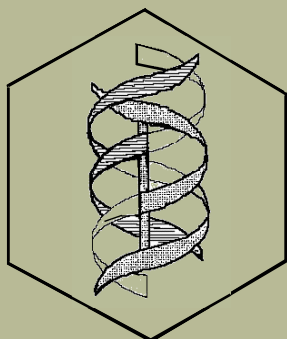


REB 2010

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. 29

No. 3

SEPTIEMBRE 2010

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

ALEJANDRO MARTÍNEZ MARTÍNEZ

Instituto de Ciencias Biomédicas
Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, Chihuahua

MYRNA SABANERO LÓPEZ

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

SERGIO SÁNCHEZ-ARMÁSS ACUÑA

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

MARTHA ANGÉLICA QUINTANAR ESCORZA

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

MARÍA MALDONADO VEGA

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

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

REVISTA DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA (REB), publicación trimestral. La presentación y disposición en conjunto y de cada página de la Revista de Educación Bioquímica son propiedad del editor. Derechos reservados © Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, A.C. Queda estrictamente prohibida la reproducción parcial o total por cualquier sistema o método mecánico o electrónico sin autorización por escrito del editor. Certificados de: Licitud de Título: 12000; Licitud de Contenido: 8397, expediente No. 1/432"2"/15792; Reserva al título en Derechos de Autor No. 04-2002-030616225500-102. (ISSN: 1665-1995); Reserva de título en Derechos de Autor para publicación electrónica No. 04-2005-092612014100-203 (ISSN: 187-3690). Diseño: Celia Virginia Sánchez Meza; 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 OBESIDAD. LA CIENCIA CONTRA LA MAGIA Corín Hernández Palafox y José Victor Calderón Salinas.....	71
--	----

ARTÍCULOS

EFFECTOS DE TOXINAS BACTERIANAS EN LA SEÑALIZACIÓN DE LA RESPUESTA INFLAMATORIA: MAPK, UBIQUITINACIÓN- DESUBIQUITINACIÓN Alejandro Benítez-Guzmán y M. Eugenia Torres-Márquez.....	74
---	----

MECANISMOS DE REGULACIÓN TRADUCCIONAL MEDIADOS POR EL FACTOR DE INICIO 4E: LAS DOS CARAS DE LA MONEDA Ana Valeria Martínez Silva y Tzvetanka D. Dinkova.....	82
---	----

MODELOS NEUROTÓXICOS DE LA ENFERMEDAD DE PARKINSON Y DISFUNCIÓN MITOCONDRIAL Alarcón Aguilar Adriana, Abel Santamaría del Ángel, Mina Königsberg Fainstein.....	92
--	----

OTRAS COMUNICACIONES

CRUCIBIOQ ENZIMAS: ISOMERASAS Yolanda Saldaña Balmori.....	101
--	-----

INFORME DE ACTIVIDADES REALIZADAS DURANTE EL XVIII CONGRESO DE LA ASOCIACIÓN MEXICANA DE PROFESORES DE BIOQUÍMICA, A. C. REALIZADO LOS DÍAS 5 Y 6 DE AGOSTO DEL 2010 Leonor Fernández Rivera-Río.....	104
---	-----

SOLUCIÓN AL CRUCIBIOQ ENZIMAS: ISOMERASAS Yolanda Saldaña Balmori.....	106
--	-----

XXVIII CONGRESO NACIONAL DE LA SOCIEDAD MEXICANA DE BIOQUÍMICA, A. C.	107
--	-----

INSTRUCCIONES PARA LOS COLABORADORES DE LA REVISTA DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA.....	108
---	-----

EDITORIAL

LA OBESIDAD. LA CIENCIA CONTRA LA MAGIA

Actualmente es ocioso, trillado y reiterativo decir que la obesidad es un enorme problema de salud pública. Si bien es cierto que si no se llevan a cabo acciones efectivas para resolverlo nos aproximamos a que este problema haga crisis en muy corto tiempo; crisis que afectará los sistemas de salud, la asistencia social, los sistemas de pensiones y la economía del país y en lo individual lo fisiológico, lo psicológico y lo económico. Lo anterior considerando a la propia obesidad y al creciente número de padecimientos crónico degenerativos asociados a la misma. Las cifras de este problema todos las hemos escuchado en voz de representantes de las instituciones científicas, educativas y de salud, tanto municipales, estatales y federales, a nivel nacional e internacional. Sin duda lo que más llama la atención es el crecimiento exponencial de personas con sobrepeso y obesidad en el país, lo que lleva a una proyección catastrófica en muchos sentidos, a corto y mediano plazo.

Solo por mencionar algunas cifras es importante resaltar que el sobrepeso y la obesidad han incrementado de 34.5% en 1988 a 61% en 1999 y a 69.3% en el 2006, el doble en solo 18 años. De igual forma el costo anual en atención médica de los casos prevalentes de las enfermedades atribuibles al sobrepeso y la obesidad a cambiado de 27,000 millones de pesos en el año 2000 a 50,000 millones de pesos en el año 2010 y con una predicción de 80,000 millones de pesos en el año 2017, una predicción de 3 veces en 17 años. Mientras que la pérdida en productividad por muerte prematura atribuible a sobrepeso y obesidad cambió de 10,000 millones de pesos en el año 2000 a 34,000 millones de pesos en el año 2010 y una predicción de 75,000 millones de pesos para el año 2017, una predicción de aumento de 7.5 veces en 17 años (Julio Frenk, Decano de la Universidad de Harvard en el Primer Foro de Creación Compartido OMS).

Los elementos que se han involucrado en la génesis de la obesidad son múltiples y están fuertemente asociados con el desarrollo de la humanidad en un mundo globalizado, lo que ha hecho del sobrepeso y obesidad un problema mundial.

Algunos de los factores han sido multicitados, resaltaremos los siguientes: los fenómenos metabólicos que inducen la acumulación de grasas en

el ser humano, la adicción natural por las grasas y los azúcares, la oferta y consumo generalizado de alimentos con alta densidad energética, la deficiente educación e información alimenticia, los malos hábitos alimenticios, el estilo de trabajo sedentario, la falta de actividad física que compense el incremento de la ingesta calórica, la necesidad de alimentación de una población que requiere hacerlo en poco tiempo y de manera práctica, los componentes emocionales y sociales que llevan al individuo mas a "comer" que a alimentarse.

Esta multitud de factores hace muy complicado abordar el problema y proporcionar medidas satisfactorias para soluciones directas. Como es frecuente en problemas que no se pueden asociar a un solo factor, las soluciones se postergan ante la posibilidad de asignar la responsabilidad a otro agente y con la dificultad de efectuar cambios en varios ámbitos, en tal caso, es habitual la falta de soluciones por no lograr integrar acciones conjuntas y se convierte en un campo fértil para las soluciones mágicas.

Las soluciones mágicas a los problemas multifactoriales van desde la inocente idea de que corregir un solo factor etiológico puede solucionar todo el problema hasta la propuesta de soluciones rápidas y fáciles que pueden no tener nada que ver con el problema pero que anuncian, eso sí con gran mercadotecnia la solución a ese y otros muchos problemas. Soluciones mágicas presentadas de tal forma que al no requerir grandes esfuerzos y dar una falsa imagen de sencillez y de fácil obtención de resultados se convierten en atractivas.

En tal sentido la obesidad no es la excepción y para evitarla, compensarla o revertirla han proliferado soluciones mágicas que invaden los espacios de información de todo tipo; son practicadas y frecuentemente recomendadas por varios actores sociales, incluyendo políticos, educadores, personal de salud y por supuesto los medios de comunicación con su talento artístico, que de una u otra forma se convierten en cómplices de la magia y por supuesto del engaño que este espejismo provoca. Unos, generando y promoviendo información incorrecta y engañosa, otros presentando soluciones que pueden generar otras patologías para solucionar parcial y momentáneamente el problema

de obesidad y unos más haciendo sinergismo al permitir e incentivar el consumo de alimentos con bajo valor nutricional y alta densidad energética. Todo ello genera un desconcierto en el individuo y en la sociedad, forma un criterio deficiente en la toma de decisiones e inducen la falsa certeza de seguir un camino fácil y que no implica grandes esfuerzos, aunque al final del mismo no se pueda lograr el objetivo o lograrlo parcial o temporalmente con perjuicios importantes para la salud.

Desafortunadamente se permite y se integra al esquema de decisión del individuo la promoción masiva de engaños como que el uso de prendas de vestir, cremas y bebidas reducen la grasa corporal y permiten la disminución de peso; que diez minutos de actividad física en tal aparato es capaz de mantener en forma sin regímenes nutricionales y otros ejercicios; que consumir ciertos extractos en forma de infusiones o de tabletas de los llamados "suplementos nutricionales" no controlados son suficientes para reducir el exceso de grasa y mantener en el peso ideal sin perjuicios para la salud; que dietas agresivas sin sustento nutricional y que son indicadas por personal no profesional ni especializado que reducen peso sin correcto control metabólico, invaden a núcleos de individuos, familias y sociedad sin controles, ni contrapesos efectivos o el uso de hormonas, anfetaminas y cirugías que ofrecen soluciones temporales, parciales y que frecuentemente tienen daños colaterales y secundarios.

Todo lo anterior florece en el individuo y la sociedad ante la necesidad de creer en algo mágico, que sustituya a la falta de información firme, confiable y contundente por parte de las instancias que deberían estar encargadas de ello. Información mágica que se presenta como comprobada y certificada ante la complacencia, por no pensar contubernio, de las autoridades correspondientes que deberían de regular y sancionar a las empresas que bombardean a los individuos con estos productos mágicos y generan la idea de que es posible alcanzar el éxito con estas soluciones simples.

En este plano, la información científica tiene todas las de perder, ya que a diferencia de la información mágica, la información científica requiere ser demostrada experimentalmente, comprobada por el método científico y reproducida en varias poblaciones. Un problema mayor lo representa que la información científica se tiene que presentar en forma fría, directa, con números, sin promesas infundadas, presentando probabilidades, sin generar expectativas que no estén respaldadas con la probabilidad estadística y sabiendo que se enfrenta a individuos con características genéticas y de susceptibilidad particular, lo que hace que un

tratamiento que funcione en un individuo puede no funcionar de la misma manera en otro y tal vez lo peor, la solución que ofrece el análisis científico del problema no le gustará a ninguna de las instancias, ya que implicará esfuerzo, disciplina y hasta sacrificio en diferentes ámbitos y circunstancias. Todo lo contrario que la solución mágica que con una sola y simple acción ofrece corregir todo el problema.

En tal contexto las soluciones científicas están ahí, al alcance y con acceso a quien quiera atenderlas y trabajar con ellas, sin tener que descubrir el hilo negro, enumerando algunas de ellas podemos mencionar las que le corresponden al individuo: La aplicación de regímenes dietéticos con baja densidad en grasa e hidratos de carbono y alto contenido en fibra. Establecer una estructura dietética que estimule el metabolismo, 3 comidas y 2 colaciones al día. Consumir porciones y proporciones de alimentos con los nutrientes adecuados y con el ajuste calórico adecuado. Adecuado consumo de agua, eliminando líquidos que proporcionan grandes cantidades de azúcar. Sesiones de ejercicio que permitan activar el metabolismo y consumir calorías. Conocimiento de los contenidos nutrimentales y calóricos de los alimentos que se consumen, para establecer los equivalentes correctos y controlar la cantidad de energía que se ingiere.

En el caso de las instancias gubernamentales, de salud, educativas y de investigación es necesario que actúen por lo menos en algunas acciones que ahora se presentan: La promoción de la salud integral. Asegurarse que la información que se presente en las etiquetas de los alimentos por parte de los fabricantes sea correcta y certificada. Otorgar información masiva y amplia sobre el contenido calórico y nutricional de los alimentos. Regular y sancionar la información falsa y no comprobada de productos mágicos. Diseñar programas escolares permanentes de información. Talleres familiares que permitan el desarrollo de correctos hábitos de alimentación. Regulación decidida sobre la venta de alimentos al interior de las escuelas. Fortalecer las medidas preventivas y el diagnóstico temprano, para actuar en etapas iniciales del desarrollo de la obesidad, desde el punto de vista de la seguridad social. Campañas contundentes que contrarresten las promesas mágicas y hagan conciencia del esfuerzo que se tienen que realizar en todos los ámbitos. Una visión profesional de la obesidad como enfermedad, para realizar acciones de atención médica definida y decidida. Apoyar a la realización de investigaciones científicas que permitan el mejor conocimiento del proceso patológico y las propuestas preventivas y terapéuticas correspondientes. Una participación activa de los expertos en obesidad en programas masivos de

difusión y divulgación descartando las soluciones mágicas y fortaleciendo la solución científica del problema.

La industria requiere realizar entre otras acciones: El diseño de productos saludables y atractivos (con alto contenido nutricional y bajo aporte calórico). Asumir su responsabilidad empresarial en la presentación de sus productos (porciones individuales correctas), sin ofertas que induzcan a mayor consumo. Realizar la certificación en los contenidos calóricos de los productos. Hacer promociones y propaganda que no incluya elementos mágicos.

Lo anteriormente expuesto hace evidente que el problema es verdaderamente difícil de atender y resolver tanto a nivel individual como social y su asociación a enfermedades como la diabetes, la hipertensión, las alteraciones articulares y mús-

culo-esqueléticas, los problemas psicológicos, así como las alteraciones hepáticas y renales pondrán a prueba al sistema de salud de muchos países y el nuestro no será la excepción y por el contrario, al parecer será de los primeros en colapsar ante este problema. No tendrá que pasar mucho tiempo para saber si somos capaces de afrontar este problema o enfrentarnos a una crisis en salud que abarcará múltiples aspectos y que requiere la acción conjunta y concertada que no admite titubeos y pérdida de tiempo.

Corín Hernández Palafox
Departamento de Atención y Orientación
Alimentaria, Sistema DIF Michoacán
José Víctor Calderón Salinas
Departamento de Bioquímica, Cinvestav
Editor en Jefe

EFECTOS DE TOXINAS BACTERIANAS EN LA SEÑALIZACIÓN DE LA RESPUESTA INFLAMATORIA: MAPK, UBIQUITINACIÓN-DESUBIQUITINACIÓN*

Alejandro Benítez-Guzmán y M. Eugenia Torres-Márquez

Departamento de Bioquímica Facultad de Medicina, UNAM. Apdo. Postal 70-159 México 04510 DF.
Correo E: metorres@servidor.unam.mx

RESUMEN

La respuesta inflamatoria implica la generación de citocinas en la que participa el factor de transcripción NF κ B, éste puede ser activado por la vía de MAPK u otras vías que estimulan a la cinasa IKK β ; la cinasa también es regulada por ubiquitinación/desubiquitinación. Las bacterias para establecer la infección han desarrollado mecanismos de interferencia con ambas vías, con la ubiquitinación al mimetizar las reacciones de las E3 ligasas y las desubiquitinasas del hospedero, de manera que evade selectivamente la degradación de proteínas. Las toxinas bacterianas también interfieren con la vía de las MAPK ya sea por desfosforilación o modificación de sus componentes para evitar su activación. En esta revisión nos abocamos a las toxinas bacterianas con acción sobre la ubiquitinación/desubiquitinación y la influencia que tienen en la supresión de la inflamación por la interferencia con la cascada de las MAPK.

ABSTRACT

The inflammatory response involves cytokines generation, in which NF κ B transcription factor is activated by either MAPK or IKK β kinase pathways; those pathways are also under the regulation of ubiquitination/deubiquitination process. To establish an infection, bacteria have developed interference mechanisms to host's ubiquitination and MAPK pathways. Ubiquitination is interfered when bacterial toxins mimic either host E3 ligases or deubiquitination reactions in order to selectively avoid protein degradation. Bacterial toxins also interfere with MAPK pathway by dephosphorylating or modifying its components to avoid their activation. In this review, we focus on bacterial toxins with ubiquitination/deubiquitination action and its influence on the inflammation response.

INTRODUCCIÓN

En el medio ambiente existen algunos microorganismos (virus, bacterias, hongos) que se consideran patógenos para mamíferos, la supervivencia de dichos microorganismos en un proceso infeccioso depende de la respuesta de defensa que desencadene el hospedero. Los mecanismos de defensa son conservados en organismos multicelulares y se les conoce como inmunidad innata, ésta es considerada la primera línea de defensa en el reconocimiento de

agentes extraños y sus productos. La defensa se basa en la identificación de secuencias específicas conocidas como patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP). Los PAMP son reconocidos por receptores extracelulares e intracelulares como los "Toll like" y activan diferentes cascadas de señalización (Fig. 1) como la de cinasas activadas por mitógenos (MAPK) que estimulan la transcripción de genes, entre ellos el factor nuclear que aumenta la transcripción de la cadena ligera kappa de las células B activadas (NF κ B) y la proteína activadora-1 (AP-1), que

PALABRAS

CLAVE:

Toxinas bacterianas, MAPK, ubiquitinación, respuesta inflamatoria.

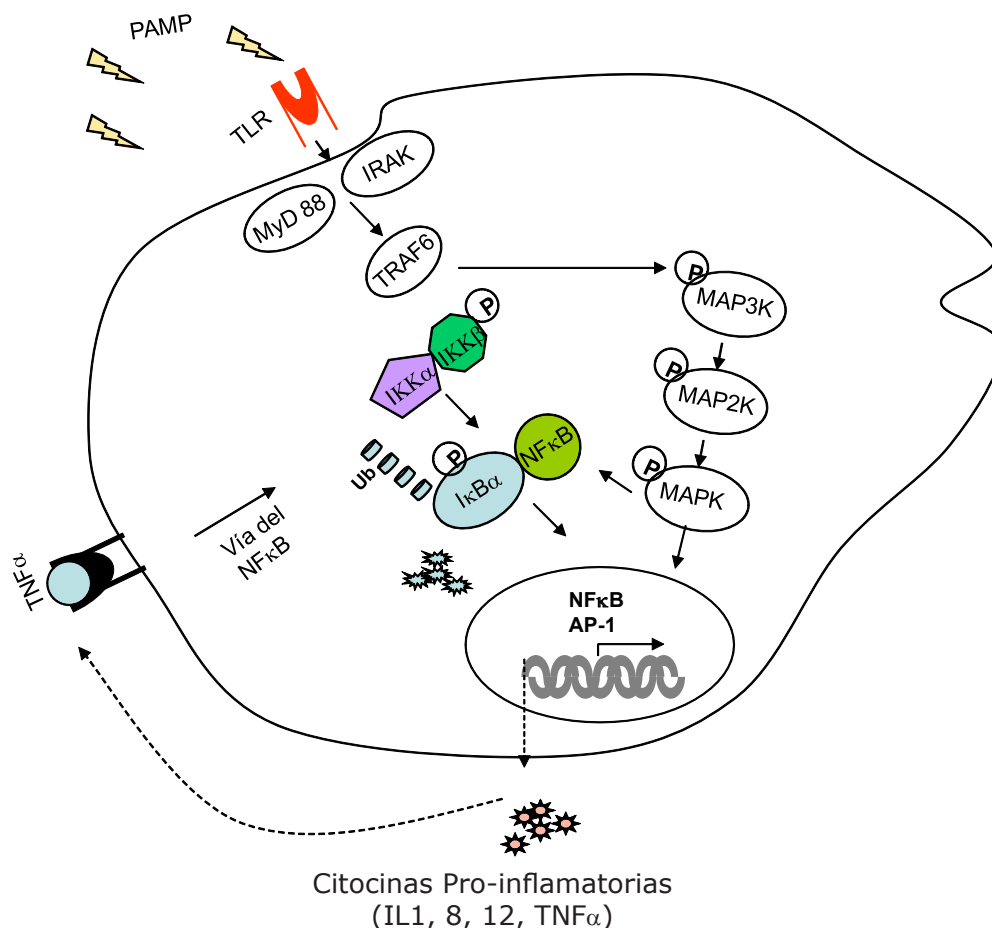
KEY WORDS:

Bacterial toxins, MAPK, ubiquitination, inflammation.

Figura 1. Señalización de la respuesta inducida por bacterias.

Se presenta de manera muy simplificada la señalización de la respuesta inducida por las bacterias conducente a la generación de citocinas e inflamación en el huésped.

