esta reducción de pH genera dolor (aunque éste no es el único mecanismo responsable de la hiperalgesia, existen otros que dependen de la secreción de mediadores como las prostaglandinas). El receptor de capsaicina no es activado directamente por la acidificación, aunque sí se potencia su sensibilidad a capsaicina y a altas temperaturas. En otras palabras, a pH bajo, el canal se activa a menores temperaturas, más cercanas a la temperatura fisiológica del organismo. Por lo tanto, la respuesta aumentada a estímulos nocivos que acompaña a la inflamación y la isquemia podría resultar, en parte, del aumento de la función de TRPV1 por el exceso de protones que se producen en estas situaciones.

La secuenciación del gen del canal TRPV1 también permitió conocer la secuencia de la proteína, a partir de la cual se estimó su probable estructura. Como muchos otros canales, TRPV1 consta de cuatro subunidades idénticas, cada una de las cuales está formada por una cadena polipeptídica con seis dominios transmembranales. El poro, la región que permite el paso de iones a través de la membrana lipídica, se forma por la interacción de las cuatro subunidades, en particular de una región que se encuentra entre el 5º y el 6º dominio transmembranal de cada subunidad (3). A diferencia de canales iónicos activados por voltaje, TRPV1 no tiene un dominio sensor de voltaje típico, aunque podría ser también relativamente sensible a voltaje.

A partir de la clonación de TRPV1 se han descrito en total seis proteínas responsables de la activación de neuronas sensoriales por temperatura. Estas seis proteínas son canales iónicos, miembros de una superfamilia de canales conocida como la familia de canales TRP, con más de 40 miembros descritos. Ordenados según su sensibilidad térmica, los canales TRP activados por temperatura son TRPA1 (activado a menos de 17°), TRPM8 (activado de 8 a 28°C), TRPV4 (activado a temperaturas mayores de 27°C), TRPV3 (activado a más de 31°C), TRPV1 (activado a más de 43°C) y TRPV2 (activado a más de 52°C, Fig. 1). Para una revisión más completa se recomienda al lector revisar las referencias (4) y (5).

Los canales sensibles a temperaturas cálidas

Asumiendo que canales con homología a TRPV1 también serían sensibles a temperatura, se hizo una búsqueda de proteínas que tuvieran alta identidad con el canal TRPV1, misma que tuvo como resultado la clonación de los canales TRPV2, TRPV3 y TRPV4.

Se encontró que TRPV2 es activado a temperaturas muy altas (mayores a 52°C), capaces de causar daño. Mediante registros realizados en nervios periféricos ya se había determinado que los nociceptores sensibles al calor pueden subdividirse en dos clases, los de umbral de activación medio (temperaturas mayores a 43°C), y los de umbral de activación alto (52°C en adelante). Dichos umbrales corresponden a la temperatura de activación de TRPV1 y TRPV2, respectivamente, por lo que no sorprendió el encontrar, mediante análisis histológicos, que estas proteínas se expresan de manera selectiva en dichos nociceptores, y son los responsables del umbral térmico de activación que presentan. Es importante notar que el

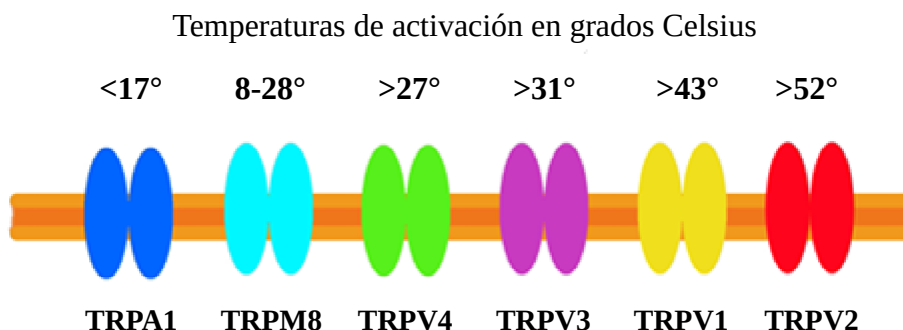


Figura 1. Los canales TRP sensibles a temperatura responden a un amplio rango de temperaturas. Este diagrama, adaptado de (1), muestra los canales TRP termosensibles de los mamíferos, con sus respectivas temperaturas de activación. En teoría estos canales bastarían para detectar todos los estímulos térmicos encontrados comúnmente en la naturaleza, desde el frío congelante hasta el calor quemante.

mARN de TRPV2 se expresa en tejidos que no pertenecen al sistema nervioso, como pulmón, bazo e intestino. Esto sugiere que existen otros estímulos, desconocidos hasta la fecha, capaces de activar a TRPV2. Es insensible a capsaicina y, a diferencia de TRPV1, su activación no es influenciada por el pH (6).

TRPV3 es también un canal catiónico no selectivo que tiene un umbral de temperatura de activación de entre 31 y 39°C. El mARN de TRPV3 se expresa en gran cantidad de tejidos como cerebro, médula espinal, testículos y, de manera importante, en keratinocitos, donde podrían modular niveles de Ca^{2+} intracelular o activar la liberación de factores de señalización parácrinos en respuesta a temperatura. Así mismo se puede detectar en la mayoría de las neuronas sensoriales de ganglios de raíz dorsal de todos los tamaños, incluidas las neuronas pequeñas nociceptoras que expresan TRPV1 y TRPM8. Es insensible a capsaicina o resiniferatoxina (otro agente capaz de activar a TRPV1), a ILGF-I (que activa a TRPV2) o, a diferencia de TRPV4, a soluciones hipotónicas y ésteres de forbol. Según estudios de coimmunoprecipitación se ha detectado que TRPV1 y TRPV3 interactúan entre sí. Se sabe que los cambios en la compo-

sición de subunidades de un canal pueden ser un mecanismo de control en la activación, posiblemente mediante la alteración de las propiedades biofísicas y/o farmacológicas del canal. Así, TRPV1 y TRPV3 podrían formar un canal heteromérico distinto, con una regulación particular, aunque no se ha estudiado a fondo la existencia de dicho canal ni su papel en la termosensación (7).

El canal TRPV4 se activa a temperaturas mayores a 27° C. Se expresa en neuronas hipotalámicas, sugiriendo que contribuye a la regulación central de la temperatura corporal. Además se ha detectado la expresión de este canal en riñón, traquea, diversas glándulas, leucocitos y fibras nerviosas autónomas. También se ha demostrado que el mARN de TRPV4 se expresa en ganglios sensoriales periféricos. Es importante mencionar que este canal también es activado por soluciones hipotónicas, por lo que se propone que podría funcionar como un sensor de osmolaridad o de estiramiento mecánico. Aunque se detectó el mARN de TRPV4 en neuronas de ganglio de raíz dorsal y trigémino, no se ha detectado la proteína como tal. Se sabe que la proteína es expresada en keratinocitos, células que podrían funcionar como sensores de tibieza en la piel, modulando niveles de calcio o

activando la liberación de factores de señalización parácrinos para excitar terminales sensoriales cercanas (8).

Los canales sensibles a frío

Hace más de 50 años se descubrió que el mentol aumenta el umbral de respuesta al frío en ciertas fibras del trigémino, es decir, el mentol provoca que las neuronas sensibles a frío se activen con temperaturas más cálidas que las que comúnmente las activarían. Desde entonces se sugirió que el mentol actuaba sobre las proteínas responsables de la regulación de los receptores al frío. De manera similar a la clonación del canal TRPV1 gracias a la capsaicina, el canal TRPM8 se clonó con estrategias basadas en su capacidad de conferir sensibilidad al mentol a las células que lo expresan; el mentol (al igual que otras sustancias que evocan la sensación de frescura, como la icilina) induce corrientes catiónicas en células que expresan TRPM8, y dichas corrientes tienen propiedades idénticas a las medidas en neuronas sensibles al frío. No se ha detectado la coexpresión de TRPM8 con marcadores de neuronas nociceptoras, y se estima que se expresa en una subpoblación, no descrita con anterioridad, de neuronas sensibles al frío. Las temperaturas menores a 28° C evocan corrientes catiónicas a través de TRPM8, con una respuesta máxima a 8° C (9).

Recientemente se clonó un canal conocido como TRPA1 que se activa a temperaturas menores a los 17°C. Este canal es insensible a mentol, y se expresa únicamente en células que también expresan TRPV1 (aunque no todas las células que expresan TRPV1 expresan TRPA1) y otras proteínas consideradas marcadores de neuronas nociceptoras. Aparentemente TRPA1 es el canal responsable de dar la señal de alarma cuando el organismo se acerca a temperaturas peligrosamente bajas (10).

Mecanismos moleculares de la sensibilidad a temperatura

Se han propuesto varios mecanismos para explicar la modulación de la actividad de los canales por temperatura. Según un modelo, los cambios de temperatura podrían inducir la síntesis y unión de segundos mensajeros que activen a los canales termosensibles. Sin embargo esta explicación es poco probable al considerar que se ha detectado activación de los canales TRP dependientes de temperatura en parches de membrana separados de la célula. Este hecho implica que la sensibilidad térmica es un proceso intrínseco del canal y la membrana en que está inmerso, e independiente de segundos mensajeros (excepto para TRPV4, como veremos más adelante). Cabe mencionar que experimentos recientes definen la existencia de módulos dentro de la estructura del canal, que confieren la regulación dependiente de temperatura. En estos experimentos, el extremo carboxilo terminal de TRPV1 y TRPM8 se intercambiaron, modificando el fenotipo del canal resultante, por lo cual los autores concluyen que el extremo carboxilo terminal es el responsable de la sensibilidad térmica del canal (11).

Otro modelo propone que las subunidades que forman el canal podrían sufrir rearrreglos estructurales dependientes de temperatura, mismos que provocarían la apertura del canal. Alternativamente los canales podrían detectar cambios en la tensión membranal debido a rearrreglos de la bicapa lipídica, dependientes de la temperatura. Sin embargo ambos modelos predicen cambios súbitos en la activación de los canales conforme se modifica la temperatura, pero la activación de hecho es más gradual de lo que estos modelos permitirían.

Antes de considerar el modelo más reciente de la activación de los canales sensibles a temperatura, cabe

mentonar que se consideraba a la apertura de los canales TRP como un proceso independiente de voltaje, dada la ausencia de cargas positivas en su cuarto dominio transmembranal. Este dominio con cargas positivas es el sensor de potencial eléctrico en canales típicamente activados por voltaje (como canales de potasio o sodio, o ciertos canales de calcio), canales que dependen para su activación de la diferencia de potencial que se da a través de la membrana celular. El cuarto dominio transmembranal de los canales TRP es eléctricamente neutro, por lo que se asumía que estos canales serían insensibles a voltaje. Sin embargo, recientemente se demostró que la sensibilidad de TRPM8 al frío depende fuertemente del voltaje transmembranal. El enfriamiento activa a TRPM8 al causar un cambio drástico en la dependencia de voltaje de la activación; dicho cambio consiste en que el canal se puede abrir a voltajes más cercanos a los encontrados normalmente en la membrana celular. TRPV1 también tiene algunas características dependientes de voltaje: de manera inversa a lo observado con TRPM8, es el calentamiento el que induce un cambio en el voltaje de activación, lo cual resulta en una activación del canal a voltajes más parecidos a los que existen en la membrana de las neuronas.

Estos resultados además demuestran que la activación de TRPM8 y TRPV1 no tiene un umbral único de temperatura. La sensibilidad a la temperatura se ve modulada por el potencial transmembranal, y los cambios en temperatura provocan cambios graduados de la dependencia de voltaje en la activación del canal. Estos resultados no son congruentes con los modelos ya mencionados de transición de fases dependiente de temperatura de la membrana lipídica, o del cambio conformacional de la proteína, ya que en estos procesos se espe-

raría un umbral térmico muy pronunciado.

Estos resultados sugieren que la sensibilidad a temperatura es una consecuencia termodinámica de la diferencia en la energía de activación asociada a la apertura y cierre dependiente de voltaje del canal (recordemos que la energía de activación se refiere a la energía que necesita un sistema para poder iniciar un proceso como, en los canales, el cambio conformacional que los abre o los cierra). En el modelo más reciente para explicar la regulación de estos canales, se definió que un canal es sensible a temperatura cuando las energías de activación (E_a) asociadas con los cambios conformacionales que resultan en la apertura (E_{aap}) y el cierre del canal (E_{aci}), son muy diferentes. Si la $E_{aap} \ll E_{aci}$, entonces la probabilidad de apertura del canal se incrementará al enfriarlo, como ocurre con TRPM8. Cuando $E_{aap} \gg E_{aci}$, la probabilidad de apertura del canal aumentará al calentarse (como TRPV1). Es importante resaltar que en la mayoría de los canales catiónicos sensibles a voltaje, la E_{aap} es muy similar a la E_{aci} , por lo que el aumentar la temperatura únicamente provoca una aceleración en los procesos de apertura y cierre del canal, sin cambiar apreciablemente la probabilidad de apertura del mismo. Es decir, su activación es independiente de temperatura (12).

Este mecanismo no es el mismo para todos los canales TRP sensibles a temperatura, por ejemplo TRPV4 no se activa por temperatura en parches de membrana separados de la célula y quizá requiera de un mensajero difusible para funcionar. Es po-

sible que otros canales también tengan un mecanismo alternativo de activación por temperatura.

¿Cómo se codifican las señales térmicas?

Los humanos tenemos subpoblaciones de neuronas sensoriales que expresan uno o más canales TRP, capaces de detectar temperaturas peligrosamente altas (TRPV1 para las moderadamente altas, TRPV2 para las muy altas), tibias a peligrosas (TRPV3 y TRPV4), moderadamente frías a peligrosamente frías (TRPM8) y peligrosas, sean frías o calientes (las que coexpresan TRPV1 y TRPA1). En un momento dado, un estímulo de determinada temperatura podría activar a varios subtipos de neuronas. En el ejemplo más sencillo, una temperatura inocua fría activaría únicamente a neuronas que expresan TRPM8. Si la temperatura baja, se activarían, además de esas neuronas, también aquellas que expresan TRPA1. La activación de neuronas en respuesta a un estímulo térmico peligrosamente alto es más compleja: a temperaturas mayores a 52°C se activarán activarse todas aquellas que expresaran TRPV1, TRPV2, TRPV3 o TRPV4. Esto indica que la sensación de temperatura no se da al activarse una única "línea sensorial" para cada modalidad térmica (temperaturas tibias, calor nocivo, frío o frío nocivo); más bien debe existir un código combinatorio, en las que los patrones de activación (incluyendo factores como tipo celular activado, cinética y nivel de activación de los canales) definan la sensación integrada a nivel central (1).

Finalmente es importante mencionar que existen otras proteínas sensi-

bles al calor, aunque no con la intensidad de los canales ya mencionados. Estas proteínas, dentro de las cuales se cuentan ciertos canales de potasio, bombas de sodio-potasio, y canales de sodio epiteliales, pueden contribuir a la respuesta de las neuronas sensoriales modulando la amplitud, duración y/o velocidad con la que se disparan los potenciales de acción evocados por el frío o el calor.

Conclusión

En los sistemas sensoriales de los humanos, los miembros individuales de familias de receptores están "sintonizados" para detectar estímulos únicamente en una ventana discreta de intensidades. Es el conjunto de diversos receptores los que reconocen un estímulo fisiológico a través de un rango dinámico muy amplio. El sistema visual es un ejemplo típico de esta modalidad, pues solo contamos con tres tipos de fotorreceptores, sintonizados para detectar longitudes de onda discretos, y la combinación de las señales generadas por estos fotorreceptores nos permite apreciar toda la gama de colores que conocemos. De manera análoga, aparentemente canales iónicos similares entre sí, pero expresados en distintas subpoblaciones de neuronas, son responsables de la sensibilidad a temperaturas, desde las temperaturas nocivas frías hasta las nocivas calientes, pasando por aquellas temperaturas que definimos como moderadamente frío, tibio y moderadamente caliente. Todavía quedan preguntas por resolver, pero ya se cuenta con las herramientas necesarias para comprender de manera bastante completa cómo funciona nuestro termómetro corporal.

