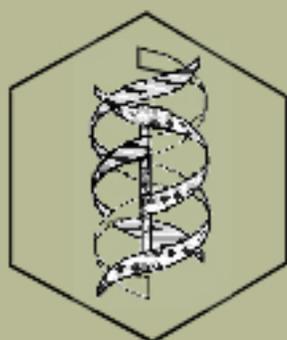


REB 2015

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. 34

No. 2

JUNIO 2015

COMITÉ EDITORIAL

EDITOR EN JEFE

JOSÉ VÍCTOR CALDERÓN SALINAS

Departamento de Bioquímica
Centro de Investigación y de Estudios Avanzados

EDITORES

RAFAEL CAMACHO CARRANZA

Instituto de Investigaciones Biomédicas
Departamento de Medicina, Genómica y Toxicología Ambiental
Universidad Nacional Autónoma de México

ALICIA GAMBOA DE BUEN

Instituto de Ecología
Universidad Nacional Autónoma de México

MARCO ANTONIO JUÁREZ OROPEZA

Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

MARÍA ESTHER REVUELTA MIRANDA

Sección Bioquímica y Farmacología Humana
Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán

ROCÍO SALCEDA SACANELLES

Instituto de Fisiología Celular
Universidad Nacional Autónoma de México

YOLANDA SALDAÑA BALMORI

Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

KARLA GUADALUPE CARVAJAL AGUILERA

Instituto Nacional de Pediatría

VÍCTOR M. VALDES LÓPEZ

Facultad de Ciencias
Universidad Nacional Autónoma de México

ÁNGEL ZARAIN HERZBERG

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

ALEJANDRO MARTÍNEZ MARTÍNEZ

Instituto de Ciencias Biomédicas
Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, Chihuahua

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) La REB es una revista dedicada a la divulgación, difusión, discusión, análisis y presentación de resultados derivados de investigaciones originales en temas relevantes en el campo de la bioquímica y áreas afines. La REB es una 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: Departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina, UNAM (<http://bq.unam.mx/wikidep/pmwiki.php/Reb/HomePage>). 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

LOS ANTIOXIDANTES NO SON UNA
PANACEA
Rocío Salceda Sacanelles.....37

ARTÍCULOS

FOLATOS: SU SÍNTESIS, METABOLISMO,
TRANSPORTE Y PAPEL EN EL DESARROLLO
DE PLANTAS
Blanca Jazmín Reyes-Hernández,
Rocío I. Díaz de la Garza y
Joseph G. Dubrovsky.....39

EL PAPEL DE LAS PLAQUETAS EN
ENFERMEDADES AUTOINMUNES
Nora Elena Ramírez-Cruz,
Ivan Ilescas,
Belem Gallegos,
Carlos Solorzano,
Yobana Perez y
Pedro Hernández Cruz.....49

OTRAS COMUNICACIONES

CRUCIBIOQ
GLUCOGÉNESIS Y GLUCOGENÓLISIS
Yolanda Saldaña Balmori.....59

SOLUCIÓN AL CRUCIBIOQ
GLUCOGÉNESIS Y GLUCOGENÓLISIS
Yolanda Saldaña Balmori.....62

INSTRUCCIONES PARA LOS
COLABORADORES DE LA REVISTA DE
EDUCACIÓN BIOQUÍMICA.....63

EDITORIAL

LOS ANTIOXIDANTES NO SON UNA PANACEA

¿Qué tan real es la idea popular que identifica a los antioxidantes como el alivio de todo mal?

En el metabolismo de todas las células, se produce una variedad de oxidantes, especies reactivas de oxígeno (ERO), que son neutralizados por una gama de antioxidantes, manteniéndose así un balance entre oxidantes y antioxidantes conocido como el potencial redox de la célula. Cuando este balance se pierde y existe un aumento de las especies oxidantes, se dice que ocurre un estrés oxidante.

En los últimos años se ha llamado la atención al uso de antioxidantes en el tratamiento de diversas enfermedades. Varios estudios han demostrado que algunos alimentos presentan un alto contenido de fitoquímicos que pueden ejercer efectos citoprotectores contra el estrés oxidante. Diferentes vegetales contienen vitaminas y otras moléculas con actividad antiviral, antibacteriana, anticancerígena y antioxidante; por lo que se les considera como posibles protectores neuronales, anticancerígenos y protectores renales contra los daños causados por la diabetes mellitus.