IL=Interleucinas,
TNF α =factor de necrosis tumoral alfa,
-P= proteína fosforilada,
UB = Ubiquitina,
TLR= receptores "Toll like",
PAMP= patrones moleculares asociados a microbios,
AP1=proteína activadora 1, I κ B= inhibidor del NF κ B,
MAPK= cinasas activadas por mitógenos,
NF κ B= factor nuclear κ B.



finalmente desencadenan la producción de citocinas pro-inflamatorias. Además de las MAPK, existen otras vías de señalización que modulan la actividad de NF κ B, estas vías actúan a través de la cinasa α inhibidora de las proteínas que unen al NF κ B (I κ B α), la cual también es regulada por procesos de ubiquitinación.

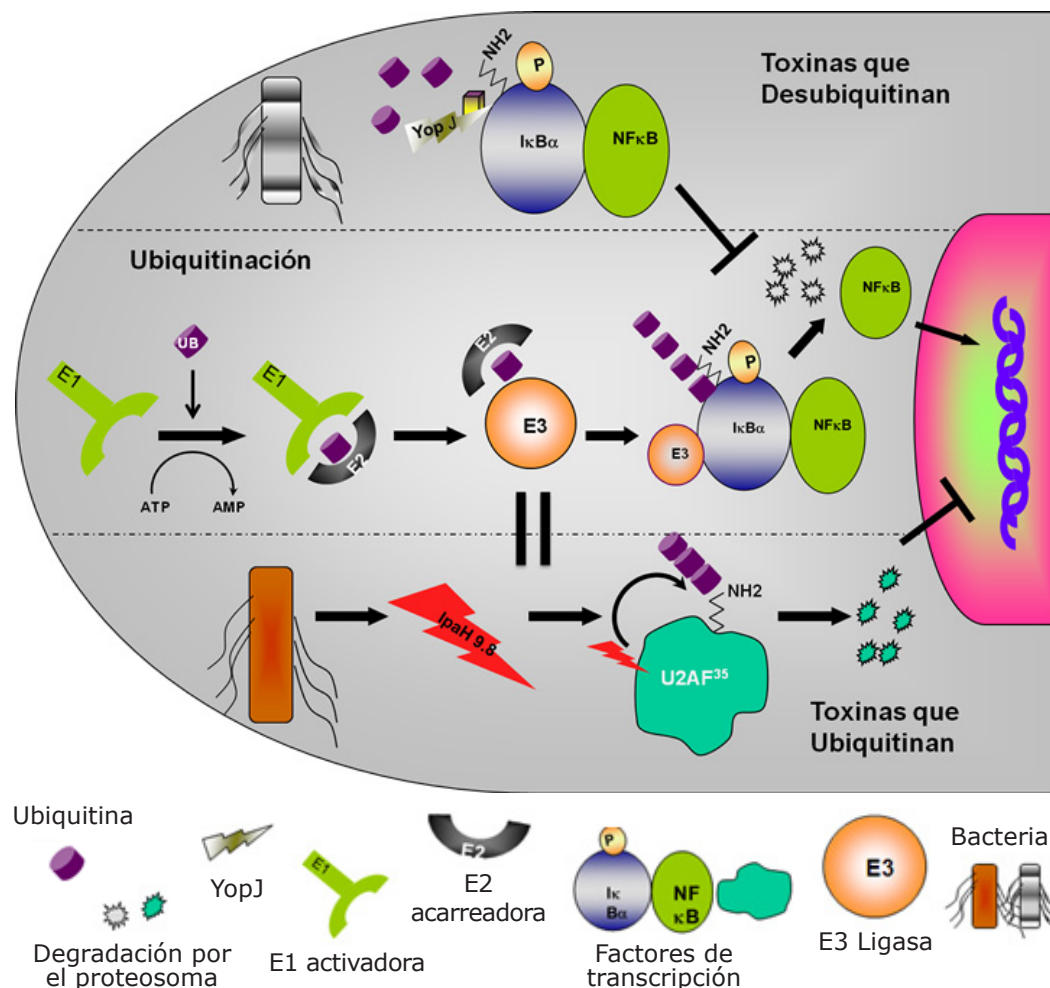
A continuación describiremos brevemente la vía de regulación de NF κ B (como parte de la respuesta inflamatoria) por ubiquitinación y la vía MAPK, para entender el proceso de virulencia del que se están valiendo las bacterias para evadir la respuesta inmune.

LA UBIQUITINACIÓN Y LA DESUBIQUITINACIÓN COMO PROCESOS REGULADORES DE LA RESPUESTA INMUNE

La ubiquitinación es la adición covalente de monómeros o polímeros de ubiquitina (Ub) a residuos de lisina de las proteínas blanco, entre otras funciones, para ser degradadas en el proteosoma (Fig. 2). Este proceso se realiza a través de la participación de las enzimas Ub-activadora (E1), Ub-conjugadora (E2) y Ub-ligasa

(E3). El proceso que lleva a cabo normalmente la célula consiste en la activación de la ubiquitina en la región C-terminal mediante la acción de E1. La ubiquitina activada se transfiere a una cisteína que se encuentra en el sitio activo de la enzima acarreadora de ubiquitina o E2. Finalmente, la proteína ligasa de la ubiquitina o E3 cataliza la unión de la región C-terminal de la ubiquitina al grupo ϵ -amino de un residuo K de la proteína que será degradada. El destino de proteínas ubiquitinadas depende de la combinación e interacción de las enzimas E2, E3, además de la longitud y enlaces de las cadenas de Ub. Cadenas de 4 o mas moléculas de Ub (poli-ubiquitinación) ligadas a K-48, marcarán a la proteína para que se degrade por el proteosoma. Cuando la mono-ubiquitinación está en la K-63 regula varios eventos celulares y participa en la señalización de manera semejante a la fosforilación. El reconocimiento de las E1, E2 y E3, no necesariamente se han vislumbrado a través de su actividad, sino que algunas de ellas se han identificado por su estructura primaria o secuencia nucleotídica. Dentro de las características de estructura primaria de las

Figura 2. La interferencia de las toxinas bacterianas en la ubiquitinación y desubiquitinación. Las toxinas bacterianas afectan el proceso de ubiquitinación y desubiquitinación. Por un lado, mimetizando enzimas E3 que tendrán proteínas blanco diferentes al hospedero (IpaH9.8) con el fin de conducir a su degradación. Por otro lado, producen proteínas que eliminan la ubiquitinación (DUB) de las proteínas marcadas por el hospedero (YopJ) para evitar su degradación. Estos mecanismos disminuyen la respuesta inmune del hospedero e inclinan la balanza en favor de la sobrevivencia bacteriana.



proteínas E2 y principalmente E3, se han hecho distinciones que han sentado las bases para la sub-clasificación en familias. La ubiquitinación de una proteína es un proceso reversible, la separación de la Ub, es catalizada por las enzimas de desubiquitinación (DUB), estas proteínas funcionan editando a las proteínas conjugadas con Ub y removiendo la Ub de éstas (Fig. 2). Aún se conoce poco sobre la función de las enzimas participantes en la DUB, pero se sabe que están presentes en todas las células eucariotas.

Las DUB incluyen metaloproteasas (JAMM/MPN+) y cisteína proteasas, que se secretan como enzimas activas, pero requieren de la presencia de Ub para formar la triada catalítica activa (1).

MECANISMOS BACTERIANOS QUE INTERVIENEN EN LA UBIQUITINACIÓN-DESUBIQUITINACIÓN

Estudios de la interacción entre la bacteria y la célula blanco, han revelado en la última década

una enorme diversidad de procesos celulares que son modulados por patógenos Gram-positivos y Gram-negativos. En el caso de las bacterias Gram negativas existen cinco* diferentes tipos de secreción (TSS), divididos en dos grupos: el dependiente de translocación/contacto, en el cual el patógeno libera la toxina directamente al citosol de la célula blanco TSS3 y TSS4 y el de secreción al ambiente extracelular TSS1, TSS2, TSS5 (2). Se ha observado que las proteínas efectoras transportadas por los TSS3/4, tales como SopB, SopD1, SopE1 y AvrA, tienen similitud con proteínas eucariotas. SopB/SopD, son fosfatasa de fosfatidil inositol semejantes a las PI4 fosfatasa de eucariotes, SopE1 es un eficiente intercambiador de nucleótidos de guanina (GEF) para las Rac y Cdc42 de eucariotes y la AvrA es una proteína con semejanza estructural y funcional a las desubiquitinasa de eucariotes. La importancia de estas proteínas estriba en que

*Durante la edición de éste trabajo se reconocieron otros dos tipos de TSS, por lo que ahora son siete y no cinco.

participan en procesos como: la modulación del citoesqueleto, donde interfieren con microtúbulos de actina y filamentos intermedios (Rac y Cdc42); también alteran etapas específicas de las vías endocíticas (fosfatasa de PI4P) y vías de señalización en donde el proceso de ubiquitinación (AvrA) juega un papel importante.

Se ha encontrado que las toxinas bacterianas interfieren con la respuesta inflamatoria, modulando la ubiquitinación a través de generar señales distintas a las del hospedero (por sus proteínas semejantes a E3) o eliminar la ubiquitinación regulada por el hospedero (con sus proteínas semejantes a DUB). Las toxinas con actividades semejantes a E3 o DUB se enlistan en la Tabla 1 y las más estudiadas se describen a continuación.

EFFECTORES BACTERIANOS CON ACTIVIDAD DE E3-LIGASA

SopA. Es secretada mediante el TSS3 por *Salmonella* entérica sero-variedad *Typhimurium*, patógeno intracelular facultativo que coloniza el intestino delgado y sobrevive al ataque de las células fagocíticas dentro del fagosoma. SopA tiene un papel importante en la inducción de la respuesta inflamatoria al promover la migración trans-epitelial de leucocitos polimorfonucleares (PMN). Recientemente (3) se ha encontrado que SopA es una E3 de la familia HECT (Fig. 2), que tiene como enzimas conjugantes (E2) *in vitro* a las Ubch5a, Ubch5c y Ubch7, mismas que participan en el proceso inflamatorio. La actividad de ligasa es importante para la migración trans-epitelial, pero los sustratos a ser ubiquitinados por esta enzima aún no se conocen.

IpaH 9.8. Es otro efector secretado por *Shigella* dentro de las células blanco, donde ésta se transloca al núcleo. Recientemente se demostró que IpaH9.8 es una ligasa E3Ub (Fig. 2). Su caracterización bioquímica fue llevada a cabo usando el modelo de *Saccharomyces* como célula adoptiva (4). En este sistema, IpaH9.8 mostró interferencia con la respuesta en la ruta de señalización de feromona, pues al ubiquitinar a la MAP2K Ste7, interrumpe la cascada hacia MAPK. IpaH9.8 une a U2AF³⁵, proteína que participa en la síntesis de interleucinas (IL) inflamatorias, y se ha propuesto que IpaH9.8 participa en la ubiquitinación dirigiendo a U2AF³⁵ hacia su degradación para disminuir la inflamación. Otras proteínas bacterianas como la SspH1 de *Salmonella* con homología en el dominio de ligasa E3 interactúan con la proteína cinasa N1 (PKN1) de sus hospederos (5).

EFFECTORES BACTERIANOS CON ACCIÓN DE DESUBIQUITINACIÓN

YopJ/P. Son toxinas secretadas por el TSS3 de *Yersinia pseudotuberculosis* y *Y. enterocolitica* respectivamente, inhiben la conjugación de SUMO-1 (proteína parecida a la ubiquitina) con sus proteínas blanco en el hospedero. Particularmente pueden desubiquitinar a la proteína que enlaza a la cinasa inhibidora de NFκB (IKBα) y evitar con esto su degradación por el proteosoma, ver Fig. 2 (6).

Ssel. Es una toxina de *Salmonella* capaz de enlazar Ub, *in vitro* muestra actividad de DUB (Fig. 2) y su efecto al infectar células epiteliales o macrófagos con una mutante inactiva es el de aumentar proteínas ubiquitinadas, lo que sugiere que también *in vivo* participa con su actividad DUB (7). El efecto de Ssel no es sobre la IKBα, pero sí sobre blancos que estimulan los efectos citotóxicos de la bacteria en el estado tardío de la infección y dado que sus blancos de preferencia son aquellos ubiquitinados en la K63, es posible que interfiera con procesos de transducción.

Chla-Dub1 y Chla-Dub2. La actividad de éstas toxinas se determinó gracias a la existencia de compuestos enlazados a ubiquitina, al utilizar lisados de células HeLa infectadas con *Chlamydia trachomatis*. La inmunoprecipitación de las proteínas con la Ub reveló dos proteínas que se caracterizaron por espectrofotometría de masas y se determinaron como pertenecientes a las DUB (8). Su actividad de desubiquitinación (Fig. 2) y desnubilación (NEDD es otro homólogo de la ubiquitina) fue comprobada *in vitro* pero sus blancos celulares aun no se establecen.

OspG. No es precisamente una DUB, pero se agrupa con éstas pues inhibe la ubiquitinación en los eventos que se dan entre la acción de E2 y E3. Esta toxina de *Shigella* puede inhibir la degradación de IKBα inducida por TNF, tiene actividad de cinasa e interactúa con la E2 Ubch5b. La actividad de cinasa no tiene ningún efecto sobre la actividad conjugadora de ubiquitina de la E2, no obstante se piensa que interfiere en el proceso de ubiquitinación de la fosfo-IKBα, posiblemente fosforilando algún componente del complejo SCF^{βtrCP} (9).

Otra toxina no identificada de *Salmonella* no patógena interfiere con la ubiquitinación de IKBα, sin interferir con la fosforilación, lo que inhibe su degradación. La inhibición de la ubiquitinación es específica para los sustratos IKBα y α-catenina del complejo E3-SCF^{βtrCP} (10).

TABLA 1
TOXINAS QUE MODIFICAN LA UB/DUB

Proteína Bacteriana	Bacteria que la secreta	Proteína blanco del hospedero	Efecto sobre la ubiquitinación	Degradación en el proteosoma	Modo de acción del efector	Papel en la virulencia bacteriana
AvrPtoB	<i>Pseudomonas syringae</i> pv <i>tomato</i>	?	Auto ubiquitinación de AvrPtoB	?	Ligasa E3-Ub de la caja U de RING	Ligasa E3-Ub de AvrPtoB supresión de la muerte celular
ExoU	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	?	ExoU K63 bi-Ub	No	?	?
GALA	<i>Ralstonia solanacearum</i>	?	?	?	Proteínas de caja F semejante en plantas	GALAs requeridas para la virulencia completa en diferentes plantas
HopM1	<i>Pseudomonas syringae</i> pv <i>tomato</i>	AtMIN7	AtMIN7	AtMIN7	Reclutamiento de AtMIN7 por HopM1 para la degradación.	HopM1 suprime la inmunidad innata del hospedero
OspG	<i>Shigella flexneri</i>	Ubiquitinada UbcH5b	Previene fosfo-IκBα K48 poli-Ub	Previene la degradación de fosfo-IκBα	Inhibe SCF ^{βTrCP} , une UbcH5 E2	OspG previene la ubiquitinación y degradación de fosfo-IκBα
SopA	<i>Salmonella typhimurium</i>	HsRMA1	SopA K48-poli-Ub	SopA	?	Ubiquitinación de SopA por HsRMA1 es necesaria para que <i>Salmonella</i> salga de las vacuolas
SopA	<i>Salmonella typhimurium</i>	?	Auto ubiquitinación de SopA (mono-Ub)	?	SopA es una Ub ligasa de HECT E3	Mono Ub de SopA no es requerida para que <i>Salmonella</i> salga de las vacuolas, incluida en la migración transepitelial de neutrófilos
SopB	<i>Salmonella typhimurium</i>	?	SopB k48-poli-Ub	degradación independiente de proteosoma SopB	?	SopB induce la polimerización de actina y la entrada de la bacteria
Chla-Dub1 y Chla-Dub2	<i>Chlamydia trachomatis</i>	?	Inhibe SCF ^{βTrCP} , une UbcH5 E2	?	?	?
Ssel	<i>Salmonella</i>	?	?	?	?	Enlaza de Ub
SopE	<i>Salmonella typhimurium</i>	?	SopE k48-poli-Ub	SopE	?	SopE induce el arreglo de la actina y la internalización bacteriana
VirF	<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	VIP1	?	Degradación directa de VIP1 e indirecta de VirE2 por el proteosoma	Proteína de la caja F	Inhibición química del proteosoma, inhibe la transformación natural de T-DNA
YopE	<i>Yersinia enterocolítica</i>		YopE k48-poli-Ub	YopE	?	?
YopJ	<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	IKKβ	IKKβ mono-Ub	No	Desubiquitinasa	YopJ inhibe el complejo IKK, de ahí que inhibe la activación de NF-κB
YopJ	<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	TRAF2, TRAF6, IκBα	TRAF2 y TRAF6 K63-poli-Ub	Previene la degradación de IκBα	Desubiquitinasa	YopJ bloquea la respuesta inflamatoria por inhibición de NF-κB y rutas MAPK
YopP	<i>Yersinia enterocolítica</i>	TRAF6, NEMO	NEMO y TRAF6 K63-poli-Ub	Previene la degradación de IκBα	Desubiquitinasa	YopP bloquea la respuesta inflamatoria por inhibición de NF-κB y rutas MAPK
YopP	<i>Yersinia enterocolítica</i>	TAK1, TAB1	?	?	Une TAB1 para inhibir la actividad TAK1. Afecta la ubiquitinación de TAB1 y TAK1	Bloquea la respuesta inflamatoria por inhibición de NF-κB y rutas MAPK

TABLA 2
TOXINAS QUE MODIFICAN LA ACTIVACIÓN DE MAPK EN LA ACTIVACIÓN DE NFκB

Toxina	Bacteria que la secreta	Proteína blanco del hospedero	Mecanismo de acción del efector	Papel en la virulencia bacteriana
Yop J	<i>Yersinia</i>	MEK6, MEK2	Acetilación y prevención de la fosforilación	Disminuye la respuesta inmune
YopJ	<i>Yersinia</i>	IKK α y β	Acetilación y prevención de la fosforilación	Inhibe la síntesis de factores antiapoptóticos
IpaH9.8	<i>Shigella</i>	MEK (Ste7)	Ubiquitinación de U2AF35	Disminución de la inflamación
SptP	<i>Salmonella</i>	Raf-1	?	Inhibe la activación de MAPK 42/44 vía Raf
SspH	<i>Salmonella typhimurium</i>	PKN1	Ubiquitinación de PKN1	Interviene en la señalización de NFκB

Los procesos de regulación de los eventos de UB-DUB en los que participan las toxinas bacterianas intervienen en la respuesta inflamatoria teniendo como consecuencia la inhibición de NFκB. Otra de las cascadas involucradas en la regulación de éste factor de transcripción son las MAPK y a continuación se analiza lo que se ha estudiado de estos mecanismos hasta ahora y en la Tabla 2 se enlistan las toxinas que afectan a esta vía.

LA FAMILIA DE LAS MAPK CINASAS

De manera breve se puede decir que una vez que los receptores a los PAMP se activan, se desencadena la fosforilación secuencial que lleva a la activación de las MAPK p38.

La cascada de MAPK, está integrada por 3 componentes secuenciales que se activan por fosforilación: las proteínas llamadas proteínas cinasas de las cinasas de MAPK (MAP3-K), que activan a las MAP 2- cinasas (MAP2K), que a su vez activan a las MAPK. Todas tienen como característica general un motivo de TXY, difieren entre ellas por el aminoácido intermedio. La fosforilación de la T y la Y dentro del asa de activación es necesaria para que se encuentren en su forma activa. Las MAPK se dividen en tres familias principales: a) las originalmente denominadas cinasas reguladas por señales extracelulares (ERK1/2 o p42/44), cuyo dominio de modulación es TEY, esta gran familia se divide en 2 grupos: ERK1 y ERK2, y el otro grupo conformado por: ERK3, ERK5, ERK7 y ERK8, estas últimas consideradas como las cinasas de gran tamaño pues sus pesos radican entre 60 y 100kD. b) las cinasas p38 (incluyen a la α , β , γ y δ) con un dominio de activación TGY. c) las

cinasas del amino terminal de c-Jun (JNK) que contienen la secuencia TPY como dominio de activación y se dividen en JNK1, JNK2 y JNK3.