REFERENCIAS

1. Jordt SE, McKemy DD, Julius D (2003) Lessons from peppers and peppermint: the molecular logic of thermosensation. *Curr Opin Neurobiol* 13: 487-492.
2. Julius D, Basbaum AI (2001) Molecular mechanisms of nociception. *Nature* 413: 203-210.
3. Caterina MJ, Schumacher MA, Tominaga M, Rosen TA, Levine JD, Julius D (1997) The capsaicin receptor: a heat-activated ion channel in the pain pathway. *Nature* 389: 816-824.
4. Patapoutian A, Peier AM, Story GM, Viswanath V (2003) ThermoTRP channels and beyond: mechanisms of temperature sensation. *Nat Rev Neurosci* 4: 529-539.
5. Montell C, Caterina MJ (2007) Thermoregulation: channels that are cool to the core. *Curr Biol* 17: R885-887.
6. Caterina MJ, Rosen TA, Tominaga M, Brake AJ, Julius D (1999) A capsaicin-receptor homologue with a high threshold for noxious heat. *Nature* 398: 436-441.
7. Xu H, Ramsey IS, Kotecha SA, Moran MM, Chong JA, Lawson D, Ge P, Lilly J, Silos-Santiago I, Xie Y, DiStefano PS, Curtis R, Clapham DE (2002) TRPV3 is a calcium-permeable temperature-sensitive cation channel. *Nature* 418: 181-186.
8. Guler AD, Lee H, Iida T, Shimizu I, Tominaga M, Caterina M (2002) Heat-evoked activation of the ion channel, TRPV4. *J Neurosci* 22: 6408-6414.
9. Peier AM, Moqrich A, Hergarden AC, Reeve AJ, Andersson DA, Story GM, Earley TJ, Dragoni I, McIntyre P, Bevan S, Patapoutian A (2002) A TRP channel that senses cold stimuli and menthol. *Cell* 108: 705-715.
10. Story GM, Peier AM, Reeve AJ, Eid SR, Mosbacher J, Hricik TR, Earley TJ, Hergarden AC, Andersson DA, Hwang SW, McIntyre P, Jegla T, Bevan S, Patapoutian A (2003) ANKTM1, a TRP-like channel expressed in nociceptive neurons, is activated by cold temperatures. *Cell* 112: 819-829.
11. Brauchi S, Orta G, Salazar M, Rosenmann E, Latorre R (2006) A hot-sensing cold receptor: C-terminal domain determines thermosensation in transient receptor potential channels. *J Neurosci* 26: 4835-4840.
12. Voets T, Droogmans G, Wissenbach U, Janssens A, Flockerzi V, Nilius B (2004) The principle of temperature-dependent gating in cold- and heat-sensitive TRP channels. *Nature* 430: 748-754.

EL FACTOR INDUCIDO POR LA HIPOXIA-1 (HIF-1) Y LA GLUCÓLISIS EN LAS CÉLULAS TUMORALES*

Alvaro Marín-Hernández

RESUMEN

El factor inducido por la hipoxia 1 (HIF-1) tiene un papel fundamental en la respuesta a la baja tensión del oxígeno, ya que regula la expresión de una gran variedad de genes, cuyos productos participan en procesos como la angiogénesis, el metabolismo energético, la eritropoyesis y la proliferación celular. Diversos estudios indican que existe una relación estrecha entre el cáncer y el HIF-1, debido a que los mecanismos que regulan su expresión se encuentran alterados en las células tumorales. El HIF-1 es uno de los factores involucrados en el incremento de la glucólisis en las células tumorales, ya que aumenta la actividad de ciertas isoformas de las enzimas glucolíticas (GLUT1, GLUT3, HKI, HKII, PFK-L, ALD-A, ALD-C, PGK1, ENO- α , PYK-M2, LDH-A, PFKFB-3), promoviendo un aumento del flujo glucolítico (producción de lactato, H⁺, ATP e intermediarios de la glucólisis). Por otra parte, algunas de estas isoformas participan activamente en otros procesos como son la inhibición de la apoptosis (HKI y HKII), la transcripción de histonas (LDH-A) y la migración celular (ENO- α), las cuales favorecen el desarrollo tumoral.

PALABRAS CLAVE: Hipoxia, glucólisis, HIF-1, isoenzimas glucolíticas, células tumorales.

INTRODUCCION

La baja tensión de oxígeno altera la homeostasis de la célula, lo que conduce a la activación del factor inducido por la hipoxia 1 (HIF-1). El HIF-1 tiene como función incrementar la transcripción de genes cuyos productos son proteínas que participan en la angiogénesis, la eritropoyesis, la proliferación celular, la remodelación vascular y el metabolismo energético;

permitiendo a la célula adaptarse a estas condiciones tan adversas (1).

En la mayoría de los tumores primarios de cerebro, páncreas, mama, colon, ovario, pulmón y próstata, y sus metástasis, se detectan altos niveles del HIF-1 comparados con los tejidos normales de los cuales provienen o tumores benignos (2). Las causas que promueven la sobreexpresión del HIF-1 en las células tumorales son la baja

ABSTRACT

The hypoxia-inducible factor 1 (HIF-1) is an important key mediator during low-oxygen cellular adaptation. Several genes involved in angiogenesis, erythropoiesis, energy metabolism and cell survival are up-regulated by HIF-1. In tumour cells, HIF-1 overexpression and activation is associated with malignancy, development and angiogenesis; whereas HIF-1 low expression has been determined in normal tissues and benign tumors. At metabolic level, HIF-1-activation stimulates transporters (GLUT1, GLUT3) and glycolytic enzymes (HKI, HKII, PFK-L, ALD-A, ALD-C, PGK1, ENO- α , PYK-M2, LDH-A, PFKFB-3) transcription. In consequence, a significant increment in the glycolytic flux (lactate, ATP, and H⁺) and glycolytic intermediates levels are attained. An additional role of some of these HIF-induced isoforms as activators of survival, histones transcriptional activation (LDH-A), apoptotic inhibition (HKI y HKII) and cellular migration (ENO- α) pathways is discussed.

KEY WORDS: Hypoxia, glycolysis, HIF-1, glycolytic enzymes, tumour cells.

tensión de oxígeno presente en los tumores y las alteraciones en los mecanismos que regulan su expresión. Por lo anterior, el HIF-1 puede considerarse como un marcador tumoral y un blanco terapéutico.

En esta revisión se analiza el papel que juega el HIF-1 en la regulación de la glucólisis, así como las ventajas que ofrece a las células tumorales la expresión de las enzimas

*Recibido: 19 de agosto de 2008 Aceptado: 14 de abril de 2009

Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez". Departamento de Bioquímica. Juan Badiano No. 1. Col. Sección XVI. México DF, 14080. Correo E: marinhernandez@yahoo.com.mx

glucolíticas inducida por este factor transcripcional.

Mecanismos de regulación del HIF-1

El HIF-1 es un heterodímero que incrementa la transcripción de varios genes al unirse al ADN en regiones consenso 5'-RCGTG-3' (R= A o G). Este factor transcripcional está constituido por dos proteínas llamadas HIF-1 α y HIF-1 β también conocido como ARNT (Aryl hydrocarbon Receptor Nuclear Translocator), las cuales tienen en su extremo amino terminal, un dominio bHLH (basic-Helix-Loop-Helix) y dos dominios PAS (Period clock-Aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator-Single minded) (Fig. 1). El dominio bHLH regula la dimerización del HIF-1 lo cual controla su unión al ADN. El dominio PAS, al parecer, participa en la selección del gen blanco (1, 3, 4).

Debido a que la expresión del HIF-1 β es constitutiva, la actividad del HIF-1 puede ser regulada exclusivamente por la expresión del HIF-1 α . En normoxia (concentración normal de oxígeno ~ 20-50 μ M), el HIF-1 α no se detecta y su tiempo de vida media ($t_{1/2}$) es de 5 minutos, pero en hipoxia (concentración de O₂ del 1% o 12.5 μ M), su $t_{1/2}$ aumenta considerablemente hasta 30 minutos (3).

El HIF-1 α tiene un dominio de degradación altamente sensible al oxígeno (ODDD: Oxygen -dependent degradation domain) que regula su estabilidad. Bajo normoxia, este dominio es hidroxilado en las prolinas 402 y 564 por las HIF-1 α prolin-4-hidroxilasas, esto permite su interacción con los aminoácidos 549-572 del dominio β de la proteína von Hippel-Lindau (pVHL) (Fig. 1). El pVHL es un componente del complejo E3 ubiquitin ligasa que es el encargado de ubiquitinar al HIF-1 α , conduciéndolo a ser degradado por el proteosoma (Fig 1). Por otra parte, si el HIF-1 α no es degradado, su activi-

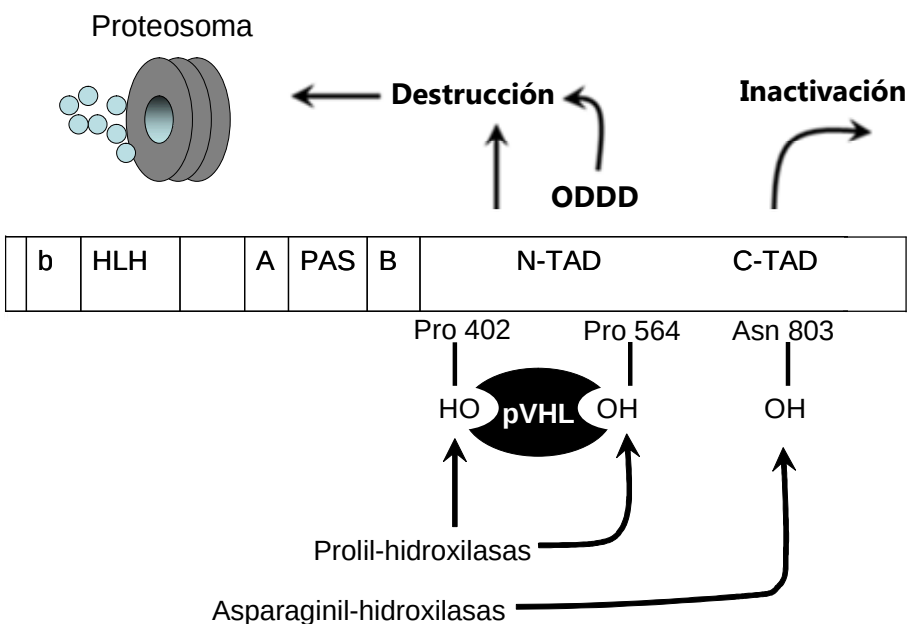


Figura 1. Mecanismos de regulación del HIF-1 α . Para que VHL se asocie con el HIF-1 α , éste deberá ser hidroxilado en las prolinas (Pro) 402 y 564 en las regiones ODDD por las HIF-1 α prolin-4-hidroxilasas, el HIF-1 α es degradado por el proteosoma. Cuando el HIF 1 α no es degradado, su actividad transcripcional puede ser inhibida al ser hidroxilada la asparagina (Asn) 803 del dominio de transactivación (CAD) por las asparaginil-aspartil hidroxilasas, lo cual inhibe el reclutamiento de los co-activadores (p300) que se unen a HIF-1 α para formar el complejo transcripcional. Esta es una figura modificada a partir de la referencia 4.

dad transcripcional es bloqueada cuando las asparaginil-aspartil hidroxilasas hidroxilan la asparagina 803, que se encuentra en el dominio de transactivación (CAD) (Fig. 1) (3, 4).

Las hidroxilasas juegan un papel importante en la regulación de la actividad del HIF-1 α , sin embargo, bajo hipoxia no es claro cómo su actividad disminuye. Ambas enzimas necesitan de varios sustratos para catalizar la hidroxilación del HIF-1 α : Fe²⁺, α -cetoglutarato, ascorbato y oxígeno. Lo que se propone es que bajo hipoxia, la reducción en la concentración de O₂ es la que limita la actividad de las hidroxilasas (3, 4). Sin embargo, con respecto a la concentración de O₂ que se puede encontrar en el citosol, en los capilares y en las arteriolas (~12.5- 50 μ M) (5), las afinidades (Km) de las hidroxilasas por el O₂ son demasiado altas (90 y 230 μ M); esto supondría que las dos enzimas se mantendrían

inactivas aún en normoxia dejando al HIF-1 α estable, lo cual no ocurre fisiológicamente. Otra propuesta alternativa es que la disminución en la concentración de O₂ promueve un aumento en la generación de los radicales libres en la mitocondria, al parecer producidos por el complejo III de la cadena respiratoria (6), aunque no es claro como se generan los radicales libres (7). Estos radicales oxidan el Fe²⁺ a Fe³⁺ lo que limita la actividad de las hidroxilasas. Esta propuesta se ha comprobado experimentalmente en diversos tipos de células (células de hepatoma, células vasculares de músculo liso, células cardíacas, células de epitelio gástrico, células epiteliales de túbulo renal y macrófagos), al no encontrarse HIF-1 α estable y activo cuando las células son sometidas a hipoxia y tratadas al mismo tiempo con antioxidantes (8, 9).

¿Cómo es que el HIF-1 α se mantiene estable en las células tumorales?

La estabilización del HIF-1 α se debe a la hipoxia a la que se ven sometidas las células tumorales desde que el tumor tiene un tamaño de 2-3 mm de diámetro, y aunque los tumores puedan generar nuevos vasos sanguíneos (proceso conocido como angiogénesis) estos están desorganizados, son frágiles y angostos por lo que tienen un flujo irregular y dejan, bajo hipoxia, zonas grandes del tumor (1,3).

Bajo normoxia, la estabilización del HIF-1 α se promueve por diversos mecanismos en las células tumorales:

a) La activación de algunos oncogenes como *v-src*, HER2^{neu} y H-RAS o con la pérdida de supresores de tumores como p53 y PTEN. Aún no es muy claro el mecanismo por el cual ocurre esto (1, 3).

b) Mutaciones en el factor pVHL que modifican o eliminan el dominio β (el cual interacciona con el dominio ODDD del HIF-1 α) lo que impide la degradación del HIF-1 α (1,3).

c) La acumulación del lactato y del

piruvato generados por la glucólisis (incrementada en células tumorales), pueden estabilizar al HIF-1 α y evitar que sea degradado. Se sospecha que ambos monocarboxilatos inhiben la actividad de las hidroxilasas porque compiten por el sitio de unión del α -cetoglutarato (9).

d) Mutaciones en los genes de la succinato deshidrogenasa (SDH) y de la fumarato hidratasa (FH) que propician una respuesta de pseudo-hipoxia que mantiene al HIF-1 α estable. Esto ocurre porque al incrementarse el succinato, producto de la reacción de las hidroxilasas, induce una inhibición por producto, en tanto que el fumarato compite por el sitio de unión del α -cetoglutarato de estas enzimas (8, 9).

Glucólisis

En las células tumorales se observa en general un aumento en la velocidad de glucólisis con respecto a los tejidos de origen, inducido por varios mecanismos, entre los que destaca la activación del HIF-1, que induce el incremento en la transcripción de los genes

de la mayor parte de las enzimas que forman la glucólisis (Fig. 2) (Tabla 1) (1). Sin embargo, a pesar de que algunas de las enzimas de la glucólisis tienen varias isoformas (Tabla 1), el HIF-1 solo induce el incremento de algunas de ellas (Fig. 2). En esta sección se analizan las características que posee cada una de las enzimas inducidas por el HIF-1, así como las ventajas que brindan a las células tumorales.

Transportador de glucosa (GLUT)

La familia de transportadores de glucosa se divide en tres clases. En la clase 1 se agrupa a cuatro transportadores (GLUT1-GLUT4) (Tabla 1) que tienen como sustrato a la glucosa, de los cuales el GLUT1 y el GLUT3 son blanco del HIF-1 α (Fig.2). El GLUT1 se expresa normalmente en todos los tejidos, en tanto que el GLUT3 se encuentra preferentemente en el cerebro. El por qué estos transportadores son sobreexpresados específicamente por el HIF-1 tiene que ver probablemente con sus afinidades por la glucosa (lo que puede favorecer una mayor entrada de

TABLA 1
Isoformas de los transportadores y enzimas que forman parte de la glucólisis

Enzimas	Genes	Isoformas	Oligomerización
Transportador de glucosa (GLUT)	4	GLUT1, GLUT2, GLUT3 y GLUT4	M
Hexocinasa (HK)	4	HKI, HKII, HKIII y HKIV	M
Hexosa fosfato isomerasa (HPI)	1	No se conocen isoformas	D
Fosfofructocinasa (PFK-I)	3	PFK-L, PFK-M, PFK-P	T
Aldolasa (ALD)	3	ALD-A, ALD-B, ALD-C	T
Triosa fosfato isomerasa (TPI)	1	No se conocen isoformas	D
Gliceraldehído 3-P deshidrogenasa (GAPDH)	1	No se conocen isoformas	T
Fosfoglicerato cinasa (PGK)	2	PGK1 y PGK2	M
Fosfoglicerato mutasa (PGAM)	2	PGAM-A y PGAM-B	D
Enolasa (ENO)	3	ENO- α , ENO- β , ENO γ	D
Piruvato cinasa (PK)	2	PK-R, PK-L, PK-M1, PK-M2	T
Lactato deshidrogenasa (LDH)	3	LDH-A y LDHB	T
Fosfofructocinasa tipo 2 (PFK-II)	4	PFKFB1, PFKFB2, PFKFB3 y PFKFB4	D
Transportador de monocarboxilatos (MCT)	4	MCT1, MCT2, MCT3, MCT4	M

M, monómero; D, dímero; T, Tetrámero.