Dentro de estos compuestos sobresalen el resveratrol, la curcumina y el sulforafano. El resveratrol se encuentra en las uvas y sus productos derivados como el vino, su efecto antioxidante se ha confirmado en una variedad de líneas celulares, cultivos primarios y tejidos recién aislados; en estos sistemas, el resveratrol disminuye los niveles de ERO, las concentraciones de superóxido mitocondrial, inhibe la lipoperoxidación e induce la expresión de la superóxido dismutasa. Sin embargo estos efectos citoprotectores no se han observado en células cancerosas, lo que sugiere que las distintas características fisiológicas y patológicas distinguen la respuesta a una molécula en ambientes celulares diferentes.

La curcumina es un colorante que se extrae de la raíz de la cúrcuma, ingrediente fundamental del curry, existen numerosos reportes que indican sus propiedades antioxidantes, y otros contrariamente demuestran que causa un notable aumento en la producción de ERO. Estos resultados podrían expli-

carse por las dosis utilizadas y la biodisponibilidad de la molécula.

El sulforafano es abundante en el brócoli y otras verduras de la misma familia como la col, col de Bruselas y coliflor. Para este compuesto también se encuentran resultados contradictorios en el establecimiento de la homeostasis celular de las ERO; el sulforafano se puede conjugar con el glutatión, disminuyendo sus concentraciones y aumentando el estrés oxidante.

Las enzimas antioxidantes que se reconocen como el mecanismo primario de defensa contra agresiones oxidantes, tales como la superóxido dismutasa, catalasa, glutatión transferasa, glutatión reductasa, glutatión peroxidasa, tiorredoxina reductasa entre otras, son reguladas por un mecanismo común que involucra al factor de transcripción nuclear denominado Nrf2. Éste, se localiza en el citoplasma unido a una proteína (Keap 1) y se transloca al núcleo celular, en donde se une al elemento de respuesta antioxidante, lo que lleva a la síntesis de enzimas antioxidantes. Aunque el sulforafano se demostró que previene el estrés oxidante por activar la respuesta antioxidante mediada por Nrf2, otros resultados mostraron efectos aparentemente contradictorios, debido a que este compuesto ejerce efectos pleiotrópicos, es decir, produce otros efectos, tales como la inhibición de la proliferación celular e inducción de la apoptosis en células no cancerosas. Estos resultados se deben a que el sulforafano, además de su participación en la homeostasis de ERO, es un inhibidor de enzimas desacetilasas como la desacetilasa de histonas y causa modificaciones epigenéticas en varios genes que participan en la reparación del DNA, apoptosis y proliferación celular. La mayoría de estos estudios se han realizado en condiciones *in vitro*, por lo que se requiere de estudios clínicos para conocer los efectos en humanos, los cuales son difíciles de realizar.

Por otro lado, las ERO, además de participar en el control del metabolismo celular, inician diversas vías de señalización que se asocian a una variedad de funciones en los distintos tipos celulares, que incluyen el desarrollo y diferenciación de las

células, por lo que no es de sorprender el que una gama de patologías se asocien a la presencia de estrés oxidante.

Los antioxidantes pueden ser benéficos o no dependiendo de la célula y tiempo de tratamiento, el que en algún padecimiento se demuestre que ocurre un estrés oxidante, no debe generalizarse a todas las enfermedades, ni a todos los tejidos. A pesar de que el organismo funciona como un todo, cada tejido u órgano presenta un metabolismo propio que puede afectarse de manera distinta en una condición determinada.

A pesar del gran número de estudios que indican que el estrés oxidante es causa de una variedad de enfermedades, no existe clara evidencia al respecto. Por ejemplo para la diabetes, los estudios realizados son controvertidos, mientras que unos aseveran que los antioxidantes son benéficos, otros indican que no ejercen ningún efecto y aún otros han demostrado efectos negativos. Estos resultados indican que cada padecimiento requiere de un seguimiento específico que mantenga un balance de ambos productos, oxidantes y antioxidantes. A

pesar de ello, existe una abundante información por parte de los medios de comunicación que identifica a los antioxidantes como la cura de una gama de enfermedades, el alivio de todo mal.

En este sentido, se ha generado una propaganda excesiva que favorece el consumo de antioxidantes. Diversas compañías han inundado el mercado con una gama de productos que aseguran propiedades antioxidantes e incluso algunos médicos recetan la ingesta abundante de alimentos que contengan un alto contenido de ellos. Debido a que las ERO participan en procesos de detoxificación, en el metabolismo de los nutrientes, y en la respuesta inmune, entre otras funciones, la ingesta desmedida de antioxidantes pudiera resultar contraproducente, mientras se mejorarían algunas anomalías, se podrían presentar otras.