La respuesta a la activación de los receptores a PAMP inicia con el encendido de las dos MAP3K: las cinasas-1 activadas por el factor de crecimiento transformante β (TAK1) y las cinasas del linaje mixto (MLK), las que son reclutadas por el factor-6 asociado al receptor de TNF (TRAF6) para su activación. El siguiente eslabón en la cascada corresponde a las MAP2K 3/6, que fosforilan a la MAPK p38.

INHIBICIÓN DE LA VÍA DE SEÑALIZACIÓN DE MAPK

OspF. Es una toxina producida por *Shigella flexneri*, una bacteria intracelular facultativa que afecta al humano causándole diarrea severa; la toxina es inyectada a la célula blanco por medio del TSS3 o inyectosoma. Esta toxina entre sus diferentes acciones tiene actividad de fosfotreonina liasa en la cascada de las MAPK, lo que implica que hidroliza al fosfohidroxilo del residuo de fosfotreonina del sitio activo de la cinasa. Esta acción no solo previene la activación de la MAPK, sino que además evita que ésta se realice posteriormente, pues deja al residuo de treonina sin el hidroxilo fosforilable y por lo tanto, mientras la proteína no se recambia no será sensible a la activación. Esta acción difiere de las vías convencionales de regulación de las MAPK, llevada a cabo por las fosfatasa, pues en este caso la fosforilación resultante dependerá de la velocidad de reacción hacia un lado u otro de la vía, mientras que la acción de la liasa es irreversible. OspF tiene como blanco a p42/44 y p38 a tiempos cortos (30 min), mientras que

JNK puede ser inactivada pero a tiempos mas largos (3 h), en el sistema sustituto de levaduras puede tener como blanco al equivalente de p42/44 (KSS1 y FUS3) o de p38 (HOG1) y a SLT2 que participa en la formación de la pared celular, sin equivalente aparente en células animales (11). Otra toxina con posible actividad de liasa es la SpvC de *Salmonella*.

INTERFERENCIA CON REACCIONES CASCA-DA ARRIBA DE MAPK

La toxina Yop J, suprime la respuesta inmune por medio de la acetilación del sitio activo de las cinasas de las cascadas de MAPK y de NF κ B y por tanto previene su activación. Yop J acetila los residuos S y T del asa de activación de MAP2K6 (12), también acetila dos residuos S en la MAP2K y un residuo de T conservado en las IKK α y β (13). La inhibición cascada arriba de MAPK, previene entonces su activación y el encendido de genes como el que codifica para la IL8 que participan en el proceso inflamatorio.

SptP es una toxina de *Salmonella* que inhibe la activación de MAPK42/44 mediada por Raf-1, que es una MAP3K (14). La SptP contiene dos dominios funcionales independientes: el amino terminal tiene función activadora de GTPasa (GAP) y el extremo carboxilo contiene la actividad de fosfatasa de Y (15). Ambos dominios se requieren para que realice su función, aunque se desconoce exactamente si la interferencia de la toxina es por inhibición de la actividad de cinasa de la MAP3K o de la MAP2K. Es de interés determinar la participación de Raf-1 en la respuesta inmune para dar cuenta de la especificidad de SptP, pues la toxina no interfiere con la activación de MAPK42/44 mediada por las MAP2K 1/2.

CONCLUSIÓN

La eliminación de patógenos es uno de los procesos que regula la inmunidad innata. El primer

evento en este proceso es el reconocimiento de regiones específicas de éstos mediante receptores, el siguiente evento es la cascada de señalización que transduce esta señal, para que en tercer lugar se promueva la respuesta inflamatoria. Es la transducción de señales el evento que se ve interrumpido por toxinas bacterianas, puesto que una de sus estrategias es interferir y/o mimetizar los procesos de UB-DUB. La interferencia de las toxinas en la vía de la Ub, impide la degradación de las proteínas que inhiben la respuesta inflamatoria (ie. IKK β), y protege a algunas proteínas bacterianas marcadas para su degradación. El conocimiento de este mecanismo de acción patógena bacteriana es relativamente nuevo y el número de toxinas que tienen ésta función va en aumento. Algunas toxinas como YopJ inhiben además la vía de activación de MAPK en el marco de la respuesta inflamatoria, pues evitan la activación de NF κ B y por tanto la síntesis de IL. Algunas toxinas contienen, dentro de su estructura, más de una función como es el caso de YopJ, lo que fortalece su virulencia por varios flancos que posiblemente estén participando en diferentes estadios de la infección. Se desconoce si estos mecanismos de acción de las toxinas bacterianas son exclusivos para aquellas que entran directamente en contacto con el interior de las células, pertenecientes al TSS3/4, pues son hasta ahora de las que se ha reportado. El conocimiento de los efectos que las toxinas bacterianas tienen sobre sus hospederos permitirá eventualmente establecer terapias más eficaces, para combatir las infecciones, y para evitar los daños que se generan como secuelas de la infección bacteriana.

Agradecimientos. Agradecemos la lectura crítica a este trabajo de las Doctoras Claudia González Espinosa y Bertha González Pedrajo, el que se realizó con el apoyo parcial del donativo DGAPA IN224606.



REFERENCIAS

1. Amerik AY, Hochstrasser M (2004) Mechanism and function of deubiquitinating enzymes. *Biochim Biophys Acta* 1695:189-207.
2. Cambronne ED, Roy CR (2006) Recognition and Delivery of Effector Proteins into Eukaryotic Cells by Bacterial Secretion Systems. *Traffic* 7:929-939.
3. Zhang Y, Dong C (2005) MAP Kinases in Immune Responses. *Cell Mol Immunol* 2:20-27.
4. Rohde JR, Breitzkreutz A, Chenal A, Sansonetti PJ, Parsot C (2007) Type III secretion effectors of the IpaH family are E3 ubiquitin ligases. *Cell Host & Microbe* 1:77-83.
5. Rosenberger CM, Finlay BB (2003) Phagocyte sabotage: disruption of macrophage signaling by bacterial pathogens. *Mol Cell Biol* 4:385-396.
6. Orth K, Xu Z, Mudgett MB, Bao ZQ, Palmer LE, Bliska JB, Mangel WF, Staskawicz B, Dixon JE (2000) Disruption of signaling by *Yersinia* effector YopJ, a ubiquitin-like protein protease. *Science* 290:1594-1597.
7. Rytönen A, Poh P, Garmendia J, Boyle C, Thompson A, Liu M, Freemont P, Hinton JCD, Holden DW (2007) SseL, a *Salmonella* deubiquitinase required for macrophage killing and virulence. *Proc Natl Acad Sci USA* 104:3502-3507.
8. Misaghi S, Balsara ZR, Catic A, Spooner E, Ploegh HL, Starnbach MN (2006) *Chlamydia trachomatis* -derived deubiquitinating enzymes in mammalian cells during infection. *Mol Microbiol* 61:142-150.
9. Arbibe L, Kim DW, Batsche E, Pedro T, Mateescu B, Muchardt C, Parsot C, Sansonetti PJ (2007) An injected bacterial effector targets chromatin access for transcription factor NF-kappaB to alter transcription of host genes involved in immune responses. *Nat Immunol* 8:47-56.
10. Collier-Hyams LS, Sloane V, Batten BC, Neish AS (2005) Cutting edge: Bacterial modulation of epithelial signaling via changes in neddylation of cullin-1. *J Immunol* 175:4194-4198.
11. Angot A, Vergunst A, Genin S, Peeters N (2007) Exploitation of eukaryotic ubiquitin signaling pathways by effectors translocated by bacterial type III and type IV secretion systems. *PLoS Pathog* 1:1-13.
12. Mukherjee S, Keitany G, Li Y, Wang Y, Ball HL, Goldsmith EJ, Orth K (2006) *Yersinia* YopJ acetylates and inhibits kinase activation by blocking phosphorylation. *Science* 312:1211-1214.
13. Mittal R, Peak-Chew SY, McMahon HT (2006) Acetylation of MEK2 and I kappa B kinase (IKK) activation loop residues by YopJ inhibits signaling. *Proc Natl Acad Sci USA* 103:18574-18579.
14. Li H, Xu H, Zhou Y, Zhang J, Long C, Li S, Chen S, Zhou JM, Shao F (2007) The phosphothreonine lyase activity of a bacterial type III effector family. *Science* 315:1000-1003.
15. Stebbins CE, Galan JE (2001) Structural mimicry in bacterial virulence. *Nature* 412:701-705.

MECANISMOS DE REGULACIÓN TRADUCCIONAL MEDIADOS POR EL FACTOR DE INICIO 4E: LAS DOS CARAS DE LA MONEDA*

Ana Valeria Martínez Silva y Tzvetanka D. Dinkova

Departamento de Bioquímica, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México,
04510 México D.F. Correo E: cesy@servidor.unam.mx

RESUMEN

Casi todos los mRNA eucariontes poseen una estructura llamada CAP en su extremo 5' (m⁷GpppN, donde N es cualquier nucleótido) reconocida por el factor de inicio de la traducción eIF4E y proteínas similares para facilitar su exportación nuclear, determinar su localización citoplasmática y permitir su traducción eficiente. La interacción entre el CAP y eIF4E, así como la unión de otras proteínas determina en gran medida el destino del mRNA recién transcrito: traducción, almacenaje, o degradación, dependiendo de los estímulos externos celulares y las señales de desarrollo. La presencia de diferentes miembros de la familia eIF4E, su especificidad por diferentes tipos de estructura CAP, expresión selectiva y afinidades por diferentes proteínas constituye un mecanismo fino adicional para la regulación de la expresión genética mediada por este factor.

ABSTRACT

The CAP structure present at the 5' end of eukaryotic mRNAs (m⁷GpppN, where N is any nucleotide) is recognized by translation initiation factor eIF4E and similar proteins to allow nuclear export, particular localization and efficient translation initiation of the transcripts. Interaction of eIF4E with CAP and with other proteins greatly determines the fate of an mRNA: translation, storage, or degradation, depending on external stimuli and developmental cues. The presence of more than one member from the eIF4E family, differing in their CAP specificity, expression patterns, and affinity for binding proteins represents an additional fine tune mechanism to modulate the regulatory role of this factor on gene expression.

INTRODUCCIÓN

El factor de inicio de la traducción eIF4E es el encargado de reconocer a la estructura 5' CAP (7-metilguanosintrifosfato, m⁷GpppN, donde N es cualquier nucleótido) en el extremo 5' de los RNAs mensajeros eucarióticos y reclutar a la maquinaria de síntesis de proteínas para dar inicio a la traducción. En eucariontes, la síntesis de más de 95% de todas las proteínas es iniciada involucrando el CAP de los mRNAs (1-3). Dada su relevancia para la expresión genética, el factor eIF4E es blanco de múltiples mecanismos de regulación que pueden

afectar su función ya sea a nivel general, o solamente para ciertos mRNAs celulares. Utilizando la regulación de eIF4E, la célula mantiene niveles óptimos de crecimiento y división celular, y responde a estímulos externos y señales de desarrollo. Este factor también es blanco de regulación por infecciones virales y por la vía de microRNAs celulares. En esta revisión se analiza la función del factor eIF4E en el contexto de la traducción y de otros aspectos del metabolismo de los mRNAs eucarióticos, exponiendo las particularidades de diferentes miembros de la familia de este factor y de la regulación de su actividad.

PALABRAS CLAVE:

Transporte de RNA, proteínas de unión a CAP, traducción, factores de inicio de la traducción, regulación post-transcripcional.

KEY WORDS:

RNA transport, CAP-binding proteins, translation, translation initiation factors, post-transcriptional regulation.

1. EL PROCESO DE TRADUCCIÓN

La traducción de mRNAs consta de cuatro etapas: iniciación, elongación, terminación y reciclamiento. Cada una de ellas es catalizada por diferentes grupos de proteínas: factores de iniciación, de elongación, y de terminación (Fig. 1). La regulación de las diferentes etapas de traducción permite la síntesis diferencial de proteínas específicas resultando en cambios profundos en la fisiología celular, sin necesariamente estar acompañados por cambios en la transcripción de los genes correspondientes (4).

Inicio. La iniciación de la traducción es un proceso complejo que en eucariontes requiere a más de 12 factores de inicio (eIFs) (Tabla 1). El paso inicial es el ensamblaje de un complejo de proteínas sobre el mRNA circularizado mediante múltiples interacciones RNA-proteína y proteína-proteína. En este proceso, el 5' CAP del transcrito es reconocido por el factor eucarionte de traducción 4E (eIF4E) unido a eIF4G (proteína de anclaje). Este

último recluta a eIF4A, una helicasa dependiente de ATP tipo DEAD que facilita el desenrollamiento de estructuras secundarias en el RNA. El complejo formado por los factores eIF4E, eIF4G y eIF4A es conocido como eIF4F. Una vez unido eIF4F al 5' CAP del mRNA, se recluta eIF4B, una proteína de unión a RNA, en forma de homodímero que estabiliza la unión del ATP con eIF4A. Por último, eIF4G recluta a la proteína de unión a poly(A) (PABP, por sus siglas en inglés) promoviendo la circularización del mRNA y estimulando la actividad de la RNA helicasa. Esto favorece el reinicio múltiple de la traducción sobre el mRNA, protege al transcrito de la acción de nucleasas y facilita el posterior reciclaje de los componentes de la maquinaria de traducción.

El complejo eIF4F unido al 5' CAP, recluta al resto de la maquinaria traduccional mediante la interacción de eIF4G con el factor eIF3, otro factor multimérico (7-12 subunidades) que se encuentra unido al complejo de pre-inicio 43S. Este último está formado por el complejo ternario (GTP, Met-

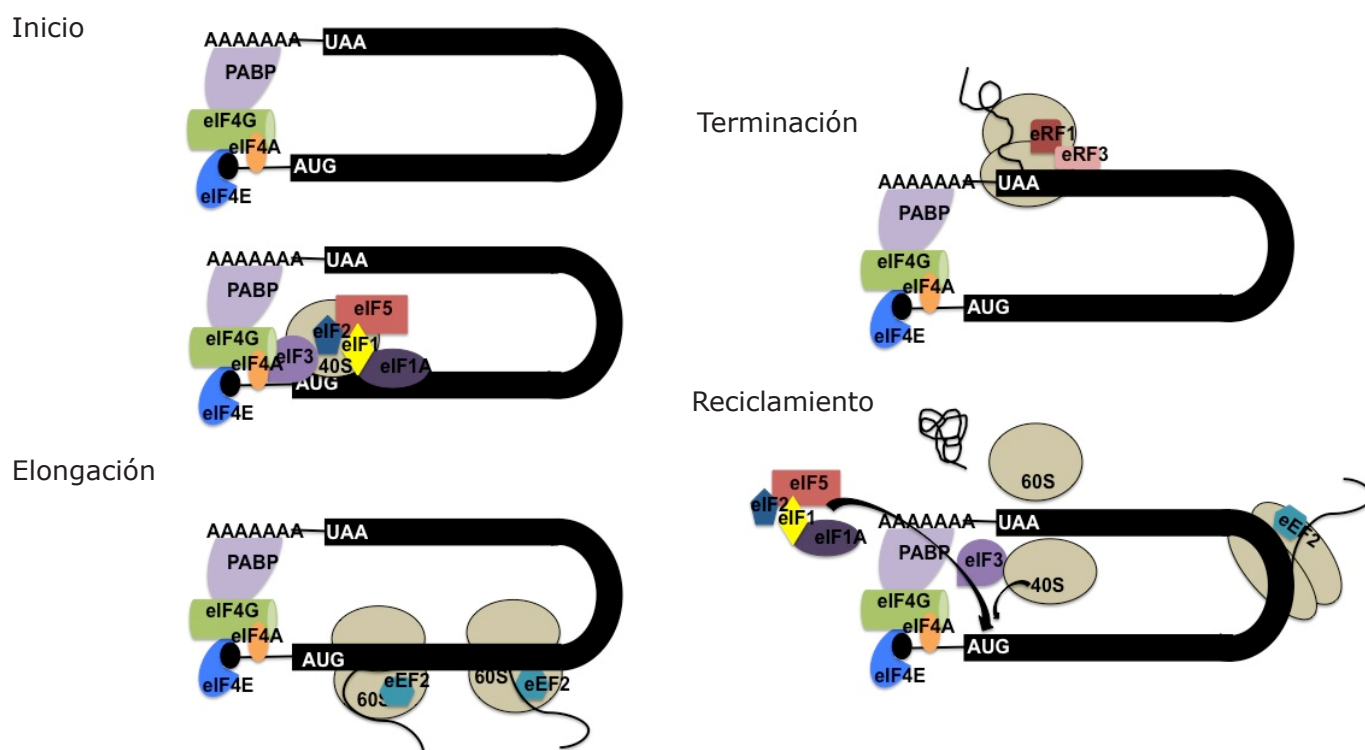


Figura 1. Representación esquemática del proceso de traducción. En eucariontes, la traducción cap-dependiente se realiza en cuatro pasos: Iniciación, elongación, terminación y reciclamiento. Durante la iniciación, el mRNA se une al complejo de factores eIF4F (eIF4E, eIF4G, eIF4A) mediante la interacción CAP-eIF4E. El complejo 43S (eIF2, tRNA^{Met}, GTP, 40S, eIF3, eIF1A) se une al mensajero a través de la interacción entre eIF4G y eIF3 para formar el complejo de inicio 48S. Este complejo recorre el mRNA hasta encontrar el codón de inicio en contexto apropiado. Una vez encontrado el AUG, se une la subunidad ribosomal 60S y se liberan los factores de inicio. La elongación comienza con la formación de la cadena polipeptídica, eEF1A lleva los tRNAs al ribosoma, mientras que eEF2 promueve la traslocación. Al encontrarse un codón de paro, eRF1 se une al ribosoma y estimula la hidrólisis de la cadena peptídica. La posterior unión de eRF3 e hidrólisis de GTP permiten el desensamblaje del ribosoma, tRNA y factores. En el reciclamiento eIF3 promueve la disociación del complejo post-terminación, permitiendo la futura unión de la subunidad 40S con los factores de inicio para que pueda comenzar otra vuelta de traducción.

TABLA 1
FACTORES DE INICIO DE LA TRADUCCIÓN

FACTOR	TAMAÑO	FUNCIÓN	SITIOS DE UNIÓN
eIF1 (a)	~12 KDa	Forma complejo multi-factor con eIF2, eIF3, eIF5, Met-tRNA _i ^{Met} . Reconocimiento codon-anticodon	Sitio de unión a eIF3
eIF1A (a)	~17 KDa	Análogo a IF1 de bacteria. Se asocia a 40S en sitio A. Retrasa la re-asociación con la subunidad 60S. Puen- te entre los factores de inicio y el ribosoma	Sitio de unión a 40S
eIF2 α eIF2 β eIF2 γ		Recluta al tRNA ^{Met} Análogo IF2-tRNA _i de bacteria. Une el Met-tRNA _i ^{Met} , GTP y la subunidad 40S en sitio P. Forma parte del complejo ternario 43S. Subunidad reguladora: α ; actividad GTPasa: γ ; unión a eIF5B: β	Sitio de unión a tRNA (no identificado) 3 elementos de unión a GTP
eIF2B (a,b,d)		Intercambia GDP/GTP para liberar a eIF2	Sitio de unión a eIF2
eIF3 (11)	~750 kDa	Análogo IF3 de bacteria. Une varios eIFs y a la subun- dad 40S. Estabiliza al complejo de pre-inicio 43S	Motivos de reconocimiento de RNA
eIF4B	~57 kDa	Helicasa que estimula eIF4A	Motivos de reconocimiento a RNA (RRM), dominio DRYG
eIF4A	~50 kDa	Helicasa RNA-dependiente	Motivo de unión a ATP, ATPa- sa A, motivos de unión a RNA. Motivos SAT requeridos para la actividad de helicasa
eIF4E	~24 kDa	Proteína que reconoce y se une 5'CAP (m ⁷ GpppN) del mRNA	Motivos de unión a 5' CAP y a eIF4G
eIF4G	~160 kDa	Puente de anclaje. Une varios factores	Sitio de unión a eIF4E, riboso- mas, eIF4A
eIF4H	~25kDa	Helicasa, junto con eIF4B estimula la actividad de eIF4A	
eIF5	~50 kDa	Parte del complejo multi-factor. Estimula la hidrólisis de GTP por eIF2 actuando como GTPasa	Sitio de unión a eIF3
eIF5B	~180 kDa	Análogo IF2-GTP. Une eIF1A. Actividad GTPasa conjunta con eIF2 durante recono- cimiento codon de inicio	Sitio de unión a eIF1A
eIF6		Se asocia con la subunidad ribosomal 60S previnien- do su asociación con la subunidad 40S, regula la traducción en respuesta a señales extracelulares Es esencial en la biogénesis de ribosomas	Sitio de unión a 60s

tRNA_i^{met}, y eIF2 $\alpha\beta\gamma$), el complejo multifactor (eIF5, eIF1 y eIF1A) y la subunidad ribosomal 40S. Esta interacción permite la formación del complejo de inicio 48S el cual recorre el mRNA en dirección 5' → 3' en busca del codón de inicio AUG en el contexto adecuado. Una vez que el Met-tRNA_i^{met} reconoce el AUG, se hidroliza el GTP unido a eIF2 α por la actividad de GTPasa de la subunidad γ y con la

asistencia de eIF5, ocurriendo la disociación de la mayoría de los factores de inicio y la unión de la subunidad ribosomal 60S para formar el ribosoma 80S listo para comenzar la elongación del péptido. En este evento, el complejo eIF4F permanece unido al mRNA para permitir que la maquinaria de inicio de la traducción pueda reciclarse y comenzar otro evento de iniciación (5, 2, 4).