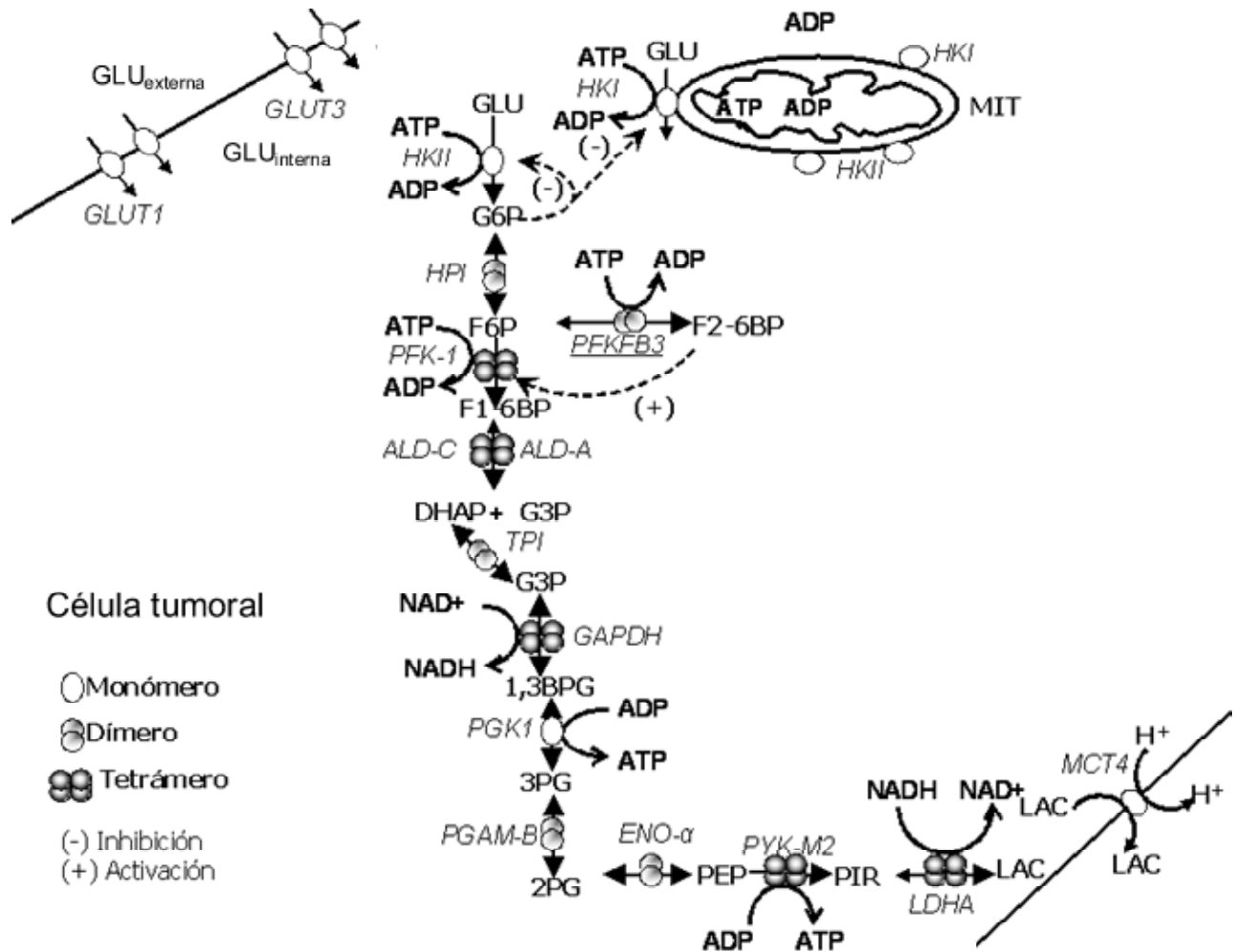


Figura 2. Enzimas de la glucólisis cuyos genes son blancos de HIF-1. HIF-1, factor inducible por la hipoxia-1; GLUT, transportador de glucosa; HK, hexocinasa; HPI, hexosa fosfato isomerasa; PFK, fosfofructocinasa tipo 1; ALD, aldolasa; PFKFB3, fosfofructocinasa tipo II; TPI, triosa fosfato isomerasa; GAPDH, gliceraldehído 3-P deshidrogenasa; PGK, fosfoglicerato cinasa; PGAM, fosfoglicerato mutasa; ENO, enolasa; PK, piruvato cinasa; LDH, lactato deshidrogenasa; MCT, transportador de monocarboxilatos; Glu, glucosa; ext, externa; int, interna; G6P, glucosa 6-fosfato; F6P, fructosa 6-fosfato; F2-6BP, fructosa 2, 6 bifosfato; F1-6BP, fructosa 1,6 bifosfato; DHAP, dihidroxi acetona fosfato; G3P, gliceraldehído 3-fosfato; 1,3BPG, 1,3 bifosfo-glicerato; 3PG, 3-fosfoglicerato; 2PG, 2-fosfoglicerato; PEP, fosfoenolpiruvato; PIR, piruvato; LAC, lactato.

glucosa a la célula, para incrementar la glucólisis), aunque experimentalmente solo se han determinado las afinidades de estos transportadores por análogos como la 2-desoxi-glucosa (GLUT3, $K_m = 1.8$ mM; GLUT4, $K_m = 4.6$; GLUT1, $K_m = 6.9$ mM; GLUT2, $K_m = 17.1$ mM) (10), pero no por la glucosa. Por lo tanto, es difícil establecer si en realidad tienen una afinidad alta por su sustrato fisiológico. Sin embargo, cabe señalar que para observar un incremento en la velocidad de glucólisis es necesario incrementar la cantidad del transportador, pues se ha determinado que esta proteí-

na ejerce un control de flujo importante sobre la glucólisis (30-70%), tanto en las células tumorales como en las no tumorales (11). Así pues, pequeños cambios en la actividad del GLUT modifican significativamente el flujo de la glucólisis.

El GLUT1 es el transportador que más se incrementa en los diversos tipos de cáncer (Tabla 2) (12) sobre todo en aquellos con alta proliferación y malignidad. En cambio, el GLUT3 se puede encontrar en el cáncer de pulmón, de colon, de ovario, de laringe y de glándula mamaria (13).

Hexocinasa (HK)

La HK tiene cuatro isoenzimas (Tabla 1, la reacción que cataliza se indica en la Fig. 2). HKI, HKII y HKIII tienen un peso molecular de 100 kDa y la glucocinasa (HKIV) un peso de 50 kDa; la diferencia entre las isoenzimas es su afinidad (K_m) por la glucosa ($HKIII > HKI > HKII > HKIV$), que va de 0.003 hasta 5 mM. La actividad de las isoenzimas I-III es regulada por la concentración de la glucosa 6-fosfato (G6P) que ejerce mientras que la HKIV es insensible a esta inhibición (14).

Los genes de las HKI y HKII son blanco del HIF-1 (Fig. 2) (1). La sobre-expresión de la HKII ocurre en la mayoría de los tumores, en tanto que en tumores cerebrales se encuentra preferentemente la HKI (Tabla 2) (11). Con el incremento en la actividad de ambas isoenzimas de la HK se propicia un aumento en la velocidad de la glucólisis en las células tumorales, debido a que ejercen un control significativo sobre esta vía (11).

Otra característica que comparten las dos enzimas es que pueden unirse a la membrana externa mitocondrial, a través de un segmento de 15 aminoácidos hidrofóbicos del extremo amino terminal. La asociación de la HK es preferentemente con el canal dependiente de voltaje (VDAC); a través de esta unión se puede impedir la salida del citocromo c mediado por

Bax y Bid (proteínas pro-apoptóticas) con lo cual la célula tumoral se protege contra la apoptosis (15).

Hexosa fosfato isomerasa (HPI)

Esta enzima es un homodímero con dos subunidades de 63-kDa (14) de la cual no se conocen isoenzimas (Tabla 1, la reacción que cataliza se indica en la Fig. 2). La HPI (también conocida como AMF, autocrine motility factor) además de participar en la glucólisis, puede promover la migración, la proliferación celular y la metástasis (15). Es factible que esta sea la razón por la cual el HIF-1 incrementa la expresión de esta enzima y se encuentre elevada en los tumores (Tabla 2).

Fosfofructocinasa tipo I (PFKI)

La PFKI es un homo-heterotetrámero con un peso aproximado de 380 kDa,

con tres isoenzimas (Tabla 1, la reacción que cataliza se indica en la Fig. 2). La PFK-M que se encuentra en el músculo, la PFK-L que se localiza en el hígado y la PFK-P o C que se encuentra preferentemente en las plaquetas. La combinación de las tres isoenzimas se encuentra en el resto de los tejidos (16).

La PFK-M tiene mayor afinidad por la fructosa 6-fosfato (F6P) ($K_{0.5} = 0.6-2 \text{ mM}$) y es menos sensible a la inhibición inducida por el ATP; la PKF-L es menos susceptible a la inhibición por el citrato ($K_i \text{ aparente} = 0.18 \text{ mM}$); la PFK-P es la isoenzima que tiene la afinidad mas baja por F6P ($K_{0.5} = 1.4-4 \text{ mM}$) y es la más susceptible al efecto inhibitorio del citrato ($K_i \text{ aparente} = 0.08 \text{ mM}$) (17). Consecuentemente, resulta comprensible que en los tumores las isoenzimas

TABLA 2

Tipos de cáncer en donde se han encontrado expresadas algunas isoformas de las enzimas de la glucólisis

Isoformas	Tipos de cáncer																			
	Hígado	Páncreas	Gm	Esófago	Cerebro	Riñón	Pulmón	Piel	Colon	Endo.	Ovario	Cérvix	Laringe	Testículo	C.y.C.	N.Lin	Próstata	Estomago	Útero	SN
GLUT1	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X								
GLUT3			X				X		X		X		X							
HKI					X									X	X					
HKII	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X		X	X	X	X	X	X	
HPI	X	X		X	X	X	X	X			X			X	X	X	X	X	X	
PFK-L				X	X	X	X									X	X			
ALD-A	X	X	X		X	X	X				X			X	X		X	X	X	
TPI	X	X	X	X	X	X	X				X			X		X	X	X	X	
GAPDH	X	X	X	X	X	X	X	X			X	X		X	X	X	X	X	X	
PGK1	X	X	X	X					X					X		X	X	X	X	
PGAM-B	X		X				X		X								X	X	X	X
ENO- α	X	X		X	X	X	X	X			X	X		X			X	X	X	
PYK M	X	X	X	X	X	X	X	X			X			X	X	X	X	X	X	X
LDH A	X		X		X		X							X	X	X	X	X	X	
PFKFBP3			X						X		X						X			
MTC4	No hay reportes																			

Datos obtenidos de las referencias 12, 13, 22, 35 y 36. Gm, glándula mamaria; Endo, endometrio; C y C, cabeza y cuello; N. Lin, nódulos linfáticos; SN, sistema nervioso; LR, linfoma reticular; MO, médula ósea.

PFK-L y PFK-M sean las que se expresan preferentemente, por su baja sensibilidad a sus inhibidores fisiológicos (aunque el HIF-1 solo afecta la expresión de la PFK-L). Por lo que en las células tumorales la PFK se mantiene muy activa contribuyendo así al incremento de la glucólisis.

Además, cabe señalar que en las células tumorales se mantienen niveles elevados de la fructosa 2,6 bifosfato (F2-6BP), el activador mas potente que se conoce de la PFK tipo I (aspecto abordado en la sección de la PFKII) y que reduce significativamente el efecto inhibitorio del ATP y el citrato.

Aldolasa (ALD)

La ALD es un tetrámero de subunidades de 40 KDa, de la cual existen tres isoenzimas (Tabla 1), la ALD-A que se encuentra predominantemente en el músculo, la ALD-B que se encuentra el hígado y la ALD-C en el cerebro, y combinaciones de ellas se distribuyen en todos los tejidos (16).

Las ALDs A y C son más eficientes en catalizar la reacción de la fructosa 1,6 bifosfato (F1-6BP) a gliceraldehído 3-fosfato (G3P) y dihidroxi acetona fosfato (DHAP) ($F1-6BP > G3P + DHAP$) de 10 a 20 veces que la isoenzima B (18), en tanto que la ALD B presentan una mayor afinidad por G3P y DHAP que le permite generar fácilmente F1-6BP (reacción reversa, $G3P + DHAP > F1-6BP$). Debido a esto, la ALD-A y C se encuentran preferentemente en los tejidos con activa glucólisis como el músculo, en cambio la ALD-B se encuentra preferentemente en los tejidos gluconeogénicos como el hígado y el riñón. El HIF-1 incrementa la expresión de las ALD-A y ALD-C (Fig. 2) (1), lo que favorece el incremento de la glucólisis. De manera interesante, la isoenzima A es la que se encuentra expresada predominantemente en los tumores (12) (Tabla 2), aunque cabe

señalar que también se ha reportado el aumento en la expresión de las isoenzimas B y C.

Triosa fosfato isomerasa (TPI)

Es un dímero que consta de dos subunidades de 27 KDa de la cual no se conocen isoenzimas (Tabla 1, la reacción que cataliza se indica en la Fig. 2), aunque pueden encontrarse proteínas con modificaciones post-traduccionales (16). La expresión de la TPI es afectada por el HIF-1, aunque es la enzima con la mayor actividad de todas las enzimas que forman la glucólisis, pues su actividad oscila entre 6-61 U/mg, mientras que el resto de las enzimas de la vía tienen actividades de 0.003 a 0.8 U/mg. Entonces, es probable que el incremento observado en la actividad de la TPI en los tumores (Tabla 2), más que para favorecer el incremento de la glucólisis, su contribución sea en algún otro proceso que aún se desconoce.

Gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa (GAPDH)

Esta enzima es un homo-tetrámero de subunidades de 37 KDa (14) (Tabla 1, la reacción que cataliza se indica en la Fig. 2). Al igual que otras enzimas de la glucólisis, la GAPDH ejerce otras funciones. Por ejemplo, participa en la endocitosis, en la reparación del ADN (debido a que es una uracil ADN glucosilasa y remueve uracilos), en la transcripción, en la exportación de tARN al núcleo y al parecer puede participar también en la apoptosis (15). En los tumores su incremento es inducido por el HIF-1 lo que puede favorecer alguna de las actividades antes descrita.

Fosfoglicerato cinasa (PGK)

La PGK es un monómero de 48 kDa que tiene dos isoenzimas (Tabla 1, la reacción que cataliza se indica en la Fig. 2); la PGK1 que se expresa en todas las células somáticas y la PGK2 que se expresa solamente en el esper-

matozoide. El HIF-1 induce la expresión de la PGK1 (Fig. 2) (1) y es la isoenzima que se ha encontrado sobre-expresada en los tumores (Tabla 2). La sobre-expresión de la PGK1 puede tener mayor relevancia en otros procesos que en la misma glucólisis, pues se ha determinado que la PGK1 participa en la generación de la angiostatina (inhibidor de la angiogénesis y la metástasis) que es un producto de la proteólisis de la plasmina. Después de ser secretada por el tumor, la PGK1 reduce los enlaces disulfuro de la plasmina con lo cual quedan expuestas secciones que son eliminadas por proteasas, originando la angiostatina (19). Sin embargo, se desconoce la contribución que puede tener la angiostatina en el desarrollo tumoral.

Fosfoglicerato mutasa (PGAM)

Esta enzima cataliza la conversión del 3-fosfoglicerato (3PG) a 2-fosfoglicerato (2PG) (Fig. 2) y tiene como cofactor al 2,3-bisfosfoglicerato (2,3BPG). La PGAM es un dímero (Tabla 1) compuesto por las isoenzimas A y B (AA, BB y AB) las cuales están codificadas por dos genes diferentes (20). Los parámetros cinéticos determinados en las isoenzimas de ratón indican que la afinidad de la PGAM-B por el 3PG ($K_m = 0.5 \text{ mM}$) y el 2,3BPG ($K_m = 25 \text{ } \mu\text{M}$) es mayor con respecto a la PGAM-A ($K_m = 0.8 \text{ mM}$ y $60 \text{ } \mu\text{M}$). En tanto que la afinidad por el 2PG de ambas isoenzimas es similar ($K_m = 0.28 \text{ mM}$) (21).

En estudios realizados con fibroblastos de ratón se encontró que el incremento de ambas isoenzimas favorecía la proliferación e inmortalización de estas células, en tanto que cuando se disminuía su transcripción con ARN de interferencia se inducía una senescencia prematura (22). Por ello se les ha relacionado con la inmortalización de las células tumorales. La sobre-expresión de

la PGAM-B se ha encontrado en diversos tipos de cáncer (hígado, pulmón, colon y glándula mamaria) (22). El HIF-1 regula la expresión de la PGAM-B (23).

Enolasa (ENO)

Es una metaloenzima dimerica (Tabla 1, la reacción que cataliza se indica en la Fig. 2); cada subunidad tiene un peso molecular de 82-100 KDa. Puede estar constituida por la combinación de tres isoenzimas α , β y γ , encontrándose solo las siguientes combinaciones $\alpha\alpha$, $\alpha\beta$, $\beta\beta$, $\alpha\gamma$ y $\gamma\gamma$ (24). La ENO- α se encuentra en la mayoría de los tejidos incluyendo el hígado, la ENO- β se encuentra preferentemente en el músculo y la ENO- γ se encuentra en los tejidos cerebrales (24). La caracterización parcial indica que las isoenzimas tienen una afinidad similar por el 2PG ($K_m = 30 \mu\text{M}$) (25).