Rocío Salceda Sacanelles
Departamento de Neurodesarrollo y Fisiología
Instituto de Fisiología Celular
Universidad Nacional Autónoma de México

FOLATOS: SU SÍNTESIS, METABOLISMO, TRANSPORTE Y PAPEL EN EL DESARROLLO DE PLANTAS *

Blanca Jazmín Reyes-Hernández¹, Rocío I. Díaz de la Garza² y Joseph G. Dubrovsky¹

¹Departamento de Biología Molecular de Plantas, Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), Apartado Postal 510-3, 62250 Cuernavaca, Morelos, Mexico.

²Escuela de Ingeniería y Ciencias, Centro de Biotecnología – FEMSA, Campus Monterrey, Tecnológico de Monterrey 64849, Mexico. Correo E: jdubrov@ibt.unam.mx.

RESUMEN

El tetrahidrofolato (THF) y sus derivados (5-formil-THF, 10-formil-THF, 5-metil-THF, 5,10-metileno-THF, 5,10-metenil-THF) en conjunto son llamados folatos o vitamina B9. La deficiencia de estos compuestos en plantas como en otros organismos está relacionada con severas alteraciones en su desarrollo. Los animales no pueden sintetizarlos *de novo* y las plantas son su principal recurso. La función de los folatos radica en donar o aceptar unidades de carbono durante la síntesis de purinas, timidilato, metionina, pantotenato y formil-metionil-tRNA, así como en la interconversión serina-glicina y catabolismo de histidina. La síntesis de dichos metabolitos y la participación de los folatos en ella conforman una red compleja, parte del metabolismo de un carbono (1C). Estos aspectos metabólicos y el papel de los folatos en el desarrollo de plantas están revisados en este trabajo.

ABSTRACT

Tetrahydrofolate (THF) and its derivatives (5-formyl-THF, 10-formyl-THF, 5-methyl-THF, 5,10-methylene-THF, 5,10-methenyl-THF) are collectively called folates or vitamin B9. Folate deficiency in plants and other organisms causes severe alterations in their development. Animals cannot synthesize folates *de novo* and plants are the main source of them. Folates donate or accept carbon units for the synthesis of purines, thymidilate, methionine, pantothenate and formyl-methionyl-tRNA, and participate in serine-glycine interconversion and histidine catabolism. Folates, participating in the synthesis of these metabolites compose a complex network, known as one-carbon metabolism. These metabolic aspects and the role of folates in plant development are reviewed in this paper.

INTRODUCCIÓN

Los folatos son compuestos conservados en todos los organismos, la forma más reducida es el THF compuesto por un anillo de pteridina, un *para*-aminobenzoato (*p*-ABA) y una cadena de glutamato (Glu) (entre 1 y 18) (Fig. 1). Las unidades de carbono que oxidan al THF (por ejemplo: formil, metileno o metil) se unen en las posiciones N5 de la pteridina o N10 del *p*-ABA, lo cual determina el derivado de THF y por lo tanto su participación en el metabo-

lismo de 1C (Fig. 1). La unión C9-N10 que une a la pteridina con el *p*-ABA de los folatos es susceptible a oxidación promoviendo la pérdida de su función (1). La poliglutamilación de los folatos puede modular este daño oxidativo, favorece su estabilidad y afecta su transporte. Los transportadores se unen con mayor afinidad a los folatos monoglutamilados (mono-Glu), mientras que la poliglutamilación (poli-Glu) induce su retención en los distintos organelos y tejidos y aumenta su afinidad como sustrato para las enzimas que los utilizan como cofactores.

PALABRAS

CLAVE:

Folatos, vitamina B9, desarrollo de plantas.

KEY WORDS:

Folate, vitamin B9, plant development.