El inicio de la traducción es el evento más controlado fisiológicamente, lo cual tiene sentido, porque es energéticamente favorable controlar el primer paso de cualquier reacción. Una variación en el inicio tiene influencia tanto en la cantidad de proteína (regulación cuantitativa), como en los niveles relativos de síntesis de diferentes proteínas (regulación cualitativa) (6). Dos pasos de la etapa de inicio de la traducción parecen ser los puntos críticos para la regulación fisiológica: 1) la unión de Met-tRNA^{met} a la subunidad ribosomal 40S, mediada por eIF2 $\alpha\beta\gamma$, y 2) la unión inicial del complejo eIF4F al extremo 5' del mRNA. El primero de estos pasos es limitante porque se requiere de la recuperación de eIF2 unido a GTP con la participación del factor intercambiador de nucleótidos eIF2B para formar un complejo ternario activo. Esto es válido para la mayoría de mRNAs celulares, por lo que constituye un mecanismo de regulación cuantitativa. En cambio el segundo paso, reconocimiento del CAP y unión del mRNA puede ejercer efectos variables en la traducción de diferentes mRNAs (5).

Elongación. En contraste con la iniciación, la elongación es un proceso más simple, que requiere mantener el marco de lectura, seleccionar y entregar correctamente los tRNAs aminoacilados al ribosoma 80S, y formar los enlaces peptídicos. Sólo son requeridos tres factores de elongación: eEF1A, el cual unido a GTP ayuda a cargar los aa-tRNAs correctos al ribosoma, eEF1B necesario para el intercambio de GDP por GTP en eEF1A, y eEF2, el cual mediante hidrólisis de GTP promueve la translocación del ribosoma exactamente tres nucleótidos sobre el mRNA.

Se han encontrado algunos casos de regulación durante la elongación, por ejemplo, para disminuir la síntesis de proteínas cuando las células entran en mitosis. Las células mitóticas contienen polisomas pesados que son menos activos traduccionalmente que los polisomas ligeros. Parece que las células reducen su velocidad de elongación cuando se preparan para dividirse, lo cual es seguido de una rápida síntesis de proteínas una vez que entran a la fase G1 del ciclo celular. Esta reducción en la velocidad de elongación, es probablemente mediada por la fosforilación del factor eEF2 por una cinasa específica (4).

Terminación. La terminación de la traducción eucarionte es mediada por el factor de liberación eRF1, el cual se une al ribosoma en lugar del tRNA para reconocer cualquiera de los tres codones de paro (UAA, UAG o UGA), induciendo la hidrólisis de la proteína recién sintetizada del último tRNA. Posteriormente, eRF3 unido a GTP promueve la liberación de eRF1. De esta manera nuevamente un evento

de hidrólisis de GTP es requerido para el proceso de terminación (7). Existen vías que discriminan a mRNAs que tienen codones de paro aberrantes, sin sentido o que carecen de codones de paro. Algunos autores (4) proponen un modelo donde el ribosoma se instala en la cola de poly(A) permitiendo incrementar la terminación prematura de ribosomas río arriba, resultando en una represión traduccional de un mRNA nonSTOP (sin codón de paro).

Reciclamiento. Después de la terminación de la síntesis de proteínas y la liberación de la cadena polipeptídica, el ribosoma queda con el sitio A vacío y un tRNA desacilado en el sitio P, este es reconocido como complejo de post-terminación (post-TC). Para que el ribosoma pueda comenzar otra vuelta de traducción, este complejo necesita disociarse para permitir la unión de la subunidad ribosomal 40S con los factores de inicio en el sitio donde comienza la traducción del mRNA. En bacterias, se demostró que el desmontaje del complejo de post-terminación, es un proceso activo catalizado por el factor de reciclaje del ribosoma (RRF) el cual, junto con el factor de elongación (EF-G), actúa liberando al ribosoma del mRNA. RRF es esencial para la viabilidad en procariontes, sin embargo, en eucariontes no existe un factor homólogo, y el mecanismo que precede al estado de terminación es diferente. En estos organismos, eIF3 es el factor principal que promueve la disociación de ribosomas en post-terminación en la subunidad 60S, tRNA y mRNA unido a la subunidad 40S. Su actividad es asistida por eIF1 y eIF1A. eIF1 interviene en la liberación del tRNA del sitio P, mientras eIF3 favorece la disociación de mRNA (8).

2. EL COMPLEJO DE UNIÓN A CAP, eIF4F

Antes de que la subunidad ribosomal 40S se una al mRNA, el complejo de unión a CAP eIF4F formado por eIF4E, eIF4A y eIF4G, reconoce el extremo 5' CAP del mRNA y junto con eIF4B funciona desenrollando estructuras secundarias en su región 5' no traducible (UTR). Dado que la longitud y estabilidad de estructuras secundarias en las regiones 5' UTR son variables para los mRNAs, el requerimiento de la actividad del complejo eIF4F también puede ser diferente dependiendo del transcrito.

eIF4E. Es una proteína de ~24 kDa, cuya estructura le permite ser el factor de inicio de la traducción que tiene contacto directo con el CAP. Se ha demostrado que la interacción de esta proteína con eIF4G favorece la estabilidad de la unión a CAP y propicia el reclutamiento del resto de factores al complejo. Además, la presencia de regiones de unión a RNA en eIF4G y eIF4A sugieren que el contacto con el RNA juega un papel importante en el reconocimiento del mRNA por eIF4F (3, 9).

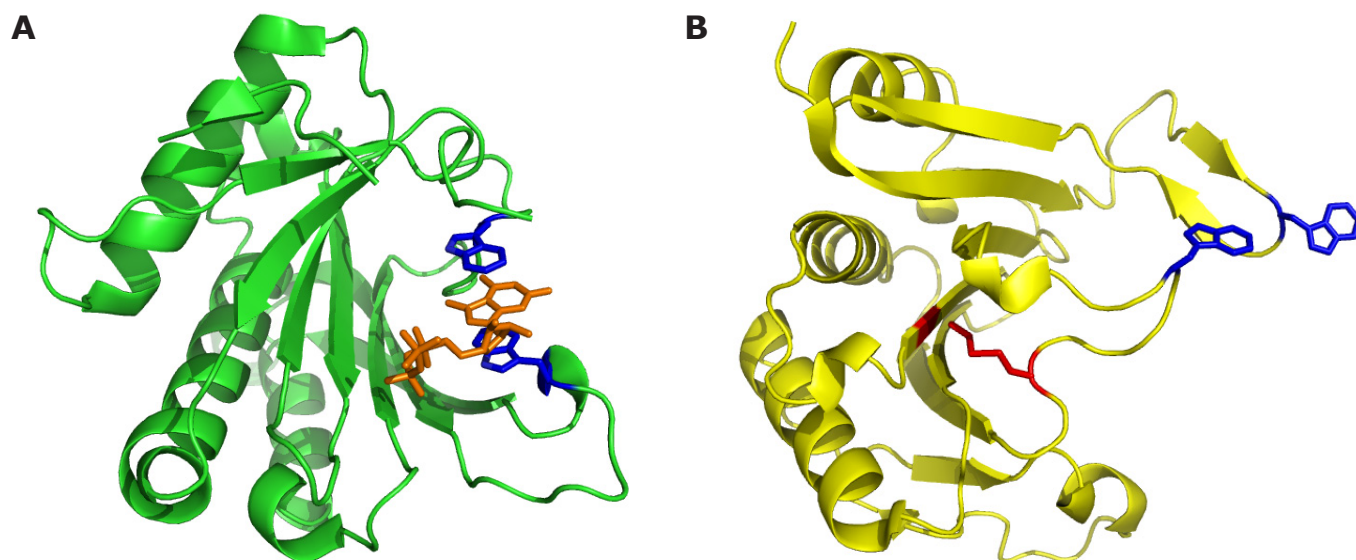


Figura 2. A) Estructura de eIF4E de humano. Los triptofano 53 y 102 involucrados en la unión a cap se muestran en azul, la estructura CAP en naranja (10). B) Estructura de eIF4E de trigo. Los triptofanos involucrados en la unión a CAP se muestran en azul, las cisteínas que forman el puente disulfuro en rojo (Tomada de 11).

eIF4A. Es una proteína de ~50 kDa con motivo DEAD/H prototipo, que une a RNA y tiene actividad de helicasa. La caracterización bioquímica de este factor muestra que exhibe una actividad de ATPasa dependiente de RNA y una actividad para desenrollar dúplex de RNA dependiente de ATP, por lo tanto, su principal función es deshacer estructuras secundarias en el mRNA (5).

eIF4G. Es una proteína modular y multifuncional de ~200 kDa, que co-localiza con las demás proteínas involucradas en el reclutamiento de la subunidad 40S al mRNA. Interacciona directamente con eIF3 y eIF4A mediante su región central y carboxilo terminal, y con PABP y eIF4E mediante su región amino terminal. Además, posee una secuencia de unión a RNA en su región central. eIF4G estimula la traducción por su interacción indirecta con dos regiones del mRNA, el extremo 5' donde estimula la actividad de eIF4E y el extremo 3' donde recluta a la proteína de unión a poly(A) PABP. De esta manera, se circulariza el mRNA, estabilizando la unión poly(A)-PABP-eIF4G-eIF4E-CAP (6).

Se ha demostrado que la estructura CAP es esencial para un eficiente inicio de la traducción en la mayoría de mRNAs, y que el requerimiento de la unión del complejo eIF4F (eIF4E, eIF4G, eIF4A) depende de la longitud de la región 5' UTR del RNA y no tanto del reconocimiento del CAP, el cuál puede funcionar como un paso subsecuente para la unión. Lo anterior sugiere que el reconocimiento del mRNA por la maquinaria de traducción es más compleja que la asociación espontánea de eIF4F con el CAP del mRNA (3).

3. EL FACTOR eIF4E

El factor de inicio de la traducción eIF4E fue descubierto como una proteína que promueve el inicio de la traducción, está involucrado en el reclutamiento de mRNAs al ribosoma y tiene el potencial de influir en la expresión de cada proteína en la célula. Por esta razón, se dice que eIF4E es un potenciador traduccional, aunque en la última década se ha descubierto que también puede actuar como represor traduccional (6).

Estructura. Dadas las funciones que desempeña en la célula, no es sorprendente que la secuencia primaria de aminoácidos de eIF4E sea altamente conservada en todos los organismos donde está presente. Datos cristalográficos obtenidos por Rayos X y resonancia magnética nuclear (NMR) muestran flexibilidad del sitio de unión a CAP en la estructura de eIF4E, la cual se ordena hasta que se une a su ligando. El núcleo de la estructura asemeja a una mano ahuecada y el reconocimiento de CAP ocurre en la cara cóncava vía interacción de dos triptófanos altamente conservados, Trp-56 y Trp-102 correspondientes a la secuencia de eIF4E-1 de humano (Fig. 2A). Esta interacción es estabilizada por tres enlaces de hidrógeno entre la guanina y Trp-102, Glu-103. Aparentemente, la ribosa no contribuye significativamente a la unión, mientras que el grupo trifosfato, participa en muchas interacciones polares con varios aminoácidos de eIF4E. La contribución de la interacción π de los grupos R de los Trp-56 y Trp-102 es determinante en el reconocimiento del CAP por eIF4E (10). Por

otra parte, la mayoría de las proteínas que interactúan con eIF4E, incluyendo a eIF4G, se unen a la cara convexa de la estructura, involucrando a Trp73 (6).

En la proteína eIF4E de trigo, se encontró un puente disulfuro intramolecular entre dos cisteínas que es conservado solo en plantas (11). Esta observación genera la posibilidad de que el entorno celular pueda influir en la función de la proteína mediante la regulación de su estado de oxidación (Fig. 2B).

Regulación. Aunque eIF4E regula la traducción global, contribuye en especial a la traducción de un pequeño grupo de mRNAs que codifican a proteínas claves involucradas en proliferación celular, angiogénesis y sobrevivencia (2). Dado que, la unión a CAP es limitante en el inicio de la síntesis de proteínas, los mRNAs compiten por eIF4E bajo condiciones celulares normales. Si los niveles de eIF4E aumentan, la traducción de mRNAs débiles (poco expresados bajo condiciones normales y con 5'UTR altamente estructuradas) es selectiva y desproporcionadamente aumentada, y los mRNAs fuertes (genes de mantenimiento) siguen siendo expresados a niveles elevados.

La función de eIF4E parece estar regulada por varios mecanismos diferentes. Algunas evidencias sugieren que eIF4E se encuentra poco abundante a diferencia de los otros factores de inicio, y que su disponibilidad es una limitante en el inicio de traducción. En mamíferos y *Drosophila* se han encontrado proteínas de unión a eIF4E llamadas 4E-BP (del inglés 4E-"Binding Protein") que inhiben la traducción al competir con eIF4G por el mismo sitio de interacción en eIF4E, disminuyendo de esta manera la traducción dependiente de CAP para los mRNAs. También se han descrito otras proteínas que interactúan con eIF4E dependiendo de ciertas secuencias en el mRNA. Estas proteínas son diferentes a las 4E-BPs, pero comparten el mismo motivo de interacción YXXXXLΦ (donde Φ es cualquier aminoácido hidrofóbico) también presente en eIF4G. Por ello se ha sugerido que en cualquier organismo pueden existir proteínas de unión a eIF4E no canónicas que controlen la traducción (4).

Aunque la mayoría de mRNAs son traducidos de manera dependiente de CAP, existe un mecanismo alternativo de inicio de la traducción independiente de CAP y de eIF4E, que requiere de una estructura en RNA llamada IRES (sitio de entrada interna del ribosoma). Esta estructura, comúnmente encontrada en algunos virus de eucariontes recluta directamente otros factores de traducción como eIF4G, eIF4A y a la subunidad 40S. Inicialmente se consideró que esta era una vía de inicio de la

traducción específica de virus, pero ahora se sabe que juega un papel importante para la regulación traduccional de mRNAs celulares, especialmente cuando la traducción dependiente de CAP es reducida durante procesos especiales como muerte celular programada, mitosis y bajo ciertas condiciones de estrés (7).

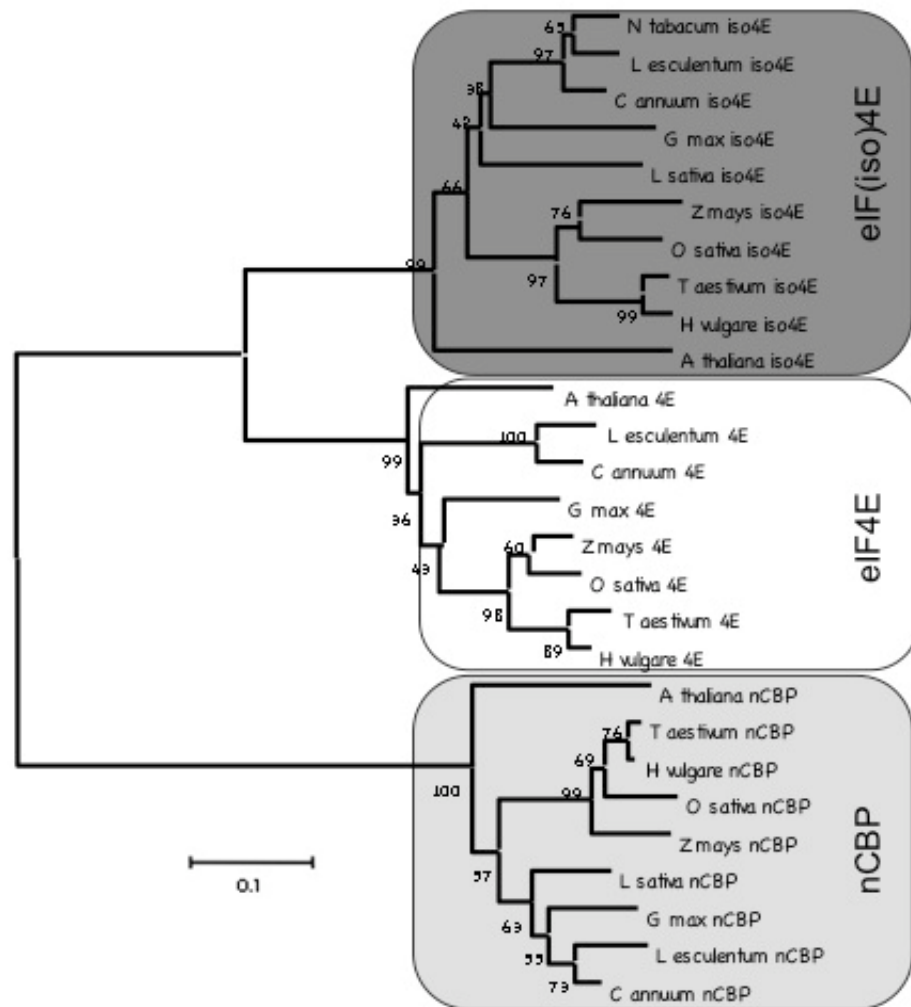
La fosforilación de un residuo conservado en eIF4E, Ser-209 en eIF4E-1 de humano, se ha propuesto como un tercer mecanismo de regulación para la actividad de este factor. Sin embargo las evidencias sobre este mecanismo son controversiales. Mientras algunos trabajos reportan que la Ser-209 fosforilada por la vía de MAP cinasas favorece la unión de eIF4E al CAP, otros reportes indican que dicha fosforilación puede resultar inhibitoria para la traducción dependiendo de la condición y tipo celular.

Uno de los mecanismos menos estudiados sobre la regulación de la traducción mediada por eIF4E es el que involucra la presencia de más de un miembro de la familia eIF4E en un mismo organismo, donde cada uno puede presentar diferentes niveles de expresión, afinidades a CAP o proteínas interactoras. La presencia de isoformas de eIF4E fue primero descubierta en plantas, pero es hasta la década 2000 que se le atribuyó una relevancia generalizada, al descubrir con el creciente número de genomas secuenciados que casi todos los organismos eucariontes (a excepción de algunas levaduras) cuentan con más de una proteína tipo eIF4E (12). Actualmente se ha propuesto que la presencia de diferentes miembros de la familia eIF4E podría contribuir a la traducción selectiva de mRNAs para un organismo. Sin embargo, a pesar de que eIF4E es uno de los factores de traducción más estudiados, poco se conoce sobre la especialización de las funciones de miembros de esta familia.