El gen de la ENO- α es blanco del HIF-1 y se ha observado el aumento en su transcripción en diversos tipos de cáncer (Tabla 2). Esta isoenzima puede favorecer el crecimiento y la diseminación de los tumores (metástasis), debido a que actúa como receptor del plasminógeno. El sistema del plasminógeno se encarga de degradar los coágulos de fibrina que se generan en el organismo, así como de favorecer la migración celular debido a que facilita la penetración a través de las barreras proteicas (24).

Piruvato cinasa (PYK)

Esta enzima es un tetrámero con cuatro isoenzimas (Tabla 1, la reacción que cataliza se indica en la Fig. 2). La PYK-L que se encuentra en hígado y riñón (tejidos gluconeogénicos) y la PYK-R que se expresa en eritrocito son codificadas por el mismo gen (compuesto de 12 exones), pero por el uso de promotores alternativos se transcribe una u otra isoforma. El promotor específico para PYK-R se localiza en el exón 1 y para PYK-L en

el exón 2. La isoenzima PYK-M1 se encuentra en cerebro, corazón y músculo y la PYK-M2 se expresa en las células con activa proliferación como células embrionarias, células stem, leucocitos, plaquetas y células tumorales. Las isoenzimas M1 y M2 son productos de un mismo gen sometido a splicing alternativo (25).

La PYK-M1 es la única isoforma que no presenta cooperatividad con respecto al fosfoenolpiruvato (PEP). La PYK-M1 tiene la mayor afinidad por PEP ($K_m = 0.08 \text{ mM}$), mientras que la PYK-R tiene la menor afinidad ($K_m = 1.4 \text{ mM}$). Tres de las cuatro isoenzimas (R, L y M2) se activan por F1-6BP ($K_a = 0.06$ a $0.4 \mu\text{M}$). El ATP ejerce una potente inhibición sobre las isoformas L y R ($K_i = 0.1$ y 0.04 mM , respectivamente) y una ligera inhibición sobre las isoformas M1 y M2 ($K_i = 3$ y 2.5 mM , respectivamente). La actividad de la PYK-L y PYK-R también se regula por fosforilación/desfosforilación en cambio, las isoenzimas M1 y M2 no son fosforiladas y por lo tanto no son reguladas por acción hormonal (26).

El HIF-1 incrementa la expresión de la isoenzima M2, que es la principal isoenzima que se encuentra en tumores (Tabla 2). Esto puede favorecer a la glucólisis por ser poco sensible al efecto inhibitorio del ATP y no ser regulada por fosforilación. Además, la PYK-M2 se encuentra como dímero (poco activa) y como tetrámero (activa); la proporción de estas dos formas depende de las concentraciones de F1-6BP y de algunas oncoproteínas (pp60 v-src y HPV-16 E7) (27). Recientemente se ha establecido que la PYK-M2 es la única isoenzima que une péptidos fosforilados en tirosina; estos péptidos se inducen al ser estimulada la célula por factores de crecimiento (28). A su vez, los péptidos y las oncoproteínas que interaccionan directamente con la enzima, inducen la liberación del activador (F1-6BP) de la

PYK-M2, propiciando la dimerización de la enzima y su inactivación. Con esto disminuye el flujo glucolítico y se acumulan los intermediarios de la vía antes de la PYK, con lo que se favorece la síntesis de ácidos nucleicos, proteínas y lípidos indispensables para la duplicación celular (27, 28).

Lactato deshidrogenasa (LDH)

Esta enzima es un tetrámero con 2 isoenzimas, LDH-A (isoenzima de músculo) y LDH-B (isoenzima de corazón) y con cinco combinaciones formadas a partir de las dos isoformas (Tabla 1, la reacción que cataliza se indica en la Fig. 2); LDH1(B_4), LDH-2 (B_3A), LDH-3 (B_2A_2), LDH-4 (BA_3) y LDH-5 (A_4), las cuales difieren en sus propiedades cinéticas. En testículo y en los espermatozoides se expresa exclusivamente otra isoenzima de la LDH conocida como LDH-C₄ (29).

En los tejidos en donde se generan grandes cantidades de lactato (hígado y músculo esquelético) se encuentra predominantemente LDH-5 y LDH-4, isoenzimas con alto contenido subunidad A que preferentemente genera lactato a partir del piruvato. En cambio en aquellos tejidos que consumen lactato (corazón, eritrocito y riñón) se encuentran predominantemente las isoenzimas con mayor proporción de la subunidad B (LDH-1 y LDH-2) que tienen mayor afinidad por lactato ($K_m = 4 \text{ mM}$) con respecto a la isoenzima A ($K_m = 7 \text{ mM}$) (30).

Es claro que para favorecer el aumento en la velocidad de glucólisis y por lo tanto la producción de lactato, el HIF-1 induce la sobre-expresión de la LDH-A (Fig. 2). Sin embargo, puede que el incremento en la cantidad de esta enzima también sea para favorecer otras de las actividades que realiza. Diversos reportes indican que la enzima se une a ADN de una sola cadena por lo cual se especula sobre su participación en la transcripción. La unión de la LDH al ADN se inhibe por NADH, porque los

sitos de la enzima que permiten la unión a la cadena de ADN son próximos al sitio de unión de la coenzima; por ello se considera que la relación NADH/NAD⁺ puede regular la unión de la LDH al ADN. Además, se ha encontrado que la LDH forma parte de un complejo transcripcional denominado OCA-S el cual en fase S induce la transcripción de la histona H2B (15).

Fosfofructocinasa tipo II (PFK-II)

Esta es una enzima homodimérica bifuncional con actividad de cinasa y bifosfatasa que se localizan en los extremos carboxilo y amino terminal, respectivamente (31). Regula las concentraciones de F2-6BP (el activador más potente de la PFK-I), ya que la cinasa sintetiza F2-6BP a partir de F6P y ATP, en tanto que la bifosfatasa degrada la F2-6BP a F6P y fosfato inorgánico (Fig. 2). Así, la relación cinasa/bifosfatasa determina que reacción se favorece y por lo tanto el contenido de F2-6BP en la célula. A su vez, las dos actividades en la enzima se regulan por algunos metabolitos (PEP, α -glicerol fosfato y citrato) y por fosforilación en la serina 32 por la proteína cinasa A, que inhiben la actividad de cinasa y favorecen la de fosfatasa (31).

En el genoma de la rata y del humano hay cuatro genes (PFKFB-1, 2, 3 y 4) que codifican para cuatro isoenzimas (hígado, corazón, placenta y testículo) (Tabla 1) de la PFK-II. Al parecer los cuatro genes pueden ser regulados por HIF-1, aunque solo para el gen de la PFKFB-3 se ha demostrado la presencia de secuencias consenso para la unión de este factor de transcripción (32). El producto de este gen (isoenzima de placenta) se llega a encontrar sobre-expresado en una gran variedad de tumores (Tabla 2). La presencia de esta isoenzima propicia un aumento en la concentración de la F2-6BP, debido a que la actividad de fosfatasa es muy baja (0.2 mU/mg para

la enzima recombinante) en comparación de la actividad de cinasa (140 mU/mg); estos valores de actividad corresponden a una relación cinasa/fosfatasa de 710 que, comparado al valor de otras isoenzimas (0.4-4.1) es muy alto. Además se ha descrito que la actividad de cinasa de PFKFB-3 no se inhibe por fosforilación, debido a que esta isoenzima carece del sitio de fosforilación (serina 36) (31).

El aumento en la concentración de F2-6BP en las células tumorales favorece el incremento en el flujo glucolítico, debido a que la PFK-I se activa al máximo y deja de ser inhibida por el ATP y el citrato.

Transportador de monocarboxilatos (MCT)

Con el aumento en la glucólisis, el lactato y los H⁺ que se producen tienen que ser expulsados por las células tumorales antes de que induzcan estrés osmótico y la acidificación del citosol, lo cual afectaría la homeostasis de la célula (33).

La familia de MCTs está compuesta por 14 miembros. Se ha documentado experimentalmente que los primeros cuatro miembros (MCT1-MCT4) transportan y expulsan L-lactato así como otros importantes monocarboxilatos (piruvato y cuerpos cetónicos) junto con un protón. La expulsión del lactato (generado por la glucólisis) se favorece con la disminución del pH a nivel intracelular.

El MCT1 se encuentra en todos los tejidos, mientras, el MCT2 se expresa en el riñón y el cerebro. En retina se localiza el MCT3, en tanto el MCT4 se localiza preferentemente en los tejidos con una activa glucólisis, como músculo esquelético, leucocitos, testículo, pulmón, placenta y corazón. Las afinidades que se han determinado para las cuatro isoformas oscilan entre 0.7 a 28 mM por L-lactato y de 0.1 a 150 mM por piruvato, siendo el MCT4 el que mostró la afinidad mas

baja por ambos sustratos ($K_m = 28$ y 150 mM) (33).

Hasta el momento, no hay estudios enfocados en determinar que isorformas de los MCTs se expresan en los diversos tipos de cáncer, aunque recientemente se describió que MCT4 se sobre-expresa por el HIF-1(34). Por lo tanto, no se descarta que MCT4 se sobre-exprese en algunos tipos de cáncer.

La expresión del MCT4 favorece el incremento de la glucólisis debido a que la baja afinidad del transportador por piruvato impide la rápida expulsión de éste del interior de la célula. Esto permite que la LDH-A lo utilice para regenerar NAD⁺ (Fig. 2), sustrato indispensable para que se mantenga la glucólisis activa. Además, este transportador expulsa al lactato y los H⁺ (productos de la reacción de la LDH-A), impidiendo la disminución del pH intracelular que afectaría la actividad de las enzimas de la glucólisis (Fig. 2).

Integrando la información anterior, el HIF-1 incrementa la velocidad de la glucólisis en las células tumorales debido a que induce un aumento en la actividad de todas las enzimas que forman parte de esta vía metabólica. En primera instancia el HIF-1 incrementa la actividad de las enzimas que controlan la glucólisis como el transportador de glucosa (GLUT1 y GLUT3) y la hexocinasa (HKI y HKII). Con ello se facilita la entrada de la glucosa y su fosforilación, generándose G6P. Con el incremento en la actividad de la HPI se favorece la conversión de la G6P a F6P. Posteriormente la PFK-L toma la F6P para generar F1-6BP, esta enzima es muy activa debido a su baja sensibilidad a la inhibición ejercida por el ATP y el citrato, lo que permite que no se frene la glucólisis. El aumento en la concentración de la F2-6BP (potente activador de la enzima) inducido por la PFKII (isoenzima

PFKFB-3) contribuye en esta falta de sensibilidad. A partir de la F1-6BP la ALD A o ALD C generan G3P y DHAP, como estas enzimas catalizan con mayor eficiencia esta reacción que la reacción reversa ($G3P + DHAP > F1-6BP$), permiten la acumulación de G3P y DHAP, para que puedan ser tomados por la TPI (que transforma la DAHP a G3P) y la GAPDH (que transforma al G3P a 1,3 bifosfoglicerato). Con el incremento en la actividad de la PGK, de la PGAM y de la ENO se favorece la transformación del 1,3 bifosfoglicerato a PEP con la generación de ATP. El PEP es tomado por la PYK-M2 para producir piruvato y ATP. Esta enzima es muy activa a causa de que no es inhibida por el ATP, es activada por la F1-6BP y no es fosforilada por acción hormonal. El piruvato producido es transformado en lactato por la LDH-A regenerando el NAD^+ (Fig. 2), lo que permite que se mantenga funcionando la glucólisis. La baja afinidad que tiene la LDH-A por el lactato impide catalizar eficientemente la reacción reversa ($lactato > piruvato$) y por lo tanto de-

tener a la glucólisis. Finalmente la expresión del MTC-4 permite que el piruvato generado no salga de la célula para que se regenere el NAD^+ , además de expulsar eficientemente el lactato y los H^+ que afectan el pH intracelular.

Por otra parte el HIF-1 favorece el desarrollo de las células tumorales al inducir la expresión de enzimas de la glucólisis, que pueden participar en otros procesos como: la transcripción (GAPDH, LDH-A), la reparación del ADN (GAPDH), la migración celular (HPI), la inhibición de la apoptosis (HKI y HKII), la proliferación celular (PGAM-B, HPI), la inmortalización celular (PGAM-B), la invasión (ENO- α , HPI) y la metástasis (ENO- α , HPI).

Conclusiones

Con base en la información vertida en esta revisión, podemos concluir que el HIF-1 incrementa la expresión de determinadas isoformas de las enzimas glucolíticas en las células tumorales (Tabla 2), para favorecer el aumento de la glucólisis y de otros

procesos (transcripción reparación del ADN, migración celular, inhibición de la apoptosis, proliferación celular, inmortalización celular, invasión y metástasis), que permiten el desarrollo de los tumores. Por ello, el HIF-1 es un blanco terapéutico atractivo.

A este respecto, existen avances y la inhibición del HIF-1 ha dado como resultado una reducción en el crecimiento tumoral. Sin embargo, en algunos tipos de cáncer la inhibición del HIF-1 causó un aumento en la proliferación celular (37). Por tal motivo, es indispensable establecer cuales son las circunstancias que favorecen uno u otro efecto, ya que hasta el momento no es muy claro. Adicionalmente, la inhibición del HIF-1 puede acarrear algunos efectos secundarios adversos, sobre todo por que este factor participa en varios procesos fisiológicos como en el desarrollo del corazón, del sistema vascular y de los osteoblastos. Además de ser un factor clave en el desarrollo embrionario y en el mantenimiento del sistema inmune (37).

REFERENCIAS

1. Semenza GL (2000) HIF-1: mediator of physiological and pathophysiological responses to hypoxia. *J Appl Physiol* 88: 1474-1480.
2. Zhong H, De Marzo AM, Laughner E, Lim M, Hilton DA, Zagzag D, Buechler P, Isaacs W, Semenza GL, Simons JW (1999) Overexpression of hypoxia-inducible factor 1 α in common human cancers and their metastases. *Cancer Res* 59: 5830-5835.
3. Fedele AO, Whitelaw ML, Peet DJ (2002) Regulation of gene expression by the hypoxia-inducible factors. *Molecular Interventions* 2, 229-243.
4. Pouyssegur J, Dayan F, Mazure NM (2006) Hypoxia signalling in cancer and approaches to enforce tumour regression. *Nature* 441: 437-443.
5. Ward JPT (2008) Oxygen sensors in context. *Biochim. Biophys. Acta* 1777: 1-14.
6. Bell EL, Klimova TA, Eisenbart J, Moraes CT, Murphy MP, Budinger GRS, Chandel NS (2007) the Qo site of the mitochondrial complex III is required for the transduction of hypoxic signaling via reactive oxygen species production. *J. Cell. Biol.* 177: 1029-1036.
7. Guzy RD, Schumacker PT (2006) Oxygen sensing by mitochondrial at complex III: the paradox of increased reactive oxygen species during hypoxia. *Exp. Physiol.* 91: 807-819.
8. Lee K, Roth RA, LaPres JJ. (2007) Hypoxia, drug therapy and toxicity. *Pharmacol. Ther.* 113, 229-246.
9. Pouyssegur J, Mechta-Grigoriou (2006) Redox regulation of the hypoxia-inducible factor. *Biol. Chem.* 387: 1337-1346.
10. Burant CF, Bell GI (1992) Mammalian facilitative glucosa transporters: evidence for similar substrate recognition sites in functionally monomeric proteins. *Biochemistry* 31: 10414-10420.

11. Marín-Hernández A, Rodríguez-Enríquez S, Vital-González PA, Flores-Rodríguez FL, Macías-Silva M, Sosa-Garrocho M, Moreno-Sánchez R (2006) Determining and understanding the control of glycolysis in fast-growth tumor cells. Flux control by an over-expressed but strongly product-inhibited hexokinase. *FEBS J.* 273: 1975-1988.
12. Alterberg B, Greulich KO (2004) Genes of glycolysis are ubiquitously overexpressed in 24 cancer classes. *Genomics* 84: 1014-1020.
13. Macheda ML, Rogers S, Best JD (2005) Molecular and cellular regulation of glucose transporter (GLUT) proteins in cancer. *J. Cell. Physiol.* 202: 654-662.
14. Wilson JE (2003) Isozymes of mammalian hexokinase: structure, subcellular localization and metabolic function. *J. Exp. Biol.* 206:2049-2057.
15. Kim JW, Dang CV (2005) Multifaceted roles of glycolytic enzymes. *TRENDS Biochem. Sci.* 30: 142-150.
16. van Wijk R, van Solinge WW (2005) The energy-less red blood cell is lost-erythrocyte enzyme abnormalities of glycolysis. *Blood* 106: 4034-4042.
17. Danaway GA, Kasten TP, Sebo T, Trapo R (1988) Analysis of the phosphofructokinase subunits and isoenzymes in human tissues. *Biochem. J.* 251:677-683.
18. Pezza JA, Choi KH, Berardini TZ, Beernink PT, Allen KN, Tolan DR (2003) Spatial clustering of isozyme-specific residues reveals unlikely determinants of isozyme specificity in fructose-1,6-bisphosphate aldolase. *J. Biol. Chem.* 278: 17307-17313.
19. Lay AJ, Jiang XM, Kisker O, Flynn E, Underwood A, Condron R, Hogg PJ (2000) Phosphoglycerate kinase acts in tumour angiogenesis as a disulphide reductase. *Nature* 408: 869-873.
20. Repiso A, Ramirez Bajo MJ, Vives Corrons JL, Carreras J, Climent F (2005) Phosphoglycerate mutase BB isoenzyme deficiency in a patient with non-spherocytic anemia: familial and metabolic studies. *Haematologica* 90: 257-259.
21. Fundele R, Krietsch WKG (1985) Purification and properties of the phosphoglycerate mutase isoenzymes from the mouse. *Comp. Biochem. Physiol.* 81:965-968.
22. Kondoh H, Leonart ME, Gil J, Wang J, Degan P, Peters G, Martinez D, Camero A, Beach D (2005) Glycolytic enzymes can modulate cellular life span. *Cancer Res.* 65: 177-185.
23. Tarahashi Y, Tarahashi S, Yoshimi T and Miura T (1998) Hypoxia-induced expression of phosphoglycerate mutase B in fibroblast. *Eur. J. Biochem.* 254:497-504.
24. Pancholi V (2001) Multifunctional α -enolase: its role in diseases. *Cell. Mol. Life Sci.* 58:902-920.
25. Shimizu A, Suzuki F, Kato K (1983) Characterization of alpha alpha, beta beta, gamma gamma and alpha gamma human enolase isoenzymes, and preparation of hybrid enolases (alpha gamma, beta gamma and alpha beta) from homodimeric forms. *Biochem. Biophys. Acta* 748:278-284.
26. Imamura K, Tanaka T (1982) Pyruvate kinase isozymes from rat. *Methods Enzymol.* 90:150-165.
27. Mazurek S, Grimm H, Boschek CB, Vaupel P, Eigenbrodt E (2002) Pyruvate kinase type M2: a crossroad in the tumor metabolome. *Brit. J. Nutr.* 87:23-29.
28. Chirstofk HR, Vander Heiden MG, Wu N, Asara JM, Cantley LC (2008) Pyruvate kinase M2 is a phosphotyrosine-binding protein. *Nature* 452:181-188.
29. Drent M, Cobben NAM, Henderson RF, Wouters EFM, van Dieijen-Visser M (1996) Usefulness of lactate dehydrogenase and its isoenzymes as indicators of lung damage or inflammation. *Eur. Respir. J.* 9:1736-1742.
30. Buhl SN, Jackson KY, Vanderlinde RE (1977) The effect of temperature on kinetic constants of human lactate dehydrogenase 1 and 5. *Clin. Chem. Acta* 80: 265-270.
31. Okar DA, Manzano A, Navarro-Sabate A, Riera Ll, Bartrons R, Lange AJ (2001) PFK-2/FBPase-2: maker and breaker of the essential biofactor fructose-2, 6-bisphosphate. *TRENDS Biochem. Sci.* 26: 30-35.
32. Obach M, Navarro-Sabate A, Caro J, Kong X, Duran J, Gómez M, Perales JC, Ventura F, Rosa JL, Bartrons R (2004) 6-phosphofructo-2-kinase (*pfkfb3*) gene promoter contains hypoxia-inducible factor-1 binding sites necessary for transactivation in response to hypoxia. *J. Biol. Chem.* 279: 53562-53570.
33. Halestrap AP, Meredith (2004) The SLC16 gene family-from monocarboxylate transporters (MTCs) to aromatic amino acid transporters and beyond. *Pflugers Arch.* 447:619-628.
34. Ullah MS, Davis AJ, Halestrap AP (2006) The plasma membrane lactate transporter MCT4, but not MCT1, is up-regulated by hypoxia through a HIF-1 α -dependent mechanism. *J. Biol. Chem.* 281:9030-9037.
35. Balinsky D, Platz CE, Lewis JW (1983) Isozyme patterns of normal, benign, and malignant human breast tissues. *Cancer Res.* 43: 5895-5901.
36. Atsumi T, Chesney J, Metz A, Leng L, Donnelly S, Makita Z, Mitchell R, Bucala R (2002) High expression of inducible 6-phosphofructokinase-2-kinase/fructose-2,6-bisphosphatase (iPFK-2; PFKFB3) in human cancers. *Cancer Res.* 62: 5881-5887.
37. Weidemann A, Johnson RS (2008) Biology of HIF-1 α . *Cell Death Differ.* 15: 621-627.

TOXOPLASMA GONDII*, UN PATÓGENO ASESINO RE-EMERGENTE

Saé Muñiz Hernández y Ricardo Mondragón Flores

RESUMEN

La toxoplasmosis es una enfermedad distribuida mundialmente y que no distingue género, raza y distribución geográfica. Afecta al 30% de la población a nivel mundial y es ocasionada por el parásito protozoario intracelular obligado *Toxoplasma gondii*. A la fecha no existe vacuna ni tratamiento que lo elimine cuando se encuentra en su estadio intracelular. *Toxoplasma* invade a cualquier célula del organismo por un proceso de invasión activa que involucra eventos de motilidad y secreción molecular. El éxito como organismo invasor reside en su alta capacidad de migración transepitelial alcanzando órganos privilegiados como cerebro, ojo y placenta en mujeres embarazadas. A la fecha se desconocen los mecanismos de reconocimiento celular y atracción quimiotáctica que determinan la dirección de su migración y diseminación tisular.

PALABRAS CLAVE: Toxoplasmosis, taquizoíto, migración epitelial, diseminación tisular.

ABSTRACT

Toxoplasmosis is a worldwide disease that does not distinguish genera, race or geographical distribution. It affects ~30% of the world population and is caused by the intracellular obligate protozoan parasite *Toxoplasma gondii*. To date there are neither vaccines nor treatments to eliminate it when is located in its intracellular stage. *Toxoplasma* invades any cell by an active invasion process involving motility and molecular secretion. Its success as an invasive organism resides on its high trans-epithelial migration capability reaching privileged organs such as brain, eye and placenta in pregnant women. To date the mechanisms of cell recognition and chemotactic attraction that determine its migration and tissue dissemination are still unknown.

KEY WORDS: Toxoplasmosis, tachyzoite, epithelial migration, tissue dissemination.

INTRODUCCIÓN

La toxoplasmosis es una de las zoonosis parasitarias más comunes a nivel mundial ocasionada por el parásito protozoario *Toxoplasma gondii*, el cual infecta a todas las especies animales de sangre caliente incluyendo al humano (1). El hombre adquiere la infección por diferentes rutas: mediante la ingestión de quistes tisulares presentes en carne mal cocida proveniente de animales infectados, o de ooquistes liberados en las heces de gatos que contaminan hortalizas o fuentes de agua potable. Una tercera ruta de infección es la vía

transplacentaria de la madre al feto.

Debido a que la toxoplasmosis es una de las zoonosis más importantes en el humano con severas consecuencias en la salud de la población, organizaciones de Salud Pública en algunos países han incluido dentro de sus medidas de sanidad la evaluación epidemiológica de la toxoplasmosis en animales y humanos. Entre las patologías que se presentan por toxoplasmosis están: encefalitis, coriorretinitis, ceguera y linfadenopatía. Particularmente en mujeres embarazadas, *Toxoplasma* alcanza y atraviesa la placenta alojándose en el feto en el

cual puede producir aborto o inducir malformaciones, hidrocefalia, macro o microcefalia y lesiones oculares. La infección con *Toxoplasma* no muestra diferencias entre género, raza y distribución geográfica.

En la mayoría de los casos de pacientes inmuno-comprometidos incluyendo aquellos con SIDA, *Toxoplasma* se establece en el cerebro desarrollando encefalitis toxoplásmica, la cual es la principal causa de mortalidad especialmente en países de pocos recursos (2).

A la fecha sólo existe una vacuna comercial contra *Toxoplasma* (ovilis

*Recibido: 9 de diciembre de 2008 Aceptado: 16 de junio de 2009

Departamento de Bioquímica. Centro de Investigación y de Estudios Avanzados (CINVESTAV)- IPN. México, DF.
Correo E: mmflores@cinvestav.mx

toxovax) la cual se ha aplicado con éxito a nivel veterinario, particularmente en ovejas. Esta vacuna consiste de una cepa atenuada o de baja virulencia de *Toxoplasma* que se ha aplicado orientada a la prevención de la infección y a evitar pérdidas en la producción animal por aborto. En humanos no existe una vacuna que prevenga la toxoplasmosis; diversos grupos de investigación han encauzado sus estudios a la búsqueda de componentes provenientes de los diferentes organelos secretores con potencial aplicación inmunoprotectora. Entre los organelos secretores que se han estudiado se encuentran: las roptrías, con base en su papel biológico en la invasión celular; los micronemos, debido a su participación en la adhesión a la célula hospedera durante la invasión y finalmente los gránulos densos, cuyos componentes son secretados dentro de la vacuola parasitófora (VP). Particularmente el inhibidor de serín proteasa-1 (TgPI-1) es un antígeno altamente inmunogénico de gránulos densos que se ha considerado como una molécula inmunoprotectora potencial (3).

Distribución Mundial y en México

En la actualidad entre el 30 a 40% de la población mundial se encuentra infectada con *Toxoplasma*. La prevalencia de toxoplasmosis se ha estudiado principalmente en mujeres embarazadas y en personas infectadas y portadoras del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH). Algunos reportes señalan a Brasil como el país con más casos de coriorretinitis ocasionada por infecciones por *Toxoplasma*, por encima incluso de países europeos o países de América del Norte. Reportes epidemiológicos indican que la prevalencia de la infección en mujeres embarazadas varía sustancialmente a nivel mundial. En Europa, la prevalencia varía del 9% al 67%. En contraste,

en Asia se han reportado prevalencias bajas, por ejemplo en Corea del 0.8% y en Vietnam del 11.2%; en ciudades como India, Malasia y Nepal se presentan prevalencias del 41.8% hasta el 55.4%. Con respecto al continente Americano, en Brasil y Cuba se han reportado en mujeres embarazadas prevalencias de anticuerpos contra *Toxoplasma* del 74.5% y 70.9% respectivamente.

La encuesta Nacional Seroepidemiológica realizada en México en 1992, demostró una prevalencia de la toxoplasmosis por todo el país con distribuciones del 13% en la zona norte del país, y un máximo de hasta el 64% en ciudades costeras (4). En un estudio adicional se reportó para Tabasco una prevalencia del 60% en mujeres embarazadas, en el centro de México 34.9%, en Mérida 47% y en Durango 6.1%. En el 2005 se reportó que cada año, 2 de cada 1000 recién nacidos presentan toxoplasmosis congénita (5).

Ciclo de Vida de *Toxoplasma gondii*

El ciclo de vida del parásito se desarrolla en dos tipos de huéspedes: el huésped definitivo que comprenda todos los felinos, incluido el gato doméstico, y el huésped intermediario, que son todos los animales de sangre caliente (incluido el humano) (Fig. 1). Dependiendo del tipo de huésped se puede llevar a cabo la replicación sexual o asexual. El ciclo de replicación sexual inicia cuando algún felino ingiere una presa infectada con quistes tisulares (forma infectiva que contiene al bradizoíto). Por acción de las enzimas digestivas intestinales se liberan las formas infectivas del parásito que invaden a los enterocitos del intestino del felino. En el intestino es donde se lleva a cabo un proceso de desarrollo y diferenciación celular conocido como gametogonia, proceso sexual de reproducción celular que conduce a la formación del ooquiste. El ooquiste es liberado en forma no

esporulada a través de las heces de los felinos y expuesto al medio ambiente, en donde bajo condiciones adecuadas esporula en 2-3 días produciendo en su interior 8 esporozoítos; el ooquiste así maduro se convierte en la forma infecciosa. Millones de ooquistes son producidos y liberados por los felinos a través de las heces, contaminando suelo, hortalizas y fuentes de agua. El ciclo de replicación asexual se desarrolla en los huéspedes intermediarios, los cuales pueden infectarse mediante el consumo de ooquistes esporulados o de quistes tisulares presentes en los tejidos de otros huéspedes intermediarios.

En el caso del hombre, la infección puede ser por la ingestión directa de los ooquistes o por la ingestión de carne mal cocida, contaminada por quistes tisulares de *Toxoplasma*. Una vez ingerido el ooquiste ó el quiste tisular, se liberan los esporozoítos y los bradizoítos respectivamente, los cuales rápidamente se diferencian a taquizoítos, la forma móvil, altamente dinámica e invasiva que atraviesa eficientemente el epitelio intestinal, diseminándose a través de todo el organismo. La presencia del parásito en el organismo activa la respuesta inmune del huésped con la formación de anticuerpos y la activación de células efectoras de la respuesta inmune celular como macrófagos, linfocitos T, etc; con la consecutiva liberación de citocinas como interleucinas e interferón γ (IFN- γ). La presencia de IFN- γ es uno de los componentes que se ha descrito que inducen la diferenciación de los taquizoítos intracelulares a la forma de bradizoíto con la consecutiva modificación de la célula hospedera en un quiste tisular en el cual vive en una forma latente durante muchos años o incluso durante toda la vida del individuo. En casos de inmunosupresión como en los individuos infectados con el VIH, el parásito puede re-emerger

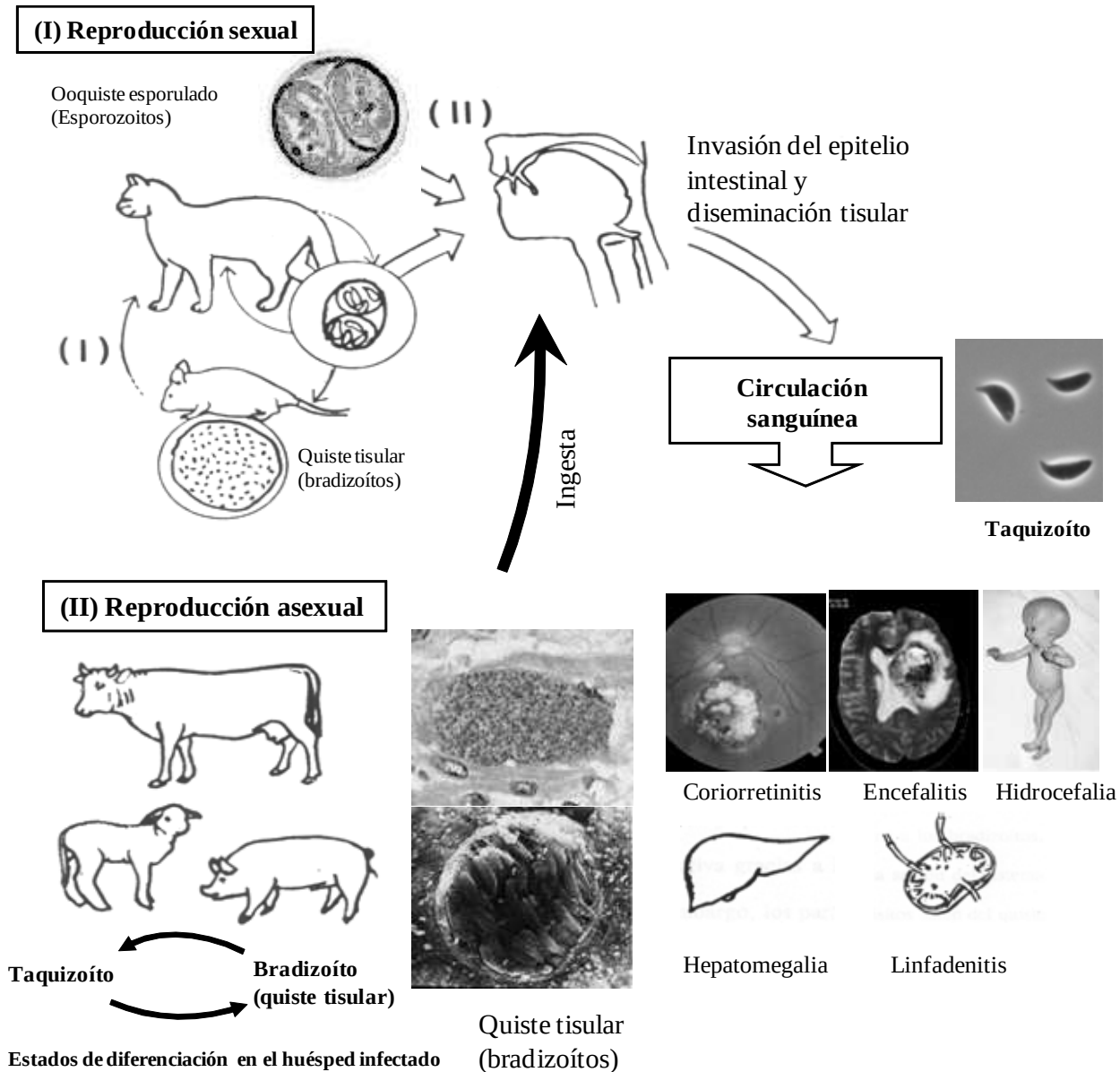


Figura 1. Ciclo de vida de *Toxoplasma gondii*. (I) Reproducción sexual llevada a cabo en el intestino de los huéspedes definitivos, inicia con el consumo de presas infectadas con bradizoítos y termina con la liberación de ooquistes inmaduros presentes en las heces. (II) Reproducción asexual se lleva a cabo en huéspedes intermediarios, todos los animales de sangre caliente, inicia al ingerir quistes tisulares u ooquistes los cuales contienen bradizoítos y esporozoítos respectivamente, y al ser liberados por las enzimas gástricas, se diferencian a taquizoítos los cuales van a diseminarse a través de la circulación sanguínea alcanzando órganos inmunológicamente privilegiados como son: placenta, cerebro, ojo, etc; donde desarrollan diferentes patologías. Figura de R. Mondragón.

del quiste tisular, diferenciarse de nuevo a taquizoíto e iniciar su diseminación tisular alcanzando incluso el encefalo y provocar la muerte del individuo (1).