4. MIEMBROS DE LA FAMILIA eIF4E

En el 2005, Joshi y colaboradores agruparon a los miembros de la familia eIF4E en tres clases de acuerdo a la presencia de residuos correspondientes a Trp-43 y Trp-56 de eIF4E-1 de humano. La clase I contiene Trp en ambas posiciones, la clase II, contiene Tyr, Phe o Leu en la posición 43 y Tyr o Phe en la posición 56, y la clase III contiene Trp en la posición 43 pero Cys o Tyr en la posición 56. En organismos que presentan varios miembros de la familia eIF4E, se ha encontrado que sólo uno de ellos es ubicuo y expresado constitutivamente, siendo responsable de la traducción dependiente de CAP general. Este es representado por eIF4E-1 en *Drosophila* (13), eIF4E-1 en mamíferos. IFE-3

Figura 3. Árbol filogenético de los miembros de la familia eIF4E en plantas. Se han reportado tres miembros de la familia eIF4E en plantas: eIF4E, pertenece a la clase I y es ortólogo a eIF4E-1 de mamíferos; eIF(iso)4E, también incluida en la clase I, específica de plantas; y nCBP, perteneciente a la clase II, que tiene ortólogos en mamíferos y nematodos. El árbol filogenético fue construido con el programa MEGA4 por sus siglas en inglés Molecular Evolutionary Genetics Analysis Versión 4 usando el método Neighbor-Joining con 1000 replicas bootstrap.



en *C. elegans* (14), eIF4E-1A en pez zebra (15) y eIF4E en plantas (16). Los otros eIF4Es son activos en tejidos o etapas de desarrollo particulares, o se unen a ciertos mRNAs. Esto le confiere considerable versatilidad a esta familia de proteínas, y apoya la hipótesis de que no son completamente redundantes al presentar selectividad traduccional.

Selectividad por el tipo de CAP. Algunos miembros de la familia 4E presentan selectividad por diferentes estructuras CAP. Los mRNAs de *C. elegans* contiene dos tipos de CAP, monometilado (m^7GpppN) y trimetilado ($m^{7,2,2}GpppN$). IFE-3 (Clase I), e IFE-4 (Clase II) se unen preferentemente a m^7GpppN , mientras que IFE-1, IFE-2 y IFE-5 (Clase I) se unen a ambos tipos de CAP (14). En plantas, eIF4E y eIF(iso)4E (Clase I) presentan selectividad en el reconocimiento de estructuras CAP mono y di-metiladas, respectivamente; y nCBP (Clase II) presenta una afinidad de unión a CAP mayor que eIF4E y eIF(iso)4E aunque es capaz de estimular la traducción a niveles mucho menores que ellos (17). Los tres miembros de la

familia eIF4E se encuentran presentes en diversas plantas (Fig. 3) pero hasta el momento no se ha podido determinar con certeza su especialización funcional.

Patrones de expresión. Es común que los diferentes miembros de la familia 4E se expresen diferencialmente en cada organismo. Por ejemplo, el pez zebra (*Danio rerio*) cuenta con dos miembros de esta familia, eIF4E-1A que se expresa ubicuamente, y eIF4E-1B que se expresa sólo en embriones y gónadas (15). En *Schizosaccharomyces pombe* se ha observado que hay dos miembros de la familia eIF4E que presentan localización subcelular diferencial (18). En *Arabidopsis thaliana* se encontró que el mRNA de eIF(iso)4E es más abundante en puntas de raíz, órganos florales y en tejidos en desarrollo, mientras que el de eIF4E se expresa a niveles similares en la mayoría de los tejidos de plantas maduras (16). Por otro lado, a nivel de proteína eIF4E es más abundante en células en cultivo y silicuas, eIF(iso)4E en raíces y nCBP en botones florales. En maíz se demostró que

los transcritos de eIF4E y eIF(iso)4E se expresan diferencialmente durante la germinación. Ambos están presentes en semillas secas, sin embargo, eIF(iso)4E es mucho más abundante. eIF4E se transcribe *de novo* después de las 12 h de germinación y se acumula a nivel proteína hasta las 24 h de germinación. La proteína de eIF(iso)4E mantiene niveles elevados y constantes durante las primeras 24 h de germinación para lo cual se requiere de una traducción activa del mRNA correspondiente.

Funciones especializadas. En la mayoría de los organismos se ha reportado que al menos un miembro de la familia eIF4E es esencial para la viabilidad. Tal es el caso de IFE-3 en *C.elegans* (14) y eIF4E-1 en *Drosophila*. Sin embargo, la presencia de otros miembros de la familia en estos organismos es requerida para ciertos eventos específicos durante su ciclo de vida. Por ejemplo en *C. elegans*, la depleción de IFE-1 bloquea la espermatogénesis; mutantes en IFE-2 muestran mayor longevidad y resistencia a estrés oxidativo, y la ausencia de IFE-4 provoca la retención de embriones (6). En *Schizosaccharomyces pombe* se encontró que eIF4E-2 está involucrado en repuestas a estrés por falta de nutrientes, altas temperatura y elevadas concentraciones de sal, deteniendo la división celular y el crecimiento (18). En *Drosophila*, se ha demostrado que eIF4E-1 es esencial para el desarrollo del ovario y del embrión (13).

Selectividad en la traducción de mRNAs. En animales, la mayoría de los mensajes que dependen fuertemente de los niveles de eIF4E disponibles, codifican para proteínas que actúan en la progresión del ciclo celular y supervivencia. Por el contrario, mRNAs correspondientes a reguladores negativos de crecimiento o a genes de mantenimiento no requieren elevadas concentraciones de eIF4E. En *C. elegans*, se demostró que IFE-4 es requerido para la traducción de un grupo de mRNAs específicos durante cierta etapa del desarrollo (19) y en *Schizosaccharomyces pombe* se encontró que eIF4E-2 favorece la traducción de mRNAs con regiones 5'-UTR estructuradas (18). En *Drosophila*, la proteína 4E-HP miembro de la clase II participa en la inhibición traduccional de un mRNA específico "Caudal" para lograr un adecuado desarrollo del embrión (20). Con estos hallazgos se apoya la idea de una función especializada para cada miembro de la familia eIF4E en los organismos que posean más de una de estas proteínas.

En plantas aún no se ha podido demostrar *in vivo* la función particular para los tres factores tipo eIF4E conservados (Fig. 3). En semillas de maíz, se ha observado que eIF4E y eIF(iso)4E traducen *in vitro* mRNAs celulares de manera selectiva (21). De

manera similar, se ha reportado que los complejos correspondientes a cada factor, eIF4F y eIF(iso)4F son capaces de discriminar mRNAs que muestran regiones no traducibles con diferente longitud y grado de estructuración (9).

Regulación de la expresión viral: Además de su importante función en la traducción celular, eIF4E y el complejo de unión a CAP, eIF4F son blanco de regulación durante la infección por diferentes virus, tanto en animales como en plantas. Muchos de los virus cuyo genoma está conformado por RNA de cadena positiva y no poseen CAP en su extremo 5', inician su traducción de manera CAP-independiente utilizando un sitio de entrada interna del ribosoma (IRES). Algunos virus pueden tener en lugar de CAP, unida al extremo 5' una proteína viral llamada VPg que puede reclutar a eIF4E. El sitio de unión a VPg en eIF4E es diferente al sitio de unión a CAP y a las proteínas 4E-BPs. En plantas, eIF4E y eIFiso4E se unen a la proteína VPg de la familia de los potyvirus con diferentes afinidades, lo cual correlaciona positivamente con la infección viral. Plantas de *Arabidopsis thaliana* carentes de eIFiso4E no presentan un fenotipo distinguible durante el desarrollo, pero la falta de este factor les confiere resistencia a la infección producida por algunos potyvirus (22). En el caso de interacción virus – miembro de la familia eIF4E – planta hospedera se ha encontrado un elevado grado de especificidad, ya que el mismo virus puede requerir diferentes miembros de la familia eIF4E en especies de plantas diferentes.

5. NUEVAS FUNCIONES PARA eIF4E

Recientemente, se ha encontrado que eIF4E también tiene un papel diferente al de inicio de la traducción, en particular en la exportación de algunos mRNAs específicos del núcleo al citoplasma. En células animales, alrededor del 68% de eIF4E se encuentra en el núcleo en sitios conocidos como cuerpos nucleares donde se involucra en la exportación de un grupo de mRNAs que contienen una estructura conocida como elementos sensibles a 4E. eIF4E entra en el núcleo por la unión a la proteína 4E-T (transportador de eIF4E). Una vez en el núcleo, su interacción con numerosas proteínas puede regular la unión a CAP y controlar la exportación de mRNAs (2). eIF4E dirige la progresión del ciclo celular y la proliferación celular mediante la coordinación de la expresión de muchos genes a nivel post-transcripcional y a través de este efecto, se ha encontrado que contribuye al potencial oncogénico celular. Por otro lado, dependiendo de las proteínas con las cuales interacciona, eIF4E puede jugar un papel importante en el secuestro de mRNAs en

partículas ribonucleoprotéicas citoplasmáticas ya sea para mantener la estabilidad de los mRNAs para que sean traducidos cuando sea necesario o para promover su degradación en cuerpos de procesamiento citoplasmáticos (cuerpos P).

CONCLUSIONES

El inicio de la traducción de mRNAs eucariontes es un proceso complejo que involucra la participación de muchos factores protéicos, regiones específicas del mRNA, las subunidades ribosomales y el tRNA iniciador. La formación del complejo 5'CAP-eIF4E, estabilizado por eIF4G unido a PABP-poly(A)3' garantiza múltiples eventos de re-inicio de la traducción sobre la misma molécula de mRNA, protegién-

dolo de la degradación. Estudios durante los últimos 30 años han revelado muchos de los mecanismos de regulación traduccional a nivel global o específico de mRNA que involucran a eIF4E. Sin embargo, aún quedan muchas preguntas por resolver sobre las nuevas funciones especializadas que han sido evidenciadas para diversos miembros de la familia eIF4E. Entre estas se encuentran su participación en el transporte núcleo-citoplasmático de mRNAs, la formación de complejos ribonucleoprotéicos inactivos traduccionalmente, y el significado de la presencia de más de una isoforma de este factor conservada para la mayoría de los organismos vivos a lo largo de la evolución. 

REFERENCIAS

1. Browning KS (2004) Plant translation initiation factors: it is not easy to be green. *Biochemical Society Transactions* 32:589-591.
2. Fischer PM (2009) Cap in hand: targeting eIF4E. *Cell Cycle* 8:2535-2541.
3. Kaye NM, Emmett KJ, Merrick WC and Jankowsky E (2009) Intrinsic RNA binding by the eukaryotic initiation factor 4F depends on a minimal RNA length but not on the m7G cap. *J Biol Chem* 284:17742-17750.
4. Groppo R. and Richter JD (2009) Translational control from head to tail. *Curr Opin Cell Biol* 21:444-451.
5. Pain VM (1996) Initiation of protein synthesis in eukaryotic cells. *Eur J Biochem* 236:747-771.
6. Rhoads RE (2009) eIF4E: new family members, new binding partners, new roles. *J Biol Chem* 284:16711-16715.
7. Pestova TV, Lorsch JR and Hellen CU (2007) *En Translational Control in Biology and Medicine*. Editor: Mathews MB, Sonenberg N. and Hershey JWB, CSHL Press, Cold Spring Harbor, NY, pp. 87-128.
8. Pisarev AV, Hellen CU and Pestova TV (2007) Recycling of eukaryotic posttermination ribosomal complexes. *Cell* 131:286-299.
9. Mayberry LK, Allen ML, Dennis MD and Browning KS (2009) Evidence for variation in the optimal translation initiation complex: plant eIF4B, eIF4F, and eIF(iso)4F differentially promote translation of mRNAs. *Plant Physiol* 150:1844-1854.
10. Niedzwiecka A, Marcotrigiano J, Stepinski J, Jankowska-Anyszka M, Wyslouch-Cieszyńska A, Dadlez M, Gingras AC, Mak P, Darzynkiewicz E, Sonenberg N (2002) Biophysical studies of eIF4E cap-binding protein: recognition of mRNA 5' cap structure and synthetic fragments of eIF4G and 4E-BP1 proteins. *J Mol Biol* 319:615-635.
11. Monzingo AF, Dhaliwal S, Dutt-Chaudhuri A, Lyon A, Sadow JH, Hoffman DW, Robertus JD and Browning KS (2007) The structure of eukaryotic translation initiation factor-4E from wheat reveals a novel disulfide bond. *Plant Physiol* 143:1504-1518.
12. Joshi B, Lee K, Maeder DL and Jagus R (2005) Phylogenetic analysis of eIF4E-family members. *BMC Evol Biol* 5:48.
13. Hernandez G, Altmann M, Sierra JM, Urlaub H, Diez del Corral R, Schwartz P and Rivera-Pomar R (2005) Functional analysis of seven genes encoding eight translation initiation factor 4E (eIF4E) isoforms in *Drosophila*. *Mech Dev* 122:529-543.
14. Keiper BD, Lamphear BJ, Deshpande AM, Jankowska-Anyszka M, Aamodt EJ, Blumenthal T and Rhoads RE (2000) Functional characterization of five eIF4E isoforms in *Caenorhabditis elegans*. *J Biol Chem* 275:10590-10596.
15. Robalino J, Joshi B, Fahrenkrug SC and Jagus R (2004) Two zebrafish eIF4E family members are differentially expressed and functionally divergent. *J Biol Chem* 279:10532-10541.
16. Rodriguez CM, Freire MA, Camilleri C and Robaglia C (1998) The *Arabidopsis thaliana* cDNAs coding for eIF4E and eIF(iso)4E are not

- functionally equivalent for yeast complementation and are differentially expressed during plant development. *Plant J* 13:465-473.
17. Ruud KA, Kuhlow C, Goss DJ and Browning KS (1998) Identification and characterization of a novel cap-binding protein from *Arabidopsis thaliana*. *J Biol Chem* 273:10325-10330.
 18. Ptushkina M, Malys N and McCarthy JE (2004) eIF4E isoform 2 in *Schizosaccharomyces pombe* is a novel stress-response factor. *EMBO Rep* 5:311-316.
 19. Dinkova TD, Keiper BD, Korneeva NL, Aamodt EJ and Rhoads RE (2005) Translation of a small subset of *Caenorhabditis elegans* mRNAs is dependent on a specific eukaryotic translation initiation factor 4E isoform. *Mol Cell Biol* 25:100-113.
 20. Cho PF, Poulin F, Cho-Park YA, Cho-Park IB, Chicoine JD, Lasko P and Sonenberg N (2005) A new paradigm for translational control: inhibition via 5'-3' mRNA tethering by Bicoid and the eIF4E cognate 4EHP. *Cell* 121:411-423.
 21. Dinkova TD, Aguilar R and Sanchez de Jimenez E (2003) En Nicolas G, Bradford KJ, Come D and Pritchard HW (eds.), *The Biology of Seeds: Recent Research Advances*. CAB International pp 181-189.
 22. Duprat A, Caranta C, Revers F, Menand B, Browning KS and Robaglia C (2002) The *Arabidopsis* eukaryotic initiation factor (iso)4E is dispensable for plant growth but required for susceptibility to potyviruses. *Plant J* 32:927-934.

MODELOS NEUROTÓXICOS DE LA ENFERMEDAD DE PARKINSON Y DISFUNCIÓN MITOCONDRIAL*

Alarcón Aguilar Adriana¹, Abel Santamaría del Ángel², Mina Königsberg Fainstein¹

¹Departamento de Ciencias de la Salud, CBS. Universidad Autónoma Metropolitana, Iztapalapa. México D.F. Tel: 5804-4732; Fax: 5804-4727; mkf@xanum.uam.mx

²Laboratorio de Aminoácidos Excitadores, Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía Manuel Velasco Suárez, S.S.A., México D.F. 14269, México. Tel. 5606-3822, ext. 2013.

RESUMEN

Existen numerosas enfermedades neurodegenerativas caracterizadas por la progresiva atrofia o muerte selectiva de determinadas poblaciones de neuronas, lo cual lleva a la interrupción de circuitos neuronales específicos y en consecuencia, a la aparición de distintos déficits neurológicos, manifestándose a través de diversos síntomas. La enfermedad de Parkinson es el segundo trastorno neurodegenerativo más frecuente en las personas de la tercera edad, sin embargo, aún no existen fármacos terapéuticos eficientes que logren detener su progresión. Para el estudio de esta enfermedad a nivel experimental se emplean modelos neurotóxicos, en roedores y primates no humanos, que semejan algunas características de la enfermedad y son muy útiles para tratar de entender sus causas y origen. Actualmente se sabe que el mecanismo de acción de una gran cantidad de los agentes tóxicos empleados como modelos, involucra la inhibición del complejo I mitocondrial y la generación de especies reactivas de oxígeno, por lo que el papel de la mitocondria durante el desarrollo de la enfermedad de Parkinson es fundamental. En este trabajo haremos una breve revisión de estos modelos y su relevancia para el estudio de la enfermedad, dando especial atención a las alteraciones en la funcionalidad mitocondrial.

ABSTRACT

Most neurodegenerative disorders are characterized by the progressive atrophy of specific neuronal populations. These events currently lead to the interruption of specific neuronal pathways as well as the expression of several neurological deficits and disorders. Parkinson's disease is the second more frequent neurodegenerative disease worldwide affecting mature people. Unfortunately, up to now there are not efficient therapeutic drugs available that can counteract its progression. In order to investigate the causes and origins of this disorder, several neurotoxic models mimicking some characteristics of the disease have been used in rodents and non-human primates. Currently, it is known that the mechanisms of action exerted by most of the employed toxicants for this purpose involve the inhibition of mitochondrial complex I and the generation of reactive oxygen species; hence, the role of mitochondrial dysfunction in the development of Parkinson's disease is fundamental. In this work we will bring a brief review on these models and their relevance for the study of this disorder, giving special attention to the alterations in mitochondrial function.

INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Parkinson (EP) es el segundo padecimiento neurodegenerativo más frecuente en las personas de la tercera edad, superado

únicamente por la enfermedad de Alzheimer, con una incidencia de 1 por cada 200 habitantes en población abierta (1). Las estadísticas oficiales sobre enfermos con EP en México tienen un severo atraso y el dato más reciente es de hace 13 años:

PALABRAS

CLAVE:

Enfermedad de Parkinson, MTPP, paraquat, rotenona, 6- hidroxidopamina, estrés oxidativo.

KEY WORDS:

Parkinson, MTPP, paraquat, rotenone, 6- hydroxydopamine, oxidative stress.

en 1997 se estimaba que había entre 500 y 600 mil personas que padecían esta enfermedad, sin embargo, el año pasado la Asociación Mexicana de Parkinson A.C. reportó que en nuestro país existen al menos dos millones de personas afectadas por este padecimiento.

La EP es una neuropatía degenerativa que afecta tanto a hombres como a mujeres y se desarrolla más frecuentemente después de los 50 años de edad. Esta enfermedad fue descrita originalmente por James Parkinson en 1817 y se caracteriza por síntomas tales como bradicinesia (movimiento lento), temblor en reposo y rigidez (2).

A nivel histopatológico y molecular se relaciona con un deterioro gradual y progresivo de las neuronas que se localizan en la sustancia nigra pars compacta (SNpc) del cerebro, las cuales sintetizan dopamina y la liberan en el estriado. Otra característica que se ha encontrado en cerebros de pacientes con EP son las inclusiones intracelulares de agregados enriquecidos de la proteína α -sinucleína, llamados también cuerpos de Lewy (3).

La degeneración de las neuronas dopaminérgicas (NDA) y la consecuente pérdida de dopamina (DA) en las terminales nerviosas en el cuerpo estriado son aparentemente las responsables de la mayoría de los trastornos del movimiento. De hecho, se cree que una de las causas que conducen a una degeneración preferente de las NDA es que precisamente el metabolismo de dicho neurotransmisor conlleva a la generación de radicales libres y especies reactivas de oxígeno (ERO), lo cual acentúa el estrés oxidativo en esta población (4).

Si bien la EP es mayoritariamente una enfermedad esporádica asociada al envejecimiento (1), también se han encontrado mutaciones responsables de un cierto número de casos en los genes que codifican para la α -sinucleína, la parkina y el DJ-1 o Nurr-1, entre otros, que propician el desarrollo de la enfermedad (5). Además, se han detectado algunas mutaciones en el DNA mitocondrial que también podrían estar relacionadas con la aparición de la EP en algunos casos.

Aunque la etiología de la EP sigue siendo un misterio, su patogenia comienza a ser entendida como una cascada de múltiples factores nocivos concurrentes y responsables, en su conjunto, de las alteraciones mayores en esta enfermedad. Una gran cantidad de ideas sobre la patogénesis de la EP provienen de investigaciones realizadas en modelos experimentales, especialmente aquellos producidos por diversas toxinas (3).