El Taquizoíto: forma dinámica, altamente infectiva e invasiva

Dependiendo de la etapa del ciclo celular, *Toxoplasma* presenta las formas

parasitarias: 1) Ooquiste, 2) Esporozoíto, 3) Quiste tisular, 4) Bradizoíto y 5) Taquizoíto (1).

El taquizoíto es la forma de *Toxoplasma* más caracterizada debido a la facilidad para mantenerlo en condiciones de cultivo celular y en un modelo murino de inoculación intraperitoneal y corresponde a la forma asexual infectiva altamente

invasiva y de diseminación tisular. Tiene una apariencia de arco ó media luna con un tamaño de $3 \times 7 \mu\text{m}$ y con una distribución polarizada de sus organelos citoplásmicos, de tal forma que se identifica un extremo apical y un extremo posterior. Está rodeado por un complejo de tres membranas (membrana plasmática y el complejo membranal interno) conocido como

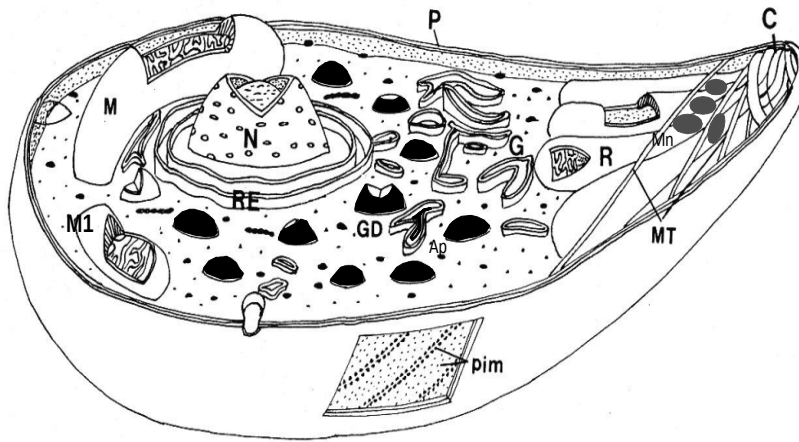


Figura 2. Diagrama de un taquizoito de *Toxoplasma gondii*. P, membrana plasmática; C, conoide; MT, microtúbulos; Mn, micronemos; R, roptrias; N, núcleo; pim, partículas intermembranales; RE, retículo endoplásmico; Ap, apicoplasto; GD, gránulos densos y M, mitocondria. Figura de R. Mondragón.

películo. Posee un núcleo, una única mitocondria que tiene la característica de convolucionar dentro del citoplasma del taquizoito y alrededor del núcleo (Fig 2, M, M1), aparato de Golgi y retículo endoplásmico. En la región apical se encuentran organelos relacionados con la motilidad, la secreción y la invasión celular, como son: el conoide (un organelo retráctil conformado al menos por α tubulina y que es activado durante la invasión), el anillo polar anterior, las roptrias, los micronemos y los gránulos densos. El citoesqueleto del parásito está constituido por 22 microtúbulos subpeliculares que se encuentran anclados al anillo polar anterior y que recorren en forma helicoidal 2/3 partes del cuerpo del parásito. Asociada a los microtúbulos se encuentra una red subpelicular que está constituida por actina y proteínas asociadas a actina, como profilina y miosina (6); se ha sugerido que la función de la red podría ser la de definir la forma del parásito y determinar su motilidad. El movimiento por deslizamiento y la extrusión del conoide son procesos dinámicos activados durante la invasión y que dependen del citoesqueleto del parásito y de incrementos en los

niveles de calcio citoplásmico (7, 8).

La invasión celular es un evento crucial en la supervivencia del

Toxoplasma al ser éste un parásito intracelular obligado. El parásito tiene la capacidad de infectar cualquier célula nucleada de un organismo. El taquizoito de *Toxoplasma* presenta tres organelos secretores involucrados en la adhesión a la célula hospedera, en la penetración y en la formación de la VP, que incluyen a los micronemos, roptrias y gránulos densos, respectivamente (Fig 3). La descarga inicial de las proteínas de micronemos (proteínas MIC) permite la adhesión y el movimiento por deslizamiento del parásito sobre la membrana de la célula blanco como un evento necesario para la invasión. Posteriormente se presenta la secreción del contenido de las roptrias sobre la membrana de su célula hospedera, con la formación de una unión "móvil" entre las membranas plasmáticas de la célula hospede-

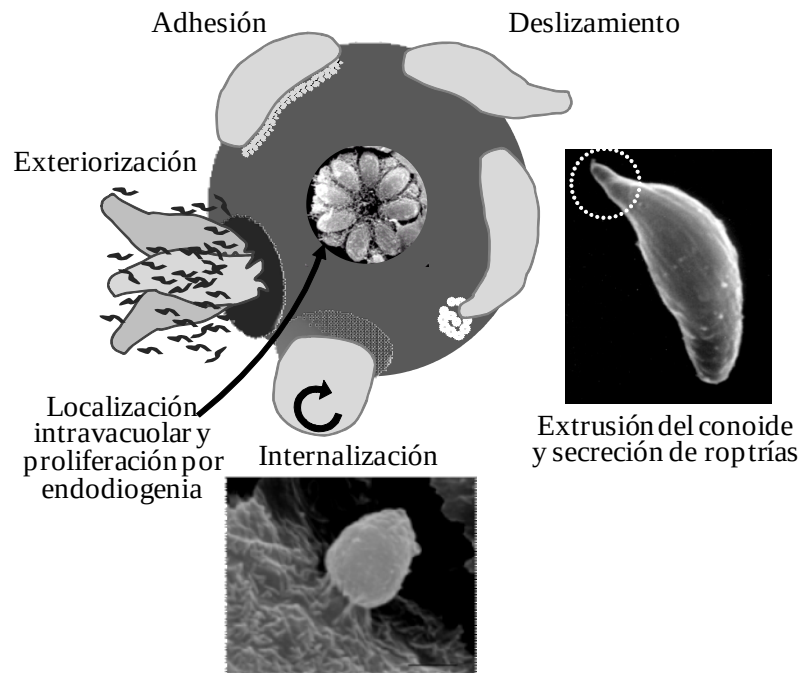


Figura 3. Eventos de la invasión activa por el taquizoito de *Toxoplasma gondii*. La invasión activa es dependiente del citoesqueleto del parásito y se lleva a cabo mediante una serie de eventos que involucran: 1) adhesión y deslizamiento sobre moléculas MIC secretadas desde los micronemos, 2) extrusión del conoide y secreción de las roptrias para la generación de una horadación de la membrana de la célula hospedera, 3) internalización mediante movimientos tipo tornillo con formación de una vacuola parasitófora intracelular y proliferación intravacuolar por endodiogenia y 4) exteriorización con destrucción de la célula invadida. Las micrografías corresponden a imágenes de microscopía electrónica de barrido de las etapas indicadas. Figura de R. Mondragón.

ra y del parásito y la generación de una horadación de menos de 1 µm por la cual el taquizoíto se internaliza mediante movimientos tipo tornillo (9). Al mismo tiempo que el parásito penetra en su célula hospedera, se va generando una invaginación membranal compuesta principalmente por elementos de la membrana plasmática de la célula hospedera (esencialmente lípidos) y por algunos componentes secretados por el parásito (Fig 3) (9).

Vacuola Parasitófora (VP) y proliferación intracelular

Una vez dentro de la célula hospedera y ubicada en el interior de la vacuola, el parásito inicia rápidamente la secreción del contenido de los gránulos densos hacia el espacio intravacuolar transformando la vacuola endocítica en una vacuola parasitófora (VP), con la generación de una red vesículo-tubular intravacuolar de función desconocida y seguido de la proliferación por un proceso asexual conocido como endodiogenia (10).

La membrana de la VP (MVP), se asocia con organelos citoplásmicos de su célula hospedera que incluyen al retículo endoplásmico, el aparato de Golgi, mitocondrias y elementos del citoesqueleto celular como los filamentos intermedios y microtúbulos. La asociación de las mitocondrias a la MVP aparentemente está mediada al menos por la proteína ROP2 de las roptrias (11). Una de las funciones que se le han encontrado a la membrana de la VP es la de funcionar como un filtro molecular que permite el paso bidireccional de moléculas menores a 1.5 kDa, entre el citoplasma celular y el espacio intravacuolar. Hasta el momento se sabe que en la membrana vacuolar se insertan proteínas provenientes de los gránulos densos como: GRA 3, 5, 7 y 8; sin embargo, poco se conoce de sus propiedades biológicas.

El parásito acondiciona el espacio intravacuolar mediante la secreción de

componentes de gránulos densos: GRA1, 2, 4, 6 y 9, para convertirlo en el nicho en el cual se lleva a cabo la proliferación. Mediante un proceso aún no bien determinado, estos componentes se organizan en una red vesículo-tubular de funciones desconocidas (10). La proliferación de *Toxoplasma* sólo ocurre a nivel intravacuolar por un proceso asexual llamado endodiogenia, en el que se forman en el interior de una célula madre, dos células hijas que al madurar incorporan algunos organelos de la célula madre mientras que otros los generan *de novo* dando como resultado en un periodo de aproximadamente 6 horas (en cultivo celular) a dos individuos con capacidad invasiva y proliferativa. Este parásito posee un sistema de replicación subcelular altamente coordinado para asegurar que cada célula hija adquiera un "conjunto" completo de organelos, manteniendo la organización polarizada requerida para la invasión celular.

Migración epitelial

Una de las características que determinan la patogenia de la toxoplasmosis está relacionada con la alta capacidad del parásito para diseminarse por todos los tejidos del huésped, alcanzando incluso órganos privilegiados como cerebro, ojo y placenta en mujeres embarazadas. Algunos parásitos como *Plasmodium* y *Eimeria* que pertenecen al mismo *phylum* que *Toxoplasma* (el Apicomplexa) también comparten la capacidad de atravesar barreras biológicas tisulares y distribuirse por todo el huésped. Todas las formas invasivas de *Toxoplasma* incluyendo el esporozoíto, taquizoíto y bradizoíto tienen la capacidad de invasión celular sin embargo, el taquizoíto es la forma más invasiva, proliferativa y con mayor capacidad de diseminación tisular, en gran medida debido a su elevada propiedad dinámica y secretora que lo caracteriza.

La diseminación tisular también depende de la virulencia del parásito, la cual está asociada con sus propiedades genotípicas. Mediante el análisis del genoma de *Toxoplasma*, el cual ya se secuenció y se puede consultar en el portal www.Toxodb.com, se ha podido determinar con técnicas de amplificación de genes por la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y posterior análisis con enzimas de restricción (RFLP), la existencia de 3 poblaciones clonotípicas de *Toxoplasma* llamadas tipo I, II y III las cuales se caracterizan por tener diferentes grados de virulencia y distribución en diferentes huéspedes (12). Los taquizoítos de tipo I de *Toxoplasma* como la cepa RH, son los de mayor distribución geográfica y en consecuencia los más caracterizados. Son los más virulentos, con una elevada capacidad de diseminación tisular in vivo en modelos de toxoplasmosis murina e *in vitro* en modelos de migración a través de monocapas de células crecidas en filtros y en cámaras de Boyden (13).

Mediante el uso de modelos epiteliales como las células MDCK, las cuales se caracterizan por conservar en cultivo las características típicas de un epitelio, como son: polarización celular así como la presencia de uniones intercelulares de anclaje, oclusoras y de contacto al substrato, se ha sugerido que *Toxoplasma* atraviesa los epitelios mediante el reconocimiento de la proteína ICAM-1, que es una molécula de adhesión intercelular perteneciente a la superfamilia de las inmunoglobulinas y que se encuentra distribuida en los endotelios vasculares y participa en la migración fisiológica de los leucocitos. Este reconocimiento lo lleva a cabo el parásito mediante la proteína MIC2 que se asocia a la membrana plasmática de la célula huésped durante el proceso de adhesión inicial. A la fecha se desconoce si los

taquizoítos interactúan con las barreras endoteliales de la misma manera que con las células MDCK. No se descarta la posibilidad de que el parásito también utilice la vía transcelular para su migración, es decir que el *Toxoplasma* invada a la célula epitelial, prolifere y al romper a la célula durante su exteriorización pueda, en consecuencia, tener acceso a la lamina basal y tejido conectivo alcanzando así los microcapilares para su diseminación por vía sanguínea.

En modelos murinos de infección oral, *Toxoplasma* invade, prolifera y atraviesa el epitelio intestinal, alcanzando el torrente sanguíneo para diseminarse a todos los tejidos del organismo. Puede incluso atravesar barreras inmunológicamente privilegiadas como: la hemato-encefálica y la placentaria, donde causa diferentes patologías como encefalitis y aborto, respectivamente (1). Una vez en la circulación sanguínea, se desconoce si *Toxoplasma* se disemina como un parásito extracelular libre o si lo hace transportado por leucocitos infectados (que no destruyen al parásito a menos de que sean previamente activados por INF- γ), los cuales pueden atravesar muchas barreras biológicas como parte de sus funciones de vigilancia inmunológica. El mecanismo por el cual *Toxoplasma* atraviesa los diferentes epitelios del organismo aún no queda claro. Reportes recientes en modelos de células epiteliales en cultivo, sugieren que el parásito puede utilizar la vía paracelular para su migración transepitelial, es decir que el parásito migra entre los espacios intercelulares los cuales contienen moléculas y estructuras de adhesión.

En modelos de toxoplasmosis murina inducidos por la infección intragástrica con quistes tisulares, se ha reportado la presencia de taquizoítos dentro de leucocitos en el intestino de ratón. Se han caracterizado varias células que podrían partici-

par en la diseminación tisular de *Toxoplasma* después de la liberación intragástrica de los parásitos: 1) la diseminación temprana del parásito es llevada a cabo por células de estirpe monocítica CD11c+ presentes en la lámina propia del intestino y en nódulos linfáticos; 2) en la sangre, los parásitos se asocian con células CD11b+ muy probablemente monocitos y 3) en células dendríticas y leucocitos recuperados de nódulos linfáticos mesentéricos y de sangre. Debido a que estas células se encuentran parasitadas, pueden desencadenar en consecuencia el proceso infeccioso cuando son transferidas intravenosamente a ratones sanos en los cuales pueden alcanzar el cerebro (12). Esto indica que monocitos sanguíneos CD11b+ parasitados pueden migrar a través de la barrera hemato-encefálica y promover la entrada del parásito en este órgano. Estos datos dan soporte a la hipótesis de que el taquizoíto utiliza a los leucocitos para migrar y diseminarse *in vivo*. Sin embargo, no es claro si las células CD11c+ caracterizadas *in vitro* participan en la diseminación *in vivo*, ya que se ha encontrado que después de la inoculación del parásito por la vía natural, las células CD11c+ se encuentran solamente en órganos linfoides secundarios y no en sangre. En ese mismo reporte se describió que los parásitos adquieren patrones diferentes de distribución intravacuolar cuando son mantenidos en condiciones *in vitro* que cuando se encuentran infectando al animal (14).

Toxoplasma también puede inducir modificaciones en la distribución y funcionalidad de un tipo de unión intercelular conocido como unión comunicante o unión tipo gap. Las uniones comunicantes funcionan como canales intercelulares entre dos células adyacentes a través de los cuales se transfiere información química. Los canales están constituidos por los conexones, los cuales son los comple-

jos multi-proteicos que se organizan transitoriamente mediante la agrupación de 6 proteínas, conocidas como conexinas, presentes en las membranas basolaterales y que permiten el paso de moléculas menores a 5 kDa. La infección de astrocitos con *Toxoplasma* produce una disminución en la expresión y acoplamiento de las conexinas entre las células parasitadas, alterando en consecuencia la comunicación intercelular (15).