AGENTES NEUROTÓXICOS INDUCTORES DE MODELOS DE PARKINSON

Para reproducir algunas de las características que semejan los fenómenos que tienen lugar en diversas neuropatologías, actualmente se emplean modelos experimentales, tanto *in vivo* como *in vitro*, que involucran el uso de agentes neurotóxicos. En el caso de la EP, el modelo más estudiado y utilizado hasta ahora es el producido por 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridinio (MPTP), o por su ión aún más tóxico, el 1-metil-4-fenilpiridinio (MPP⁺), por lo que será el más discutido en esta revisión, aunque también se abordarán otros modelos de agentes tóxicos como el paraquat, la rotenona y la 6-hidroxidopamina (6-OHDA) (Fig. 1).

Generalidades de MPTP y MPP⁺

El MPTP genera un modelo que ha sido ampliamente utilizado para estudiar la EP y poner a prueba estrategias protectoras. Este agente tóxico se descubrió cuando una gran cantidad de jóvenes adictos a la heroína comenzaron a presentar síntomas de Parkinson al consumir accidentalmente al MPTP, lo que se ha denominado como síndrome parkinsoniano. El cuadro parkinsoniano generado en estas personas se caracteriza por temblor, acinesia, rigidez, postura en flexión, alteración de reflejos posturales y tendencia al sigilo, y todo ello se revierte con la administración de L-DOPA o agonistas dopaminérgicos. Como resultado de los estudios realizados, se encontró que el responsable de dichos síntomas era el MPP⁺, el metabolito directamente proveniente del MPTP (6).

Ahora se sabe que el MPTP es un compuesto que atraviesa fácilmente la barrera hematoencefálica y es oxidado en las células de la glía, principalmente en astrocitos. La enzima responsable de este proceso es la monoamino-oxidasa-B (MAO-B), la cual convierte al MPTP en 1-metil-4-fenil-2,3-dihidropiridinio (MPDP⁺), que a su vez se transforma en MPP⁺ por oxidación espontánea. El MPP⁺ sale de los astrocitos y es selectivamente incorporado por las NDA a través del transportador de dopamina, ejerciendo allí su acción neurotóxica a través de la inhibición del complejo I mitocondrial (7).

Por lo anterior, el MPTP se ha utilizado para inducir una degeneración selectiva de NDA en la sustancia nigra (SN), generando así modelos de Parkinson murinos y primates por denervación de la vía nigro-estriatal. Sin embargo, una limitación inicial de este modelo es que al principio no se observaban los característicos cuerpos de Lewy, que son inclusiones de proteínas características de

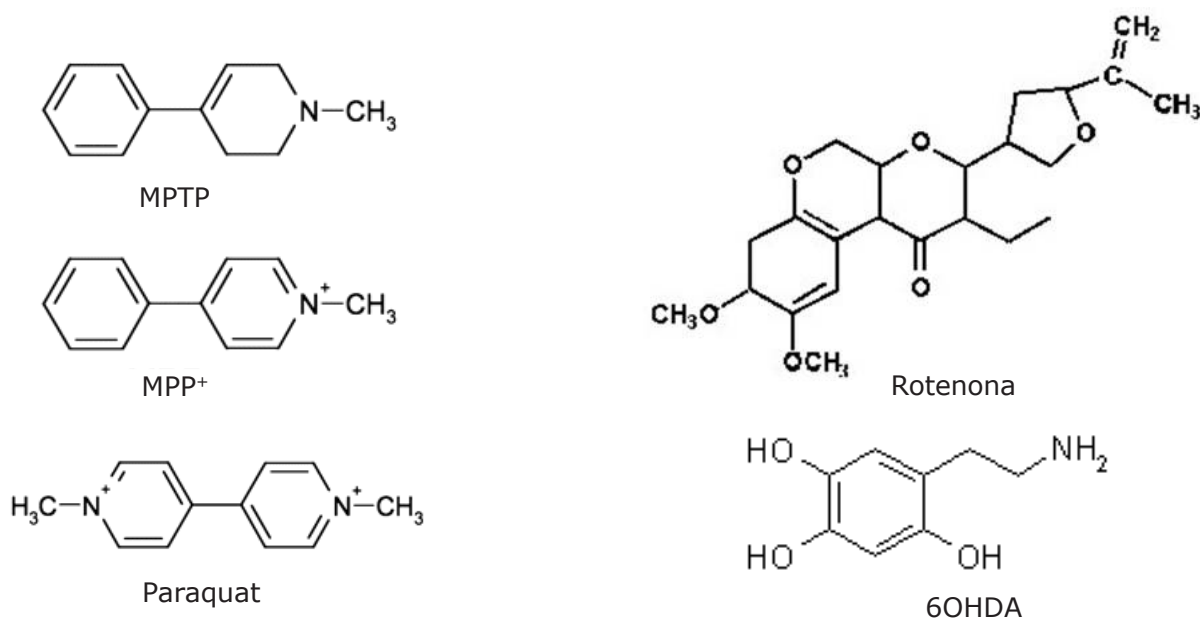


Figura 1. Estructuras químicas de los agentes neurotóxicos

la enfermedad, aunque recientemente se ha visto que la infusión continua de dosis más bajas de MPTP durante un largo período de tiempo sí logra reproducir las marcas histopatológicas de la EP.

Modelos animales con MPTP

La neurotoxicidad del MPTP ha sido demostrada en diversas especies animales, incluyendo macacos, ratones (C57 negro) y gatos (8). No existe una explicación adecuada para la diferente vulnerabilidad de las distintas especies animales al MPTP; no obstante, se ha postulado que puede estar relacionada con diferencias en el metabolismo del MPTP y la distribución y retención cerebral de su metabolito, el MPP⁺. Para algunos autores, la neurotoxicidad del MPTP es dependiente del contenido de neuromelanina, ya que la afinidad del MPP⁺ por la neuromelanina es muy alta y dicho pigmento está presente en las NDA, mientras que para otros está relacionada con la actividad de la MAO-B a nivel de los capilares cerebrales. Aunque especies animales como la rata son resistentes a la administración sistémica de MPTP, su metabolito MPP⁺ es una potente toxina que produce destrucción de las NDA de la SNpc cuando se administra directamente en el estriado. Por lo tanto, es posible que la vulnerabilidad diferencial que presentan las especies animales al MPTP sea dependiente de factores relacionados con la distribución y metabolismo cerebral de dicho agente tóxico (9).

En cuanto a las alteraciones conductuales, se ha reportado que una gran variedad de primates

no humanos desarrollan también un síndrome parkinsoniano cuando se les administra MPTP. Estos animales muestran una reducción muy importante de la actividad espontánea, rigidez, bradicinesia y temblor; muy pocos desarrollan el temblor de reposo característico de la EP. Los síntomas parkinsonianos son inicialmente transitorios, pero se hacen permanentes con la administración repetida de la toxina. Los mecanismos implicados en la recuperación espontánea que experimentan estos animales no se conocen, pero pueden estar relacionados con una modificación transitoria de otros sistemas de neurotransmisión, diferentes al nigroestriado (10).

Características histopatológicas y neuroquímicas del modelo con MPTP

Un estudio histopatológico de uno de los individuos que desarrollaron síndrome parkinsoniano tras inyectarse una droga que contenía MPTP mostró una lesión selectiva de las células dopaminérgicas de la SNpc; sin embargo, los estudios realizados en primates han demostrado que la lesión inducida por MPTP no afecta de forma exclusiva a esta población neuronal. A este respecto, diversos grupos han demostrado que en macacos adultos, la administración de MPTP induce además una degeneración de las NDA del área tegmental ventral (ATV) y del locus coeruleus, donde se han descrito cuerpos de inclusión eosinofílicos que se asemejan a los cuerpos de Lewy. La degeneración del ATV, aunque en menor grado, es evidente también en los primates

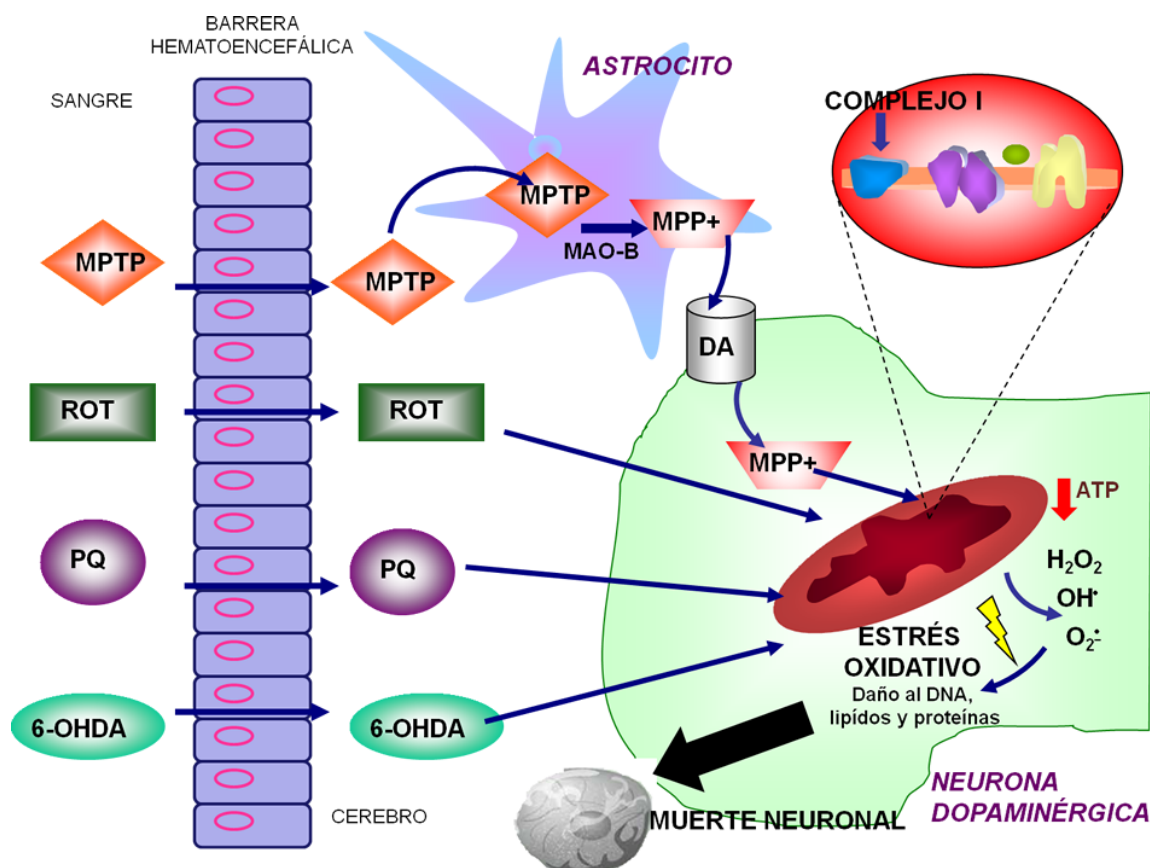


Figura 2. Efecto tóxico de los agentes neurotóxicos. Los tóxicos descritos: 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridinio (MPTP), Rotenona (ROT), paraquat (PQ), 6 hidroxidopamina (6OHDA), atraviesan la barrera hematoencefálica. El MPTP entra al astrocito donde es metabolizado por la monoamino oxidasa B, y se transforma en el 1-metil-4-fenilpiridinio (MPP^+), se libera al espacio presináptico y entra en la neurona dopaminérgica a través del transportador de dopamina y se va directamente a la mitocondria. La ROT, PQ, y 6OHDA atraviesan la membrana de las neuronas y también se dirigen a la mitocondria. Todos los tóxicos actúan inhibiendo el complejo I de la cadena respiratoria mitocondrial, lo cual aumenta la generación de especies reactivas de oxígeno, disminuye el potencial redox y por lo tanto la síntesis de ATP. La generación de especies reactivas de oxígeno induce estrés oxidativo, propiciando daño a las biomoléculas. Todo ello fomenta la muerte de las neuronas dopaminérgicas.

jóvenes aunque la pérdida neuronal es siempre de mayor intensidad en las NDA de la SNpc.

Desde el punto de vista neuroquímico también existe una gran similitud entre el parkinsonismo inducido por MPTP y la EP. La acción neurotóxica del MPTP se caracteriza, como la EP, por una reducción de la concentración de dopamina (DA) y de sus metabolitos, el ácido 3,4-dihidroxifenilacético (DOPAC) y el ácido homovanílico (HVA), así como una disminución de la actividad del enzima tirosina hidroxilasa y una alteración en la densidad de receptores dopaminérgicos. Al contrario de lo que sucede en la EP, donde la disminución de DA es más intensa en el putamen que en núcleo caudado, los primates expuestos de forma crónica a la acción del MPTP muestran una disminución homogénea y no selectiva del contenido de DA estriatal, siendo de igual intensidad en ambas estructuras estriatales.

Otras áreas cerebrales con innervación dopaminérgica como el núcleo accumbens, el hipocampo, la amígdala y la corteza cerebral, también son afectadas por MPTP y la reducción en el contenido de DA es similar a la descrita en estriado. En contraste, los niveles de DA no se alteran en estructuras como el globo pálido lateral y medial, que recibe proyecciones directas de la SNpc. Adicionalmente, las concentraciones de noradrenalina y serotonina en estriado no se modifican con la administración aguda de MPTP, aunque se reducen de forma significativa en estriado y corteza en los animales tratados de forma crónica. De igual manera, no existe evidencia de que el MPTP induzca alteraciones en los sistemas colinérgico, GABAérgico o glutamatérgico en primates, aunque los niveles de diferentes neuropéptidos y encefalina en el estriado, SN y pálido están reducidos en animales tra-

tados crónicamente, y estas mismas alteraciones han sido descritas en pacientes con EP. A pesar de que el modelo ha sido ampliamente explorado, aún no se sabe si estos cambios son consecuencia de la degeneración de neuronas que contienen estos péptidos o apenas representan cambios adaptativos a la denervación nigroestriada.

Mecanismo de acción del MPTP y del MPP⁺

Una de las hipótesis propuestas para explicar la muerte neuronal inducida por MPTP sugiere que el daño celular se origina por la producción intraneuronal de radicales superóxido y otros radicales libres altamente citotóxicos que se originan durante la oxidación intracelular del MPP⁺, en cantidades que exceden la capacidad celular para neutralizarlos.

Se ha reportado que en homogenados de cerebro de animales, el MPTP induce la producción de radicales hidroxilo y acelera el acúmulo de lipofuscina, especialmente si el medio carece de vitamina E. Por otro lado, tanto el MPTP como el MPP⁺ incrementan la autooxidación de la DA, que a su vez genera ERO y disminuye los niveles intracelulares de glutatión reducido (GSH) en roedores, efecto que es bloqueado por antioxidantes como la vitamina E (11).

Cierta evidencia que se contrapone con esta hipótesis es que la administración de ácido ascórbico, o bien de α -tocoferol, no reducen el daño dopaminérgico inducido por MPTP, mientras que la adición de potentes quelantes de metales de transición no sólo no protege contra el daño inducido por MPTP, sino que además exacerba su toxicidad.

Por otro lado, recientemente se ha demostrado que inhibidores de la óxido nítrico sintasa (ONS), protegen de forma eficaz a la lesión de NDA inducida por el MPTP en roedores y primates. La ONS es un enzima dependiente de calcio cuya activación se produce por estimulación de receptores NMDA. De su activación depende la síntesis de óxido nítrico, el cual a su vez puede producir una inhibición directa de la cadena respiratoria mitocondrial o dar lugar a la formación de peroxinitrito, de manera que el debate en cuanto a la participación del estrés oxidativo en este fenómeno sigue vigente.

Otra de las hipótesis de toxicidad del MPTP se ha centrado en los hallazgos de que el MPP⁺ es un potente inhibidor de la respiración mitocondrial. Nicklas y colaboradores a principios de los años 90 (12) fueron los primeros en describir *in vitro* que el MPP⁺ a altas concentraciones (1 mM) producía una inhibición completa de la oxidación de los sustratos piruvato/malato y glutamato/malato ligados a NAD⁺. *In vivo*, donde se requieren concentraciones mayores del agente tóxico (10 mM) para que ten-

ga lugar la inhibición de la cadena transportadora de electrones, se ha comprobado que el MPP⁺ es transportado desde el citoplasma al interior de la mitocondria en contra de un gradiente. Los efectos del MPP⁺ sobre las mitocondrias también han sido bien caracterizados: a altas concentraciones se bloquea la oxidación de NADH, existiendo una clara correlación entre el acúmulo de MPP⁺ y la disminución de ATP. Por su parte, la inhibición del transporte de electrones mitocondrial induce una disminución en la producción de ATP celular, que a su vez da lugar a una alteración en la organización de los microfilamentos celulares, provocando así una alteración de los potenciales transmembranales y una disminución de GSH, principal defensa de la célula frente al estrés oxidativo, conduciendo a las células a la apoptosis. Así mismo, la inhibición del complejo I mitocondrial genera ERO, por lo que no puede excluirse la posibilidad de que ambas hipótesis estén relacionadas (12).

ROTENONA

Otro modelo de gran interés que se ha utilizado para estudiar la EP es el de la rotenona. Este agente es un compuesto derivado de raíces de especies de plantas tropicales como *Derris* y *Lonchocarpus*, que se utilizan en todo el mundo como plaguicidas e insecticidas naturales. La rotenona es un isoflavonoide de origen vegetal y también se ha empleado tradicionalmente para controlar poblaciones de peces en lagos y reservas naturales, en donde se ha observado que fácilmente se descompone por la exposición a la luz solar. Debido a su extrema capacidad lipofílica, la rotenona atraviesa fácilmente las membranas biológicas y no depende de transportadores de membrana (13).

Este agente es también ampliamente conocido como inhibidor de la NADH deshidrogenasa, o complejo I de la cadena respiratoria mitocondrial. Dukes y colaboradores en 2005 reportaron (14) que la rotenona daña selectivamente a las NDA de animales y a cultivos celulares de experimentación, lo cual se atribuye al estrés oxidativo resultante de la generación de radicales libres como el superóxido, con la consecuente inhibición del complejo I antes mencionado. La acumulación de daño por estrés oxidativo causado por rotenona conduce a la apoptosis dependiente de caspasa-3 en las NDA.

Modelos animales con rotenona

Recientemente se ha desarrollado un modelo murino en el que la exposición a rotenona reproduce algunas de las características neuroquímicas, histopatológicas y conductuales de la EP, con degenera-

ción preferente de la zona nigroestriada, inclusión de cuerpos de Lewy y deficiencias motoras como hipocinesia, rigidez con postura encorvada y temblores en uno o más miembros (13). Este modelo ha sido reproducido por otros grupos tanto en ratas como en *Drosophila melanogaster*, aunque cabe destacar que algunos autores han puesto en duda la neurotoxicidad específica de la rotenona cuando es administrada de forma sistémica. En cualquier caso, no hay que perder de vista que en estos trabajos el modo de administración de la rotenona varía notablemente, lo cual podría explicar en gran parte las significativas diferencias observadas de un modelo a otro.

Existen algunos fármacos que se han probado como neuroprotectores en este modelo. Una propuesta ha sido la de fomentar la autofagia lisosomal. Esto pudiera ser benéfico en algunos desordenes neurodegenerativos como la EP, en los cuales existe una acumulación de agregados proteicos y un mal funcionamiento mitocondrial. Para ello, se ha usado a la rapamicina que incrementa la autofagia y se ha reportado que presenta un efecto neuroprotector contra la muerte por apoptosis inducida por rotenona (15). Otro agente neuroprotector es el ácido valpróico (VPA), un inhibidor de desacetilasas de histonas. El VPA disminuye al marcador tirosina hidroxilasa en la substantia nigra y el estriado y contrarresta la muerte de las NDA inducida por la administración de rotenona (16); el hecho de que el VPA sea un inhibidor de desacetilasas de histonas, sugiere la participación de un posible mecanismo epigenético o una regulación postrancricional de proteínas, lo cual lo hace muy interesante de ser estudiado.

PARAQUAT

El paraquat (1,1-dimetil-4,4-dipiridinio o PQ) se produjo por primera vez con fines comerciales en 1961 y es un compuesto utilizado ampliamente como herbicida cuaternario de amonio, principalmente para el control del pasto y la maleza. Este agente es altamente venenoso para los humanos si es ingerido. Otros miembros de esta clase incluyen al diquat, al ciperquat, etc., y todos son reducidos a un ión radical, lo que genera radicales superóxido que reaccionan rápidamente con membranas lipídicas insaturadas. Actualmente todavía es uno de los herbicidas más utilizados alrededor del mundo, aun cuando existe una gran cantidad de reportes que lo relacionan con la EP. Por ejemplo, en Taiwán se reportó que el riesgo de contraer la EP en agricultores fue mayor entre aquellos que aplicaron PQ y otros plaguicidas que en aquellos que usaron varios plaguicidas, pero no

PQ. En Canadá se encontró que la exposición al PQ estuvo asociada con la EP (17); mientras que un estudio reciente de una población del este de Texas reveló un elevado riesgo de contraer EP por la exposición a plaguicidas orgánicos tales como la rotenona y el PQ (18).

Diversos estudios han demostrado que el PQ induce algunos síntomas de la EP en animales de experimentación. Su administración, mediante inyecciones directas en el cerebro, daña principalmente NDA en la SNpc. La estructura química del PQ es similar a la de la neurotoxina dopaminérgica MPP⁺, por lo que también pertenece a la clase de compuestos capaces de inducir daño mitocondrial, aumentando la producción de ERO y generado estrés oxidativo.

Por otro lado, ahora se sabe que la generación de ERO inducida por PQ activa a la cinasa ASK1 y consecuentemente a las MAP cinasas JNK y p38 (19). Por lo que recientemente se ha propuesto la existencia otro evento importante en el mecanismo de acción de PQ, que no se encuentra directamente relacionado con la inhibición del complejo I mitocondrial y que es la inducción de ASK1 vía el sistema de xantina/xantina oxidasa. De modo que se ha considerado la posibilidad de usar a ASK1 como blanco terapéutico para prevenir la neurodegeneración en la EP. Para ello se han empleado antioxidantes como la vitamina E y tratando de activar al factor de transcripción Nrf-2 que induce enzimas antioxidantes, en este caso se ha estudiado el aumento de la tiorredoxina (Trx). Tanto la vitamina E como la Trx bloquean el efecto de PQ sobre ASK1 y la inducción de p38 y JNK protegiendo contra algunos de los efectos deletéreos de la EP (20).

6-OHDA (6-Hidroxidopamina)

La 6-OHDA es la neurotoxina que más se utiliza en el desarrollo de modelos experimentales de EP en roedores. Cuando es administrada por vía sistémica se ha observado que destruye las neuronas adrenérgicas de los ganglios simpáticos, pero carece de acción tóxica a nivel del sistema nervioso central. En contraste, la inyección intracerebral de 6-OHDA produce una destrucción selectiva de neuronas catecolaminérgicas y esta especificidad es debida a su alta afinidad por el sistema de transporte de catecolaminas. Ungersted, en 1968, (21) estableció por primera vez que la inyección estereotáxica de 6-OHDA a animales en el haz nigroestriado inducía una lesión selectiva de las NDA. Aunque existen estudios que demuestran que la 6-OHDA posee una potente acción inhibidora de la cadena respiratoria mitocondrial, la muerte de

NDA inducida por esta toxina está ligada fundamentalmente a la formación de H_2O_2 y radicales libres como el radical hidroxilo o algunas quinonas que se producen durante su eliminación (22). Así, se ha encontrado que sustancias antioxidantes como la vitamina E, la N-acetil-cisteína, o inhibidores de la MAO y quelantes de hierro como la desferroxamina, protegen a las NDA de la acción neurotóxica de la 6-OHDA.

Las alteraciones neuroquímicas producidas por la 6-OHDA en el estriado se caracterizan por un descenso muy importante de los niveles de DA, serotonina, encefalina y sustancia P, mientras que los niveles estriatales de neurotensina aumentan. Desde el punto de vista histológico, en general la lesión de sistema nervioso inducida por 6-OHDA es más extensa que la que se da en los pacientes parkinsonianos, en los que algunas neuronas se salvan de la muerte. Por ello, algunos autores han propuesto utilizar la inyección de 6-OHDA directamente en la SNpc como modelo de EP, evitando de esta manera la afectación de las NDA del área (23). Desde el punto de vista conductual, los animales con lesión unilateral de la SNpc inducida por inyección directa en el haz nigroestriado, o en la SNpc, presentan, inmediatamente después de la cirugía y de forma espontánea, una conducta rotatoria ipsilateral a la lesión que se mantiene durante las 24 horas siguientes. Esta conducta rotatoria es debida al desequilibrio que existe entre el contenido de DA en el estriado homolateral y contralateral a la lesión dopaminérgica, de tal forma que el animal tiende a rotar siempre hacia el lado contralateral al estriado dominante. La lesión unilateral de la SNpc induce cambios neuroquímicos y electrofisiológicos en el sistema nigroestriado que intentan compensar el déficit de DA inducido por la pérdida de NDA. Por ejemplo, se ha descrito una inducción y activación de tirosina hidroxilasa (enzima limitante de la síntesis de catecolaminas) en las NDA todavía funcionales, así como un aumento en la cantidad de DA liberada en el estriado por las terminales dopaminérgicas existentes y un incremento en el número de receptores dopaminérgicos estriatales postsinápticos. Este incremento aparece únicamente cuando la pérdida de NDA es superior al 90 % y tiene lugar al cabo de cuatro semanas de haberse producido la denervación dopaminérgica. En general, la mayoría de los trabajos publicados demuestran que el fenómeno de hipersensibilidad por denervación, o "up-regulation", afecta preferentemente a los receptores dopaminérgicos estriatales D_2 mientras que el número de receptores D_1 incrementa levemente o no se modifica. Sin embargo, aunque algunos cambios neuroquímicos son ya evidentes con lesiones dopaminérgicas

parciales, la actividad de las NDA de la SNpc únicamente incrementa cuando la disminución de la DA estriatal es superior al 96 %. En estos casos, la frecuencia de descarga de las NDA de la SNpc se incrementa, pero no es suficiente para compensar el déficit de DA.

Los animales con lesión unilateral de la vía nigroestriada presentan una rotación ipsilateral a la lesión cuando se les administran sustancias que aumentan la liberación de DA, tales como la amfetamina y muestran una rotación contralateral al lado de la lesión cuando reciben agonistas dopaminérgicos como la apomorfina. Esta rotación se relaciona con el incremento del número de receptores dopaminérgicos que existe en el estriado homolateral a la lesión como consecuencia de la denervación (24). Por el contrario, la amfetamina, al incrementar la liberación de DA en las terminales presinápticas, aumenta la concentración de este neurotransmisor únicamente en estriado contralateral a la lesión, produciéndose un desequilibrio funcional a favor del estriado contralateral. La administración de 6-OHDA en la SNpc o en el haz nigroestriado, induce una degeneración estática, rápida y casi completa de las NDA de la SNpc. Esta degeneración difiere sustancialmente de la que ocurre en la EP, en la que hipotéticamente la pérdida neuronal es lenta y progresiva. Por ello, en los últimos años este modelo está siendo utilizado como una forma rápida y eficaz de degeneración neuronal dopaminérgica. En contraste, la inyección estriatal única de 6-OHDA (20 μ g), o en infusión continua, produce una atrofia y degeneración lenta y progresiva de las NDA de la SN homolateral. En este caso, la degeneración neuronal no parece ser debida a un transporte axonal retrógrado de la neurotoxina desde el estriado hacia las NDA nigrales, sino que corresponde a una degeneración neuronal retrógrada secundaria a la lesión de terminales dopaminérgicas nigroestriadas. Este modelo resulta muy interesante por varias razones: en primer lugar representaría un modelo de EP en un estadio inicial de la enfermedad, ya que la pérdida neuronal que se obtiene oscila entre un 60-70 %; por otro lado, permite obtener una lesión parcial nigroestriada y por tanto puede ser el modelo ideal a utilizar para el estudio del efecto neuroprotector de determinadas sustancias; por último, el hecho de que la inyección estriatal de 6-OHDA induzca una degeneración progresiva de las NDA de la SNpc apunta hacia la posibilidad de que en la EP la degeneración primaria ocurra a nivel de las terminales dopaminérgicas estriatales y secundariamente exista una degeneración retrógrada de las NDA de la SNpc. Esta hipótesis es apoyada por el hecho de que neurotoxinas dopaminérgicas

como la 6-OHDA y el MPTP, cuando se administran por vía sistémica o intracerebroventricular, resultan más tóxicas sobre las terminales dopaminérgicas que sobre el mismo soma neuronal (4)

PARTICIPACIÓN DE LA MITOCONDRIA EN LA EP: PAPEL DE PINK1 Y PARKINA

Como se ha visto a lo largo de esta revisión, la mayoría de los modelos descritos se relacionan con la inhibición del complejo I mitocondrial y la generación de estrés oxidativo, por lo que queda claro que estos factores, mitocondria y estrés oxidativo, juegan un papel importante durante el establecimiento de la EP. Al respecto existen una gran cantidad de estudios, pero aquí nos enfocaremos solamente a mencionar algunos de los hallazgos más recientes.

La mitocondria es el organelo encargado de oxidar a la glucosa para producir energía en forma de ATP. Para ello utiliza al oxígeno que respiramos y produce H₂O metabólica. No obstante, se sabe que del 0.1 al 0.5 del oxígeno consumido no genera agua, sino que se fuga en forma de radicales libres, en particular radical superóxido. Es claro que si la mitocondria está dañada, la generación de ERO puede aumentar considerablemente.

Se ha establecido que la mutación en una enzima mitocondrial llamada cinasa 1 inducida por PTEN (del inglés PTEN-induced kinase-1 o PINK1), reproduce un estadio parecido a la EP, con una función mitocondrial alterada (25). PINK1 es una proteína que se encuentra anclada en la membrana externa mitocondrial, exponiendo su dominio de cinasa hacia el citosol. Se ha mencionado que PINK1 tiene una función importante en la regulación del control de calidad y el deshecho de las mitocondrias defectuosas, vía macro-autofagia (26). PINK1 se acumula rápidamente (en minutos) en las mitocondrias que han perdido el potencial electroquímico, ya sea como respuesta a diversos agentes tóxicos o durante el envejecimiento. De esta manera, las células deficientes en PINK1 son incapaces de deshacerse de las mitocondrias dañadas o inservibles y tienden a acumularlas. Cuando esto sucede, permanecen en la célula mitocondrias que, además de ser deficientes en la producción de ATP, tienen aumentado su nivel de generación de ERO. Por el contrario, una sobre-expresión de PINK1 promueve la pérdida de mitocondrias sanas.

Por otro lado, también existe un reciente cúmulo de estudios sobre la parkina. Se sabe que el gen que codifica para esta proteína está mutado en la forma hereditaria de la EP. La parkina es una ubiquitina ligasa que marca sustratos para

su degradación vía proteosoma. Esta proteína se encuentra en el citosol, pero se transloca a la mitocondria cuando las células se tratan con agentes despolarizantes. También se ha reportado que las células que carecen de parkina son incapaces de deshacerse de las mitocondrias defectuosas. En este punto resulta interesante mencionar que el reclutamiento de la parkina a las mitocondrias despolarizadas depende de la presencia de PINK1, aunque no se ha encontrado que exista una interacción directa entre estas proteínas, ya que la parkina no se fosforila por la acción de PINK1 y a su vez, PINK1 tampoco se ubiquitina por acción de la parkina, por lo que este mecanismo aún queda por resolverse (25).

Otro punto interesante que también queda por estudiar, es cómo la parkina desencadena el evento de macro-autofagia. Se sabe que dicho evento es regulado negativamente por una cascada de señalización que involucra a PI3K/AKT y a la cinasa TOR, ya que la inhibición farmacológica de TOR, usando rapamicina, logró suprimir los efectos de parkina y PINK1 en *Drosophila*, sin embargo, el papel exacto que juegan estas moléculas aún se desconoce.

CONCLUSIONES

En resumen, los modelos neurotóxicos analizados en esta revisión apuntan hacia un daño mitocondrial como un factor importante durante el establecimiento de la EP, por lo que el estudio de este organelo y el papel de las proteínas antes mencionadas en la alteración de su función, seguirá siendo un tema prioritario a desarrollarse en los próximos años. Mientras tanto, la visión obtenida hasta ahora por los trabajos realizados a nivel experimental dan pauta para el desarrollo de estrategias terapéuticas orientadas a la prevención de la pérdida del metabolismo energético en el sistema nervioso, así como a la prevención de los efectos deletéreos provocados por el estrés oxidativo y la posible recuperación del tejido nervioso dañado a través de terapias de implantación de células indiferenciadas o con señales para diferenciarse en neuronas. En todo caso, los avances en la investigación bioquímica y molecular abrirán, en los próximos años, importantes y novedosas líneas sobre las alteraciones que se estén llevando a cabo a nivel mecanístico en los modelos para la EP, con las consecuentes implicaciones terapéuticas mayores.

Agradecimientos. Este trabajo fue apoyado por el CONACYT con el número del proyecto CB-2006-1-59659. A. Alarcón Aguilar es becaria de CONACYT para estudios de Posgrado. 

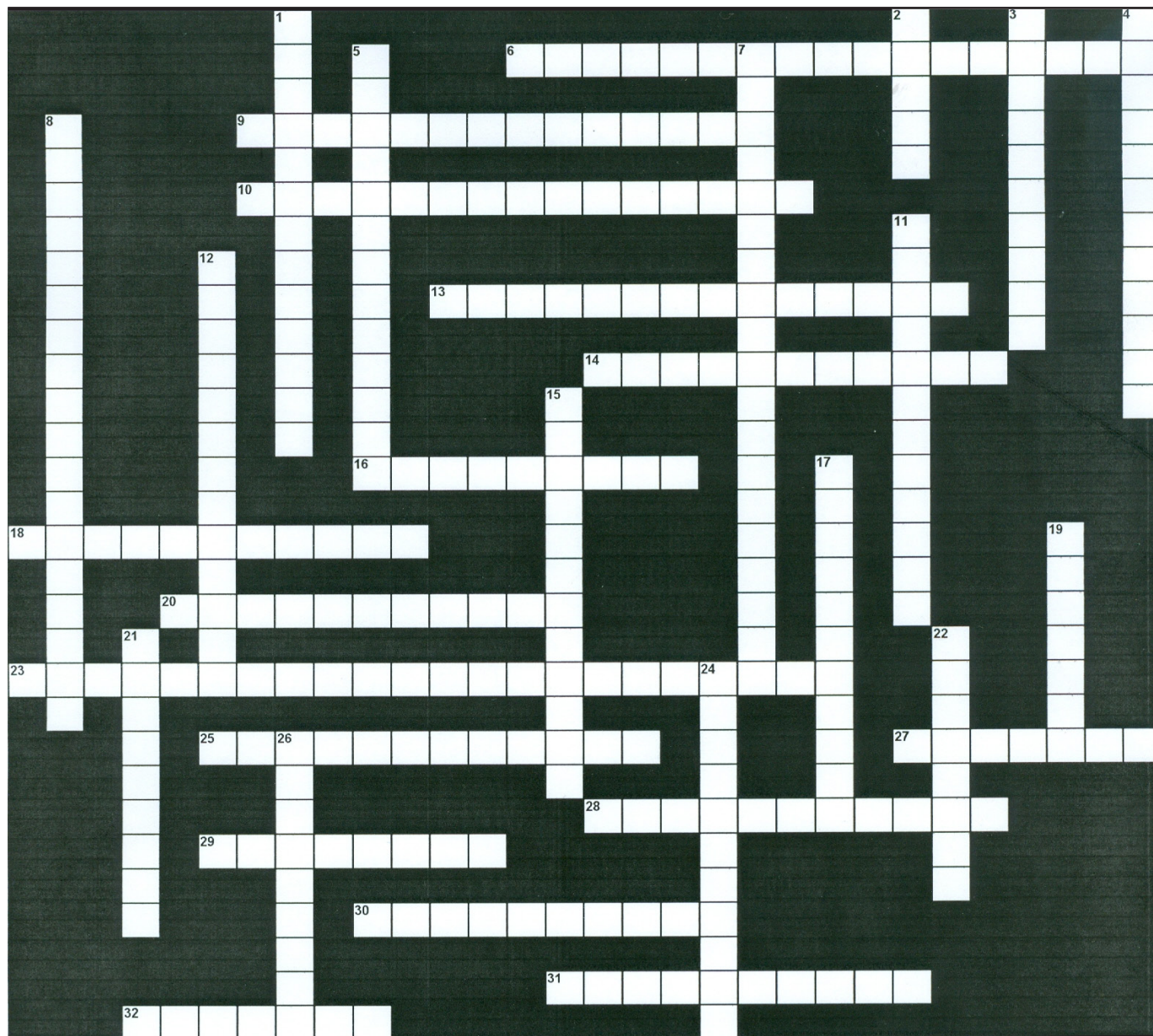
REFERENCIAS

1. Schapira AH, Olanow AW (2004) Neuroprotection in Parkinson disease: mysteries, myths, and misconceptions. *JAMA* 291:358-364.
2. Eriksen JL, Wszolek Z, Petrucelli L (2009) Molecular Pathogenesis of Parkinson Disease. *Arch Neurol* 62:353-357.
3. Lim SY, Fox SH, Lang AE (2009) Overview of the extranigral aspects of Parkinson disease. *Arch Neurol* 66:167-172.
4. Dauer W, Przedborski S (2003) Parkinson's disease: mechanisms and models. *Neuron* 39: 889-909.
5. Aron L, Klein P, Pham TT, Kramer ER, Wurst W, Klein R (2010) Pro-survival role for Parkinson's associated gene DJ-1 revealed in trophically impaired dopaminergic neurons. *Plos Biol* 8:1000349.
6. Chio JS, Park C, Jeong JW (2009) AMP-activated protein kinase is activated in Parkinson's disease models mediated by 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine. *Biochem Biophys Res Commun* 391:147-151.
7. Przedborski S, Vila M (2003) The 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine mouse model: a tool to explore the pathogenesis of Parkinson's disease. *Ann N Y Acad Sci* 991:189-198.
8. Blesa J, Juri C, Collantes M, Peñuelas I, Prieto E, Iglesias E, Martí-Climent J, Arbizu J, Zubieta JL, Rodríguez-Oroz MC, García-García D, Richter JA, Cavada C, Obeso JA. (2010) Progression of dopaminergic depletion in a model of MPTP-induced Parkinsonism in non-human primates. An (18)F-DOPA and (11)C-DTBZ PET study. *Neurobiol Dis*. [Epub ahead of print] doi:10.1016/j.nbd.2010.03.006
9. Schildknecht S, Pörtl D, Nagel DM, Matt F, Scholz D, Lotharius J, Schmieg N, Salvio-Vargas A, Leist M. (2009) Requirement of a dopaminergic neuronal phenotype for toxicity of low concentrations of 1-methyl-4-phenylpyridinium to human cells. *Toxicol Appl Pharmacol* 241:23-35.
10. Pothakos K, Kurz MJ, Lau YS (2009) Restorative effect of endurance exercise on behavioral deficits in the chronic mouse model of Parkinson's disease with severe neurodegeneration. *BMC Neurosci* 10:16.
11. Zhang X, Zhou JY, Chin MH, Schepmoes AA, Petyuk VA, Weitz KK, Petritis BO, Monroe ME, Camp DG, Wood SA, Melega WP, Bigelow DJ, Smith DJ, Qian WJ, Smith RD (2010) Region-specific protein abundance changes in the brain of MPTP-induced Parkinson's disease mouse model. *J Proteome Res* 9:1496-1509.
12. Nicklas WJ, Saporito M, Basma A, Geller HM, Heikkilä RE (1992) Mitochondrial mechanisms of neurotoxicity *Ann N Y Acad Sci* 648:28-36.
13. Betarbet R, Sherer TB, MacKenzie G, Garcia-Osuna M, Panov AV, Greenamyre JT (2000) Chronic systemic pesticide exposure reproduces features of Parkinson's disease. *Nat Neurosci* 3:1301-1306.
14. Dukes AA, Korwek KM, Hastings TG (2005) The effect of endogenous dopamine in rotenone-induced toxicity in PC12 cells. *Antioxid Redox Signal* 7:630-638.
15. Pan T, Rawal P, Wu Y, Xie W, Jankovic J, Le W (2009) Rapamycin protects against rotenone-induced apoptosis through autophagy induction. *Neuroscience* 164:541-551.
16. Monti B, Gatta V, Piretti F, Raffaelli SS, Virgili M, Contestabile A (2010) Valproic acid is neuroprotective in the rotenone rat model of Parkinson's disease: involvement of alpha-synuclein. *Neurotox Res* 17:130-141.
17. Hertzmann C, Wiens M, Bowering D, Snow B, Calne D (1990) Parkinson's disease: a case control study of occupational and environmental risk factors. *Am J Ind Med* 17:349-355.
18. Dhillon AS, Tarbutton GL, Levin JL, Plotkin GM, Lowry LK, Nalbome JT, Shepherd S (2008) Pesticide/environmental exposures and Parkinson's disease in East Texas. *J Agromedicine* 13:37-48.
19. Hattori K, Naguro I, Runchel C, Ichijo H (2009) The roles of ASK family proteins in stress responses and diseases. *Cell Commun Signaling* 7:9.
20. Niso-Santano M, González-Polo RA, Bravo-San Pedro JM, Gómez-Sánchez R, Lastres-Becker I, Ortiz-Ortiz MA, Soler G, Morán JM, Cuadrado A, Fuentes JM. (2010) Activation of apoptosis signal-regulating kinase 1 is a key factor in paraquat-induced cell death: Modulation by the Nrf2/Trx axis. *Free Radic Biol Med* 48:1370-1381.
21. Ungerstedt U. (1968) 6-Hydroxy-dopamine induced degeneration of central monoamine neurons. *Eur J Pharmacol* 5:107-110.
22. Przedborski S, Ischiropoulos H (2005) Reactive oxygen and nitrogen species: weapons of neuronal destruction in models of Parkinson's disease. *Antioxid Redox Signal* 7:685-693.
23. Alvarez-Fischer D, Henze C, Strenzke C, Westrich J, Ferger B, Höglinger GU, Oertel WH, Hartmann A (2008) Characterization of the striatal 6-OHDA model of Parkinson's disease in wild type and a-synuclein-deleted mice. *Exp Neurol* 210:182-193.
24. O'Keeffe G, Barker RA, Caldwell MA (2009) Dopaminergic modulation of neurogenesis in the subventricular zone of the adult brain. *Cell Cycle* 15:2888-2894.
25. Abeliovich A (2010) Parkinson's disease Mitochondrial damage control. *Nature* 463:744-745.
26. Narendra DP, Jin SM, Tanaka A, Suen DF, Gautier CA, Shen J, Cookson MR, Youle RJ (2010) PINK1 is selectively stabilized on impaired mitochondria to activate Parkin. *PLoS Biol* 8:e1000298.