Conclusión. *Toxoplasma* es un patógeno altamente invasivo capaz de infectar y proliferar en cualquier célula nucleada generando en consecuencia un quiste tisular, en el cual permanece de forma latente durante largo tiempo e inclusive durante toda la vida del individuo. La diseminación tisular del parásito, es un proceso que le permite alcanzar sitios inmunológicamente privilegiados como placenta y cerebro, en donde desencadena una serie de patologías que ponen en riesgo la vida del individuo. El mecanismo por el cual el parásito se disemina a través del organismo no es claro. Dada la capacidad móvil y de virulencia del parásito es posible que éste posea mecanismos o herramientas útiles para migrar tanto por la vía paracelular así como por la vía transcelular, diseminándose dentro de células permisivas propias del organismo infectado, como los leucocitos. Es posible también que *Toxoplasma* pueda distribuirse en el organismo como taquizoíto extracelular. A la fecha no hay reportes que indiquen la forma de diseminación del parásito en el individuo infectado. Su conocimiento permitirá el diseño de estrategias farmacológicas anti-toxoplásmicas.

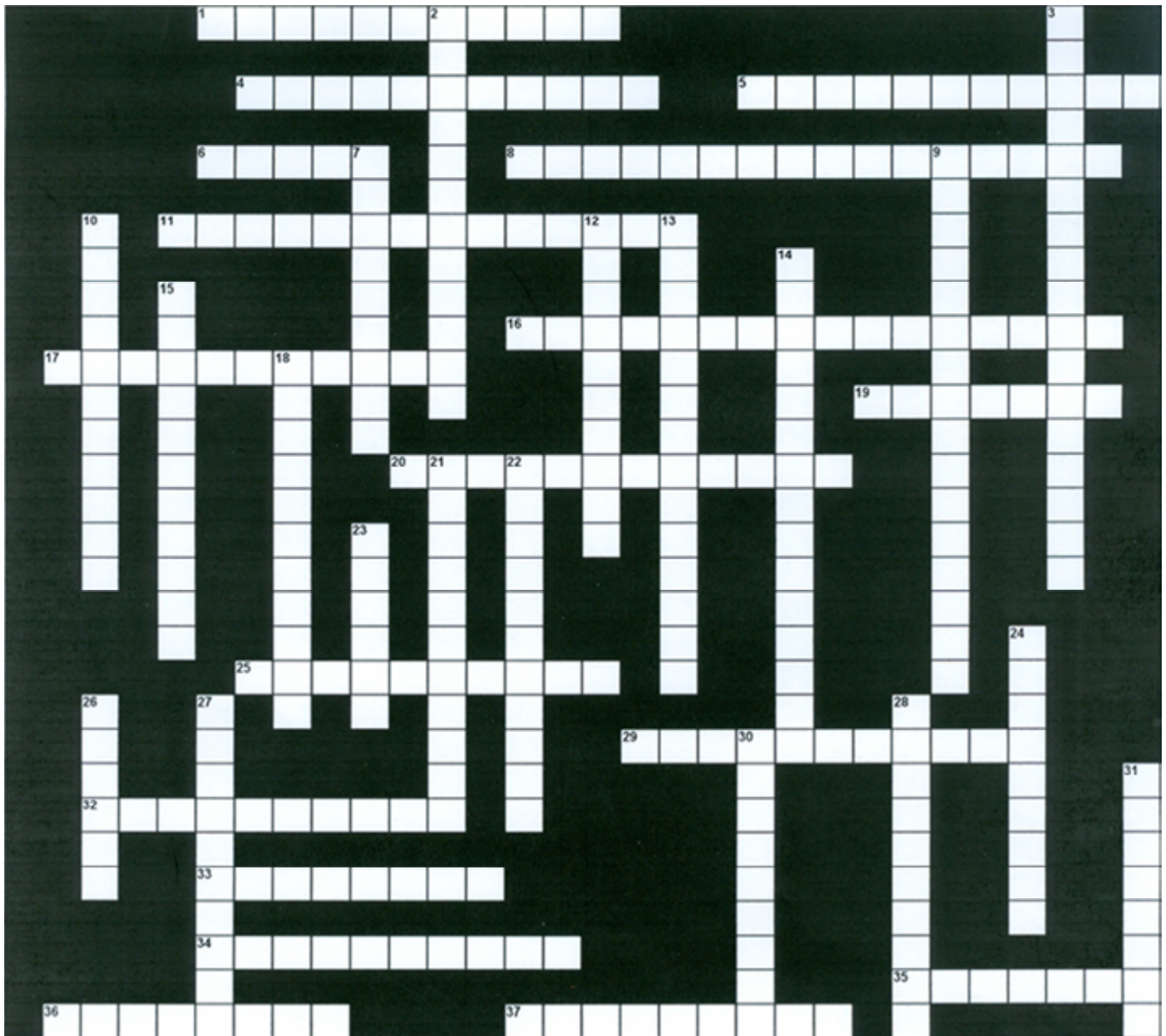
Agradecimientos. Los autores agradecen el apoyo a CONACYT # 60864 y # 37713-N (para RMF). SMH está apoyada por la beca doctoral # 169932 de CONACYT, México.

REFERENCIAS

1. Galván ML, Mondragón FR (2001) Toxoplasmosis humana. Ediciones Cuéllar, Guadalajara, Jal, Mex, p 196.
2. Cintini C (2008) Clinical and diagnostic management of toxoplasmosis in the immunocompromised patient. *Parasitologia* 50: 45-50.
3. Cuppari AF, Sánchez V, Ledesma B, Frank FM, Goldman A, Angel SO, Martin V (2008) *Toxoplasma gondii* protease inhibitor-1 (TgPI-1) is a novel vaccine candidate against toxoplasmosis. *Vaccine* 26: 5040-5045.
4. Velasco-Castrejón O, Salvatierra-Izaba B, Valdespino JL, Sedano-Lara AM, Galindo-Virgen S, Magos C, Llaugas A, Tapia-Conyer R, Gutiérrez, G, Sepúlveda J (1992) Epidemiología de la Toxoplasmosis en México. *Salud Pública Méx* 34: 222-229.
5. Vela-Amieva M, Cañedo-Solares I, Gutiérrez-Castrejón P, Pérez-Andrade M, González-Contreras C, Ortiz-Cortés J, Ortega-Velázquez V, Galván-Ramírez ML, Ruiz-García M, Saltigeral-Simentel P, Ordaz-Favila JC, Sánchez C, Correa D (2005) Short report: neonatal screening pilot study of *Toxoplasma gondii* congenital infection in Mexico. *Am J Trop Med Hyg* 72(2): 142-144.
6. Patrón SA, Mondragón M, González S, Ambrosio JR, Guerrero BAL, Mondragón R (2005) Identification and purification of actin from the subpellicular network of *Toxoplasma gondii* tachyzoites. *Int J Parasitol* 35: 883-894.
7. Frixione E, Mondragón R, Meza I (1996) Kinematic analysis of *Toxoplasma gondii* motility. *Cell Motil Cytoskeleton* 34: 152-163.
8. Mondragón R, Frixione E (1996) Ca^{2+} -dependence of conoid extrusion in *Toxoplasma gondii* tachyzoites. *J Eukaryot Microbiol* 43(2): 120-127.
9. Alexander DL, Mital J, Ward GE, Bradley, Boothroyd JC (2005) Identification of the moving junction complex of *Toxoplasma gondii*: A collaboration between distinct secretory organelles. *PLoS Pathog* 1: e 17.
10. Mercier C, Adjole KD, Däubener W, Delauw MF (2005) Dense granules: Are they key organelles to help understand the parasitophorous vacuole of all apicomplexa parasites? *Int J Parasitol* 35: 829-849.
11. Sinai AP, Joiner KA (2001) The *Toxoplasma gondii* protein ROP2 mediates host organelle association with the parasitophorous vacuoles membrane. *J Cell Biol* 154: 95-108.
12. Mondragón R, Howe DK, Dubey JP, Sibley LD (1998) Genotypic analysis of *Toxoplasma gondii* isolates from pigs. *J Parasitol* 84: 639-641.
13. Barragán A, Sibley D (2002) Transepithelial migration of *Toxoplasma gondii* is linked to parasite motility and virulence. *J Exp Med* 12: 1625-1633.
14. Tardieux I, Ménard R (2008) Migration of Apicomplexa across biological barriers: The *Toxoplasma* and *Plasmodium* Rides. *Traffic* 9: 627-635.
15. Campos de Carvalho AC, Roy C, Hertzberg EL, Tanowitz HB, Kessler JA, Weiss LM, Wittner M, Dermietzel R, Gao Y, Spray DC (1998) Gap junction disappearance in astrocytes and leptomeningeal cells as a consequence of protozoan infection. *Brain Research* 790: 304-314.

CRUCIBIOQ REGULACIÓN

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



HORIZONTALES

- 1 Hormona de la capa externa de la corteza suprarrenal que tiene un grupo aldehído, regula el metabolismo iónico ya que facilita la retención de agua y sodio y propicia la eliminación de potasio, además de elevar la tensión arterial.
- 4 Proteína reguladora que detecta la concentración intracelular del Ca^{2+} en los eucariontes, además de activar a varias enzimas que contienen calcio.

- 5 Fenómeno que conduce a la formación del coágulo sanguíneo, este proceso está constituido por una serie zimógenos que una vez que se activa el primero cataliza la activación del segundo y así sucesivamente.
- 6 Acción que abre la posibilidad de que un individuo heterocigoto del tipo Z desarrolle enfisema, ya que el humo oxida a la metionina 358 del inhibidor de la elastasa y forma metionina sulfóxido lo que bloquea la acción inhibitoria de la α_1 -antitripsina (véase 36 horizontal).
- 8 Una de las formas que tiene la célula para llevar a cabo la regulación es mediante la formación de estos complejos, tal es el caso de la síntesis de ácidos grasos en el que la proteína transportadora de acilos posee 7 actividades enzimáticas diferentes y si hubiese deficiencia de una de ellas, no se inicia el proceso.
- 11 Enzima proteolítica producida por *Streptococcus pyogenes*, cataliza la conversión de plasminógeno en plasmina que es la enzima que digiere a la fibrina; se emplea como tratamiento por la oclusión de la arteria coronaria en el infarto al miocardio.
- 16 Enzima que como respuesta a la interacción hormona-receptor en la membrana plasmática y en presencia de una proteína G, hace posible que el ATP de lugar al AMP cíclico el cual difunde al citoplasma y participa como segundo mensajero.
- 17 Tipo de inhibición mediante la cual se vale la célula para regular la velocidad de una vía; el inhibidor que es estructuralmente parecido al sustrato impide temporalmente que el sustrato se aloje en la enzima.
- 19 Molécula que se sintetiza en una glándula de secreción interna y que ejerce algún tipo de efecto fisiológico sobre las células diana a las que llega por vía sanguínea.
- 20 Precursor inactivo de una enzima proteolítica que mediante una enteropeptidasa localizada en la membrana del epitelio intestinal se deshace de un hexapéptido terminal; la enzima activa hidroliza uniones peptídicas en donde participen los grupos carboxilo de arginina y lisina.
- 25 Enzima que cataliza la entrada de la glucosa libre a la vía glucolítica; tiene 4 isoenzimas, cuando la glucosa proveniente de la sangre satura a la isoenzima II que es la predominante, el producto final (glucosa-6-fosfato) la inhibe temporal y reversiblemente.
- 29 Cadena polipeptídica de 84 residuos de aminoácidos que es precursora de una hormona hipoglucemiante, esta estructura se pliega para su activación, se establecen varios puentes disulfuro y se desprende una porción central de aminoácidos (del 31 al 63), las dos secuencias extremas permanecen unidas por puentes disulfuro.
- 32 Enzimas que catalizan una misma reacción pero que son codificadas por distintos genes, tienen diferentes propiedades cinéticas e intervienen en la regulación de los procesos en los compartimentos celulares o en los tejidos, por ejemplo, la lactato deshidrogenada M se encuentra predominantemente en tejidos relacionados con la anaerobiosis y la lactato deshidrogenada H predomina en tejidos aeróbicos como el músculo cardíaco.
- 33 Enzima proteolítica participante de la cascada de la coagulación sanguínea, actúa sobre el fibrinógeno para dar lugar a la fibrina, los monómeros de fibrina se asocian para producir el coágulo.
- 34 Proceso que dependiendo de las diversas características del individuo (edad, sexo, actividad, etc.) mantiene casi constante los niveles de los metabolitos clave como es ATP y NAD en la célula y la glucosa en la sangre para su óptimo funcionamiento.
- 35 Metabolito del ciclo de los ácidos tricarboxílicos que es un regulador alostérico de la vía glucolítica, ya que bloquea a la fosfofructocinasa impidiendo la formación de fructosa-1,6-bisfosfato cuando la concentración de ATP es alta.
- 36 Cuadro clínico que se presenta debido a una deficiencia de la α_1 -antitripsina que es la encargada de proteger a los tejidos de la digestión ocasionada por un exceso de elastasa lo que conduce a la destrucción de las paredes alveolares de los pulmones debido a que se digieren las fibras elásticas.
- 37 Precursores inactivos de algunas enzimas, para que se activen se requiere que se les hidrolice una secuencia peptídica.

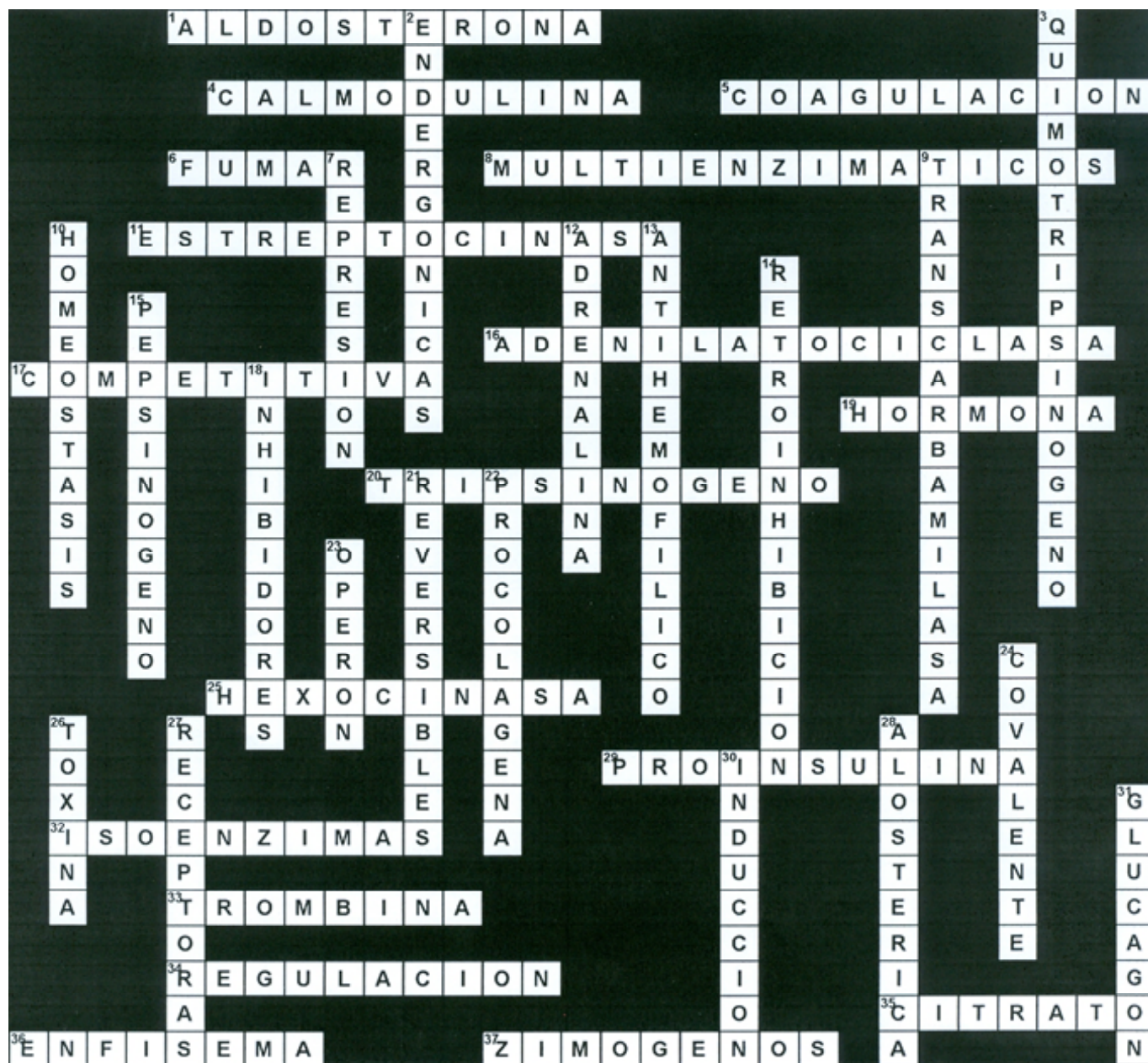
VERTICALES

- 2 Existe una regulación entre las reacciones de este tipo que requieren energía para su realización y las reacciones oxidativas que la generan.
- 3 Es el precursor inactivo de la enzima digestiva que hidroliza proteínas. Se sintetiza en el páncreas y se secreta al duodeno mediante una señal hormonal; se activa cuando la tripsina rompe el enlace peptídico entre la arginina 15 y la isoleucina 16.
- 7 Los estudios iniciales acerca de este tema se realizaron cuando a cultivos de *E. coli* se les adicionó triptofano y como consecuencia la triptofano sintetasa