CRUCIBIOQ

ENZIMAS: ISOMERASAS

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



HORIZONTALES

6 Los eritrocitos sintetizan y degradan al gliceralo que posee dos fosfatos, la _____ mutasa, cambia al grupo fosfato de la posición 1 a la

posición 2; esta última molécula se une a la desoxihemoglobina y altera la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno.

9 Son las enzimas que aumentan o disminuyen el nivel de superenrollamiento del ADN, estas enzimas cortan ya sea una o las dos hebras de ADN permitiendo que la molécula del sustrato

rote alrededor del enlace fosfodiéster y con ello se posibilita la replicación y el empaquetamiento del ADN.

- 10** Proceso espontáneo mediante el cual la forma enol del ácido pirúvico se convierte en su isómero ceto que es el más estable.
- 13** Isomería que presentan algunas moléculas, tienen las formas D- y L- y son imágenes especulares una de la otra, dado que recuerdan a las manos izquierda y derecha reciben el nombre de moléculas quirales; en los sistemas biológicos estas isomerías la realizan las racemasas.
- 14** La _____ isomerasa convierte a la aldosa que tiene los oxhidrilos de los carbonos 2 y 3 a la izquierda y que es un componente común de las glucoproteínas en fructosa 6-fosfato, mediante la participación de un enediol intermedio.
- 16** Hidratasa que cataliza la isomerización estereoespecífica en el ciclo de Krebs, de citrato a isocitrato a través de un intermediario.
- 18** Los de la familia L- forman parte de las proteínas, algunos isómeros de la familia D- como la D-alanina y el D-glutamato forman parte de los peptidoglucanos que constituyen la pared celular de las bacterias.
- 20** Enfermedad ocasionada por un error innato del metabolismo debido a un déficit de las enzimas fumaril-acetoacetato hidrolasa y maleil-acetoacetato isomerasa participantes de la degradación de la tirosina y que ocasionan en el neonato, daño hepatorenal, con un cuadro clínico de letargia, dificultad al tragar, ictericia prolongada y un aumento de los niveles de galactosa, fenilalanina e histidina.
- 23** Sustrato de 5 átomos de carbono y un pirofosfato, participa en la vía de síntesis del colesterol, por acción de la enzima específica se isomeriza en dimetililpirofosfato, las dos moléculas darán lugar al geranilpirofosfato.
- 25** Este proceso se realiza en las reacciones en las que se producen mezclas de isómeros D y L de aminoácidos, catalizados por las racemasas específicas por ejemplo, la que transforma a la D-alanina en L-alanina y viceversa.
- 27** Son las enzimas que catalizan la transferencia de un grupo funcional de una a otra posición en la misma molécula.
- 28** La enzima _____ 1-fosfato sintasa (EC 5.5.1.4) llamada también cicloaldolasa, cataliza la formación de inositol-1-fosfato a partir de glucosa-6-fosfato en presencia de NAD⁺.
- 29** Son los estereoisómeros que tienen una misma composición química y que su configuración difiere en solo un centro asimétrico.

- 30** Tipo de isomería que transforma algunos sustratos de la forma *cis* a la *trans*, por ejemplo el ácido fumárico (forma *trans*) participa en el ciclo de Krebs y su isómero el ácido maleico (forma *cis*) es inhibidor de las reacciones de transaminación.
- 31** Grupo de enzimas que transforman ciertas sustancias en otras que tienen la misma fórmula empírica pero con distinta estructura, catalizan diversas reacciones y propician interconversiones de isomería óptica, geométrica, funcional y de posición entre otras.
- 32** La UDP- _____ 4-epimerasa es la enzima que convierte a la UDP-galactosa en el producto correspondiente; esta reacción se lleva a cabo en dos pasos: los hidrógenos del carbono 4 de la galactosa son captados por NAD⁺ y se forma un grupo ceto, posteriormente el NADH + H⁺ se desprende de los hidrógenos, los que regresan al carbono 4 del producto.

VERTICALES

- 1** La _____ isomerasa (EC 5.3.1.1) es una enzima reversible, en la vía glucolítica es la que se dedica a transformar a la dihidroxiacetona-fosfato en gliceraldehído-3-fosfato.
- 2** Número que en la Clasificación Internacional de las Enzimas tienen todas las isomerases.
- 3** Metabolito que se forma a partir de la prostaglandina H₂ por la acción de una sintasa; este metabolito es un vasoconstrictor y estimulante de la agregación plaquetaria.
- 4** La _____ isomerasa es la enzima que en la vía de las pentosas fosfato, convierte a la ribulosa 5-fosfato en ribosa 5-fosfato, isomerizando una cetosa a aldosa.
- 5** La _____ sintasa (EC 5.3.99.4) se encuentra en las células del endotelio vascular cataliza la síntesis de PGI₂ un vasodilatador e inhibidor de la agregación plaquetaria.
- 7** Clasificada con el número EC 5.3.1.9, esta enzima participa en la vía glucolítica y está dedicada a transformar a la glucosa-6-fosfato en fructosa-6-fosfato y viceversa.
- 8** Enzima de la vía glucolítica, ante su sustrato -de 3 átomos de carbono- cambia la posición del grupo fosfato del extremo al carbono 2, mediante un proceso de adición-eliminación de un segundo grupo fosfato.
- 11** Estas enzimas isomerizan los enlaces peptídicos desde el estado *trans* al *cis*, lo que facilita

el plegamiento de las proteínas; la forma A de esta enzima en humano es citosólica y cuando está unida a ciclosporina A inhibe a la fosfatasa dependiente de calcio/calmodulina-calcineurina mientras que la forma D que es mitocondrial, participa en la permeabilidad de ésta.

- 12** En este tipo de reacciones se realizan intercambios intramoleculares, una muy representativa es la interconversión aldosa-cetosa.
- 15** Tanto en la vía catabólica de los ácidos grasos de número impar como en la oxidación de la metionina, valina e isoleucina la _____ CoA mutasa, cataliza la reacción en la que a partir del sustrato del mismo nombre, se forma succinil CoA, metabolito que se incorpora a la ruta oxidativa del ciclo de Krebs.
- 17** Son una familia de compuestos que se producen en las células vegetales; la estructura inicial se cicliza por la acción de una isomerasa, sintetizándose la flavona, que por posteriores modificaciones y adiciones de grupos funcionales da lugar a diversos compuestos; una función importante de estas estructuras es que son resistentes a la fotooxidación de la luz ultravioleta, su ingesta en el humano ofrece una actividad antioxidante.
- 19** Moléculas que catalizan las reacciones químicas, no afectan el equilibrio de la reacción, pero si modifican su velocidad.
- 21** La ausencia de la UDP-galactosa _____ que convierte al sustrato proveniente de la dieta láctea, en UDP-glucosa, es responsable de la galactosemia, una enfermedad genética.
- 22** En la fase no oxidativa de la vía de pentosas fosfatos, la _____ 5-fosfato epimerasa, convierte a la ribulosa 5-fosfato en xilulosa 5-fosfato.
- 24** La glucosa-6-fosfato es una aldosa y la fructosa-6-fosfato una cetosa, estas dos moléculas se interconvierten -con participación de un enediol interno- por la acción de la fosfoglucoisomerasa; debido a los grupos carbonilo que poseen los reactantes son isómeros _____.
- 26** Los aminoácidos aromáticos tienen una vía común de síntesis, en donde el _____ es una molécula de encrucijada para iniciar la síntesis de triptófano por un lado y fenilalanina y tirosina por el otro, en esta ruta la primera reacción es catalizada por una mutasa y da lugar al prefenato.

INFORME DE ACTIVIDADES REALIZADAS DURANTE EL XVIII CONGRESO DE LA ASOCIACIÓN MEXICANA DE PROFESORES DE BIOQUÍMICA, A. C. REALIZADO LOS DÍAS 5 Y 6 DE AGOSTO DEL 2010

El XVIII Congreso de la Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica A. C. se llevó a cabo los días 5 Y 6 de Agosto del 2010. La sede del Congreso fue el aula magna "JACINTO PALLARES" de la Facultad de Derecho de la Universidad Nacional Autónoma de México.

El día 5 de agosto de llevaron a cabo las siguientes actividades:

SIMPOSIO SÍNDROME METABÓLICO en el que se presentaron los siguientes trabajos:

SÍNDROME METABÓLICO: ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS por el Dr. Marco Antonio Juárez Oropeza del Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, UNAM.

SÍNDROME METABÓLICO: ASPECTOS CLÍNICOS Y ENDÓCRINOS impartido por el. Médico Cirujano Aldo Ferreira Hermosillo, Servicio de Endocrinología del Centro Médico Nacional Siglo XXI.

SÍNDROME METABÓLICO: ASPECTOS CARDIOVASCULARES por el Médico Cirujano Leobardo Valle Molina. Servicio de Cardiología. Hospital Juárez, SSA. México.

ASPECTOS NUTRIMENTALES DE SÍNDROME METABÓLICO por el M. en C. José Luis Galván Barahona, Departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina, UNAM.

EL MODELO EXPERIMENTAL Y LA TERAPÉUTICA por la Dra. Patricia Victoria Torres Durán, Departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina, UNAM.

CONFERENCIA: CINASAS DE SUPERVIVENCIA ERK1/2 EN LA CARDIO-PROTECCIÓN CONFERIDA POR EL POST-ACONDICIONAMIENTO EN CORAZONES CON HIPERTROFIA Y FALLA CARDIACA, impartida por la Dra Cecilia Zazueta, Instituto Nacional de Cardiología "Ignacio Chávez".

TRABAJOS CORTOS ORALES. Se realizaron dos sesiones en las que se presentaron 12 trabajos orales.

El día 6 de Agosto se llevaron a cabo las siguientes actividades:

CONFERENCIA: LA IMPORTANCIA DE LAS ESTRATEGIAS DE INTEGRACIÓN PARA EL APRENDIZAJE por la Dra. Sara Morales López, Área de Investigación en Educación Médica, Facultad de Medicina, UNAM.

CONFERENCIA: TRANSFERENCIA DEL CONOCIMIENTO BIOQUÍMICO por el Dr. José Rogelio Lozano Sánchez, Departamento de Desarrollo Académico, Facultad de Medicina UNAM.

TRABAJOS CORTOS ORALES Y CARTELES. Al igual que el día anterior, hubo dos sesiones de presentación de trabajos orales y una sesión de carteles, en total se presentaron 13 trabajos. En total en el congreso se presentaron 25 trabajos.

Al Congreso se inscribieron 41 personas cuya procedencia se detalla a continuación:

Universidad Nacional Autónoma de México, campus Ciudad Universitaria	17
FES Cuautitlán, UNAM	4
UAM Xochimilco	6
Universidad Benito Juárez de Oaxaca	7
Universidad del Papaloapan, Oaxaca	1
Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo	1
Universidad Autónoma de Tamaulipas	1
Universidad Autónoma de Nuevo León	3
Universidad Autónoma de Cd. Juárez	1

Durante la Sesión de Negocios de la Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, A. C., que se llevó a cabo durante el Congreso, se transfirió el nombramiento de Presidente a la Dra. Sara Morales López, que fuera elegida por el Consejo Consultivo a raíz de la ausencia del Dr. Carlos Josué Solórzano, quien dejó el país por haber conseguido una beca de estudio en el extranjero.

La Dra. María Esther Revuelta, que en el XVII Congreso de la Asociación resultó electa para

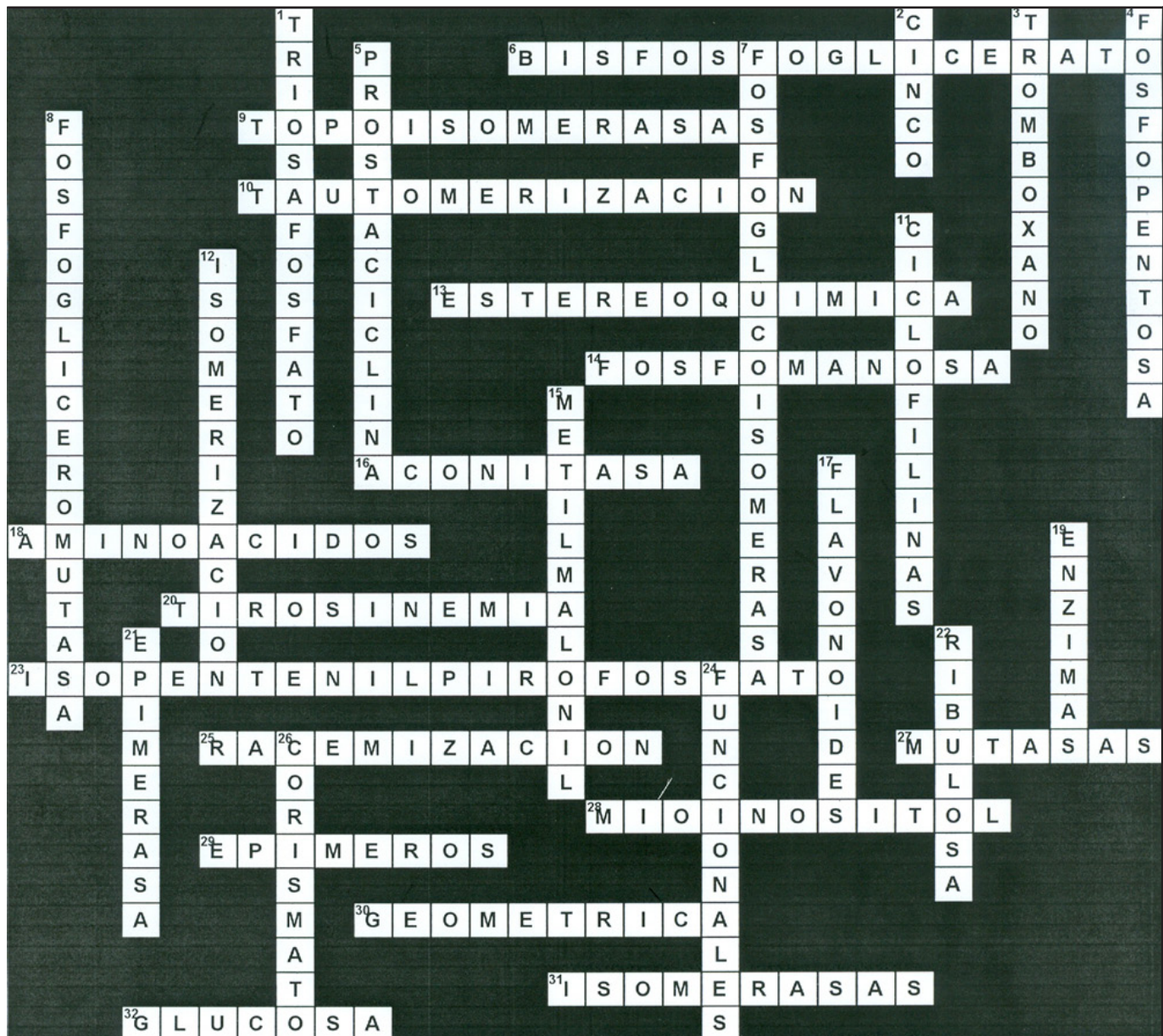
hacer equipo con el Dr. Solórzano, cubrirá sus funciones como Secretaria Tesorera a partir del presente Congreso ahora con la Dra. Sara Morales como Presidenta. En la misma sesión se acordó que en el año de 2011 tendrá lugar la elección de Vicepresidente y de Secretario-Tesorero adjunto.

Leonor Fernández Rivera-Río,
Presidente

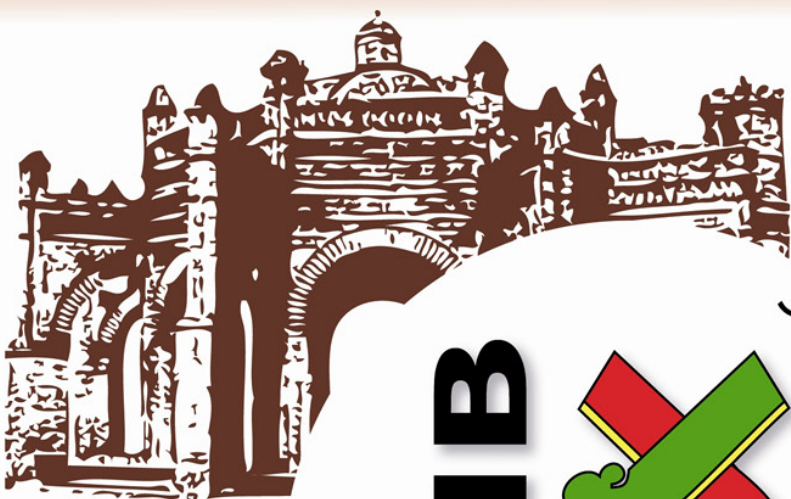
SOLUCIÓN AL CRUCIBIOQ

ENZIMAS: ISOMERASAS

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



S O C I E D A D M E X I C A N A D E B I O Q U Í M I C A • A C



XXVIII

Congreso

7 • 12 de noviembre • 2010

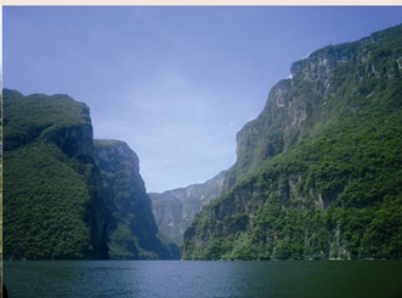
Tuxtla Gutiérrez • Chiapas

SMB



Sociedad Mexicana de Bioquímica





TUXTLA GUTIÉRREZ • CHIAPAS • 2010

<http://www.smb.org.mx/>
smbq@ifc.unam.mx



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

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

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

I. ARTÍCULOS DE REVISIÓN

- 1) Portada. En el primer párrafo incluir el título, el cual debe de ser claro, simple, atractivo y evitar las abreviaturas o, en su caso, definirlos 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.