- bloqueó su actividad ya que no era necesaria la síntesis de más producto el cual actúa como correpresor.
- 9 La aspartato _____ es la enzima que inicia la vía de la síntesis de las pirimidinas a partir de aspartato y carbamilo fosfato; la regulación de este proceso se realiza mediante la retroinhibición de la enzima realizada por CTP, que es el producto final de la vía.
- 10 Es la capacidad de los seres vivos para mantener la constancia de los procesos metabólicos, a pesar de la variabilidad de condiciones tanto en su ambiente interno como en el externo.
- 12 Hormona de la médula suprarrenal que entre otras funciones participa en el metabolismo de los lípidos ya que cuando disminuyen las reservas energéticas estimula la lipólisis; esta molécula se une a receptores específicos de membrana del adipocito, lo que ocasiona una elevación en la concentración de cAMP el que a su vez, activa a la triacilglicerol lipasa sensible a hormonas.
- 13 El factor _____ aumenta la actividad de una proteína que acelera la coagulación de la sangre.
- 14 Nombre que recibe el proceso en el que una enzima reguladora disminuye la velocidad de la reacción en la que participa, lo que induce a que las siguientes enzimas participantes hagan lo mismo, de esta manera sólo se sintetiza el producto que la célula necesita.
- 15 Secretado por las células principales de las glándulas gástricas, es el precursor alcalino de una enzima gástrica que tiene actividad proteolítica; a bajo pH cuando en el estómago hay un ambiente con un pH inferior a 5.0 la molécula precursora se rompe liberándose un fragmento de 44 aminoácidos.
- 18 Los _____ son agentes que intervienen en las reacciones catalizadas por las enzimas haciéndolas más lentas o deteniéndolas.
- 21 La mayoría de las reacciones que ocurren en la célula son de este tipo, pero hay algunas en las que sólo se pueden realizar en una dirección, esto permite inducir el flujo de productos en un sentido, este proceso tiene fines regulatorios.
- 22 Precursor soluble de la proteína fibrosa del tejido conjuntivo que se encuentra en tendones, cartílagos, matriz orgánica de los huesos y cornea del ojo.
- 23 Modelo propuesto por Jacob y Monod para la regulación de la síntesis proteica; está constituido por un gen regulador (i), un gen operador (o), un centro promotor (p) y una serie de genes estructurales.
- 24 Tipo de modificación que realizan muchas de las enzimas que participan en controlar el flujo de las vías metabólicas ya que tienen sitios que pueden fosforilarse o desfosforilarse; por ejemplo, la glucógeno fosforilasa se activa por fosforilación, mientras que la glucógeno sintasa se inactiva por fosforilación.
- 26 Algunas reacciones como las de fosforilación, metilación, adenilación pueden modificar a las enzimas e impedir su acción; la que no puede realizarse cuando la _____ del cólera, que es una enzima, permite modificaciones de una proteína G y provoca la activación constante de la adenilato ciclasa de las células epiteliales del intestino, hay una elevación de AMP cíclico que conduce a la secreción de electrolitos y agua que ocasionan deshidratación y en ocasiones la muerte.
- 27 Las hormonas proteicas son moléculas de gran tamaño y no pueden entrar al interior de la célula y son recibidas por moléculas _____ en la superficie de la membrana plasmática, esto induce la formación de un segundo mensajero el AMP cíclico, el que es responsable de inducir los cambios necesarios activando una serie de enzimas que ocasionan el efecto metabólico deseado.
- 28 Enzima reguladora cuya actividad catalítica está modulada por la unión no covalente de una molécula a un sitio diferente del activo.
- 30 Los primeros estudios relacionados con este proceso fueron realizados con la β -galactosidasa de *E. coli* cuando se elevó el nivel de la enzima después de un periodo de tiempo en cultivos crecidos en presencia de lactosa.
- 31 Hormona pancreática hiperglucemiante antagónica de la insulina, actúa liberando moléculas de glucosa a partir del glucógeno.

SOLUCIÓN AL CRUCIBIOQ REGULACIÓN

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



LA SOCIEDAD MEXICANA DE BIOQUIMICA, A.C.
con base en el Artículo Sexagésimo Séptimo
de sus Estatutos Vigentes

CONVOCA A TODOS LOS SOCIOS NUMERARIOS:

A presentar propuestas de candidaturas de socios numerarios para ocupar los puestos de Vicepresidente (uno), Subsecretario (uno) y Miembros de la Comisión de Admisión (cuatro) para el bienio 2009-2011. Las propuestas que realice la membresía deben hacerse llegar por escrito a la Mesa Directiva actual (bienio 2007-2009) y estar firmadas (de puño y letra), acompañadas de un breve resumen curricular del candidato propuesto (una cuartilla) y de un escrito donde éste exprese su aceptación a participar en las elecciones. La propuesta o propuestas podrán ser enviadas desde un correo electrónico registrado en el directorio actualizado de la SMB o bien:
enviar las propuestas por correo o mensajería a:
Sociedad Mexicana de Bioquímica, A.C.

Atención: Sra. Guadalupe Ramírez
Instituto de Fisiología Celular, UNAM
Apdo. Postal 70-600,
04510, México, D.F.

o por correo electrónico a: infosmb@ifc.unam.mx

Fecha límite de recepción de propuestas (por correo, mensajería o correo electrónico): hasta las 00.00 a.m. (0 hrs.) del jueves 4 de junio de 2009.

La convocatoria completa puede ser consultada en el portal de la SMB en la siguiente dirección:
http://smb.org.mx/text/smb_html_convocatorias_todas.htm

Atentamente
Mesa Directiva 2007-2009



Rama de Transducción de Señales de la Sociedad Mexicana de Bioquímica

Signal Transduction Meeting

Ixtapan de la Sal, Edo Mex.
September 6-9, 2009



Opening Conference G proteins

Heidi Hamm

Vanderbilt University Medical Center



Ion Channel Signaling
Alberto Darszon
Instituto de Biotecnología-UNAM
Laura Escobar
Facultad de Medicina-UNAM

Immunosignaling
Juan Rivera
NLAMS-NIH
Leopoldo Santos Argumedo
CINVESTAV

Signaling Proteomics
Natalie Abn
University of Colorado
Lan Huang
University of California-Irvine

Receptor Signaling
Giovanna Tosato
National Cancer Institute-NIH
Adriano Marchese
Loyola University Chicago

Wnt/ β catenin Signaling
Martha Robles
Facultad de Medicina-UNAM
Randall Moon
University of Washington

Neurosignaling
Ana María López Colomé
IFC-UNAM
J. Antonio Arias
CINVESTAV

TGF- β Signaling
Andrew Hinck
The University of Texas Health
Science Center
Peter ten Dijke
Leiden University Medical Center

Signaling by infectious agents
Ethel Cesarman
Weill Cornell Medical College
Silvia Montaner
University of Maryland

Apoptosis
Gyorgy Hajnoczky
Thomas Jefferson University
Julio Moran
IFC-UNAM

Organizers:

Guadalupe Reyes Cruz, Dept of Cell Biology, CINVESTAV
guadaluper@cell.cinvestav.mx

Agustín Guerrero Hernández, Dept of Biochemistry, CINVESTAV
aguerrero@cinvestav.mx

Logistics staff: Sra. Teresa Castillo smb_ts@ifc.unam.mx

Web site: <http://smb.org.mx/>

Diseño: DCS Norma Cerezo





XVI CONGRESO DE BIOENERGÉTICA Y BIOMEMBRANAS

SOCIEDAD MEXICANA DE BIOQUÍMICA, A. C.



Invitados

Keith D. Garlid
Portland State University

Johannes Herrmann
Technische Universität Kaiserslautern

Ma. Del Carmen Jorge y Jorge
Universidad Nacional Autónoma de México

Antonio Lazcano-Araujo
Universidad Nacional Autónoma de México

Manuel Miranda Arango
University of Texas at El Paso

Michael Feldbrügge
Max-Planck-Institut

Jodi M. Nunnari
University of California, Davis

Meritxell Riquelme
Centro de Investigación Científica y de
Educación Superior de Ensenada

Juan Pablo Pardo Vázquez
Universidad Nacional Autónoma de México

DEL 8 AL 13 DE NOVIEMBRE, 2009
BOCA DEL RÍO, VERACRUZ
HOTEL CROWNE PLAZA

Comité organizador

Dra. Guadalupe Guerra Sánchez, ENCB-IPN, lupegs@hotmail.com
Dra. Bertha González Pedrajo, IFC-UNAM, bpedrajo@ifc.unam.mx
Dr. Oscar Flores Herrera, FM-UNAM, oflores@bq.unam.mx

INFORMACIÓN

<http://smb.org.mx>



CONVOCATORIA PARA PRESENTAR TRABAJOS

EL XVII CONGRESO DE LA ASOCIACIÓN MEXICANA DE
PROFESORES DE BIOQUÍMICA A. C.
SE LLEVARÁ A CABO LOS DÍAS 5 Y 6 DE NOVIEMBRE DEL 2009 EN EL
AUDITORIO
"DR. FERNANDO OCARANZA"
DE LA FACULTAD DE MEDICINA DE LA UNAM, EN CIUDAD UNIVERSITARIA, CIUDAD DE MÉXICO.

Se convoca a los profesores de Bioquímica y de disciplinas afines a participar con sus trabajos.

CARACTERÍSTICAS DE LOS TRABAJOS:

Los trabajos estarán clasificados en dos categorías diferentes:

- Investigación educativa.
- Innovación en métodos de enseñanza.

En ambos casos, será obligatorio presentar los trabajos con el siguiente formato:

1. Nombre del trabajo escrito con mayúsculas.
2. Nombre de los autores con el nombre del autor que presentará el trabajo subrayado.
3. Nombre de la institución que patrocina el trabajo.
4. Dirección, teléfono y e-mail.
5. El trabajo deberá cubrir los siguientes incisos:
 - a. Resumen. (200 palabras o menos).
 - b. Introducción
 - c. Objetivos del trabajo
 - d. Material y métodos
 - e. Resultados
 - f. Discusión

La extensión de los trabajos deberá de ser de 5 páginas o menos.

La presentación de los trabajos en el Congreso, será por medio de un poster de 1.00 x 1.00 m.

En el caso de programas de enseñanza asistida por computadora o de presentaciones en Power Point o de cualquier otro tipo de material, el poster se deberá acompañar del material producido que deberá mostrarse en computadora o el medio que se requiera.

Los trabajos serán publicados in extenso en el volumen correspondiente de las Memorias del Congreso en la Internet.

En el caso de programas de enseñanza asistida por computadora o de presentaciones Power Point, estas serán incluidas en las Memorias del Congreso previo consentimiento de los autores.

CUOTA DE INSCRIPCIÓN AL CONGRESO

	Cuota antes del 1 de Octubre del 2009	Cuota después del 1 de Octubre del 2009
Profesores asociados a la AMPB	\$300.00	\$400.00
Profesores de Bioquímica y de disciplinas afines.	\$400.00	\$500.00

Para inscribir un trabajo hay que hacer lo siguiente:

1. Pedir una ficha de inscripción a ampb_ac@laguna.fmedic.unam.mx
2. Hacer un pago a la ASOCIACIÓN MEXICANA DE PROFESORES DE BIOQUÍMICA A. C. cuenta N° 0133718123 del Banco BBV Bancomer (o transferencia bancaria CLABE 012 180 00133 718 1237) por la cantidad la cantidad correspondiente a la inscripción.
3. Enviar el trabajo con las características señaladas anteriormente, acompañado de su ficha de inscripción con los datos de el autor o autores del trabajo y la ficha de pago o la transferencia bancaria a ampb_ac@laguna.fmedic.unam.mx dirigido a la Srita Marivel Rojas García.
4. La fecha límite para inscribir un trabajo es el 1 de Octubre del 2009.

CONVOCATORIA

REGISTRO DE CANDIDATOS PARA LOS CARGOS DE VICEPRESIDENTE Y SECRETARIO-TESORERO ADJUNTO DE LA ASOCIACIÓN MEXICANA DE PROFESORES DE BIOQUÍMICA, A. C., DURANTE EL AÑO 2010.

La Mesa Directiva de la Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, A. C. convoca a sus Asociados a postular candidatos para ocupar los cargos de Vicepresidente y Secretario-Tesorero Adjunto de la Asociación durante el año 2010.

La elección de los miembros que desempeñarán estos cargos se llevará a cabo siguiendo los lineamientos con base en el Artículo décimo sexto de los Estatutos de la Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, A. C. y tomando en cuenta los apartados II, III y IV del Transitorio C.

ARTÍCULO DÉCIMO SEXTO. Seis meses antes de la Reunión de Negocios que se realizará durante el Congreso de la Asociación en años pares, la Mesa Directiva enviará a la membresía un comunicado a través de un mensaje enviado por correo electrónico, con un anuncio en el portal cibernético de la Asociación (página de Internet o equivalente) y con un anuncio publicado en la Revista de Educación Bioquímica o en la publicación oficial que exista en su momento, a presentar propuestas de candidatos de Asociados Numerarios para ocupar los puestos de Vicepresidente y Secretario-Tesorero Adjunto. Las propuestas enviadas por los votantes se harán llegar por escrito a la Mesa Directiva acompañadas de un escrito donde los candidatos expresen su consentimiento para ser postulados y anexar a su curriculum vitae. La Mesa Directiva analizará la documentación referida, con el fin de certificar que se cubran los requisitos estipulados en la convocatoria antes de dar a conocer la lista final de candidatos elegidos. La elección se realizará durante la Reunión de Negocios en el Congreso de los años pares; en caso de haber Asociados que no puedan asistir a dicha Reunión podrán enviar su voto por mensajería, correo postal, correo electrónico o fax, en cualquiera de los casos el Asociado deberá incluir su nombre y firma.

TRANSITORIOS C. II. Dada la propuesta de modificación de los presentes Estatutos en relación con los miembros de la Mesa Directiva; lo mencionado en el artículo décimo sexto, por esta ocasión se modificará y se enviará la convocatoria a principios de 2009 para recibir propuestas para candidatos a los cargos de Vicepresidente y Secretario-Tesorero Adjunto; la votación para esos cargos se realizará en la Reunión de Negocios que se lleve a cabo ese año, durante el XVII Congreso de la Asociación y por esta ocasión la duración de estas personas en el cargo será sólo para el año de 2009-2010.

TRANSITORIOS C. III. El Vicepresidente y el Secretario-Tesorero Adjunto que haya resultado electos en dicha votación participarán en colaboración con la Mesa Directiva actual (Presidente, Vicepresidente y Secretario-Tesorero) y a principios de 2010 se iniciará el proceso propuesto en el artículo décimo sexto con la elección de nuevos Vicepresidente y Secretario-Tesorero Adjunto para el bienio 2010-2012.

TRANSITORIOS C. IV. En la Reunión de Negocios que se realice en 2010, la Mesa Directiva actual concluirá sus funciones, el Vicepresidente y el Secretario-Tesorero Adjunto elegidos durante 2009 ocuparán los cargos de Presidente y Secretario-Tesorero respectivamente.

Los Asociados numerarios deberán postular por escrito a sus candidatos y cada candidato postulado deberá entregar la siguiente documentación:

- Consentimiento por escrito para ser postulado.
- Proyecto de trabajo para dos años en caso de ser electo.
- Curriculum vitae

Las cartas de postulación de los Asociados y la documentación de cada candidato deberán ser entregadas en la oficina de la Asociación dentro de Departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina, UNAM, a más tardar el 3 DE NOVIEMBRE DEL 2009. Los documentos requeridos podrán ser entregados personalmente o enviados por correo postal. El envío de la documentación por medio electrónicos (fax o correo E) sólo tendrá validez hasta recibir los documentos originales.

Con base en el Artículo Decimo sexto y los Transitorios arriba mencionados de nuestros Estatutos, los próximos Vicepresidente y Secretario-Tesorero Adjunto serán elegidos de la lista de candidatos generada por la Mesa Directiva, la reunión está programada para Noviembre del 2009. Ningún candidato podrá ser registrado después del 3 de Noviembre del 2009.

Entrega de documentos: Sra. Marivel Rojas García, Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, UNAM. Apdo. postal 70-281. 04510, México, D. F. Teléfono 5623-2170, Fax 5616-2419. Correo E. reb@bq.unam.mx

M. en C. Leonor Fernández Rivera Río
Presidenta

Dra. Ana María López Colomé
Vice Presidenta

Dr. Edmundo Chávez Cosío
Secretario - Tesorero.

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

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

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

I. ARTÍCULOS DE REVISIÓN

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

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

Los artículos en libros deberán citarse de la siguiente forma:

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

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

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

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

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

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

II) OTRAS COMUNICACIONES

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

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

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