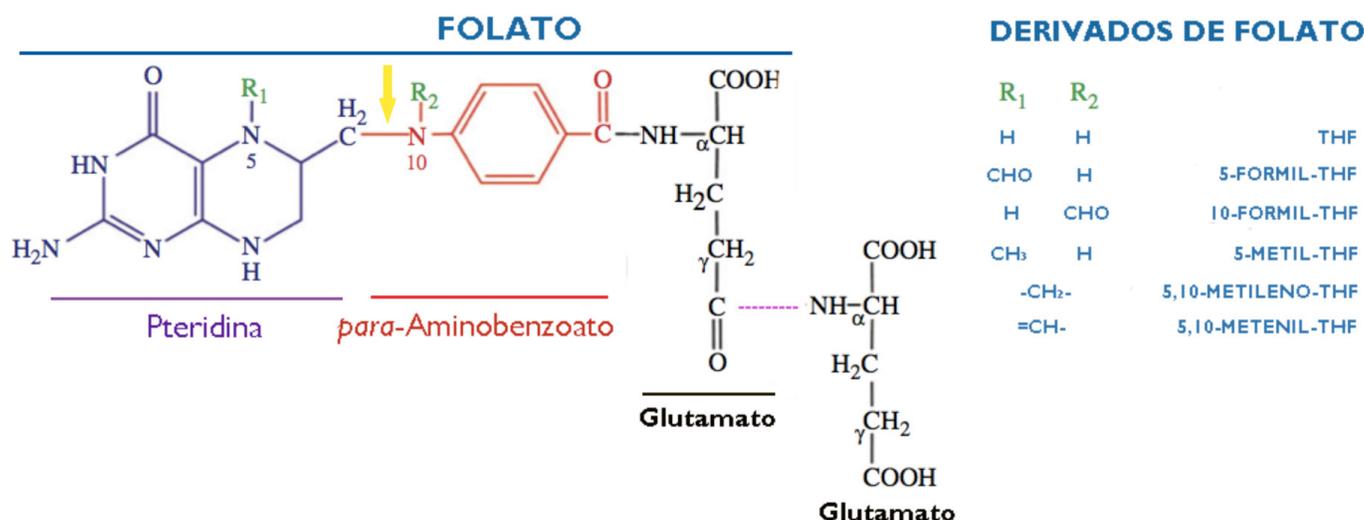


Figura 1. Estructura de los folatos. La pteridina es mostrada en su forma tetrahidro. La flecha amarilla indica el enlace susceptible a oxidación. A la derecha se muestran los principales derivados de THF. La línea punteada rosa muestra la posición donde pueden añadirse más glutamatos. THF, Tetrahydrofolato. (Modificado de las referencias 20, 46, 51).

FUNCIONES MEDIADAS POR FOLATOS

Los Folatos Como Donadores de 1C

En la síntesis de purinas el C2 y C8 provienen del 10-formil-THF, el cual puede participar también en la síntesis de formil-metionina-tRNA, al final de las reacciones anteriores se reduce a THF compuesto aceptor de unidades de 1C. El 5,10-metileno-THF puede donar unidades de 1C para convertir dUMP a dTMP (timidilato, el cual es precursor de timina), por acción de la timidilato sintetasa (TS). Al final de la reacción anterior, el folato queda en forma de dihidrofolato (DHF) y puede reducirse nuevamente para formar THF, por acción de la DHF reductasa (DHFR), reacción que en plantas es catalizada por la enzima bifuncional DHFR-TS (2). En la síntesis de pantotenato (vitamina B5) también se utiliza 5,10-metileno-THF, el cual también puede reducirse a 5-metil-THF. Este último derivado de THF dona el grupo metilo a homocisteína para formar metionina, la cual puede ser convertida a S-adenosilmetionina, por la S-adenosilmetionina sintetasa, y participar en la síntesis de otros metabolitos. Los grupos metilo son necesarios para abastecer de S-adenosilmetionina a la célula, la cual es sustrato de metiltransferasas que metilan diversos sustratos como proteínas, lípidos, DNA y hormonas (3). Por último, entre los folatos donadores, el 5-metil-THF es necesario también para la síntesis de clorofila y lignina (4).

Los Folatos Como Aceptores de 1C

Los folatos pueden participar como aceptores de 1C en la interconversión de serina y glicina, por acción de la enzima serina hidroximetiltransferasa (SHMT). La serina puede donar 1C que se incorpora a THF para dar como producto glicina y 5,10-metileno-THF. Evidencias bioquímicas sugieren que la SHMT se encuentra en citosol, mitocondria y plástidos, indicando que la serina puede donar unidades de 1C en estos tres compartimentos (5). Por otro lado, la glicina sólo es capaz de aportar unidades de 1C a THF en la mitocondria como resultado de su oxidación, por el complejo glicina decarboxilasa (GDC), produciendo 5,10-metileno-THF durante la fotorespiración. Por lo tanto, SHMT y GDC son esenciales en las células de todos los tejidos de las plantas. Finalmente, en algunas bacterias y animales el catabolismo de la histidina en su último paso requiere del THF como aceptor. En este paso, un grupo formimino se transfiere al THF por acción de la enzima bifuncional formiminotransferasa-ciclododeaminasa, resultando en la formación de 5-formimino-THF (6). En plantas, particularmente en *Arabidopsis*, se conoce una proteína con un dominio formiminotransferasa que aún no ha sido caracterizada.

BIOSÍNTESIS DE FOLATOS

Las moléculas que componen a los folatos son sintetizadas en compartimentos celulares distintos. La síntesis del anillo de pteridina ocurre en citosol

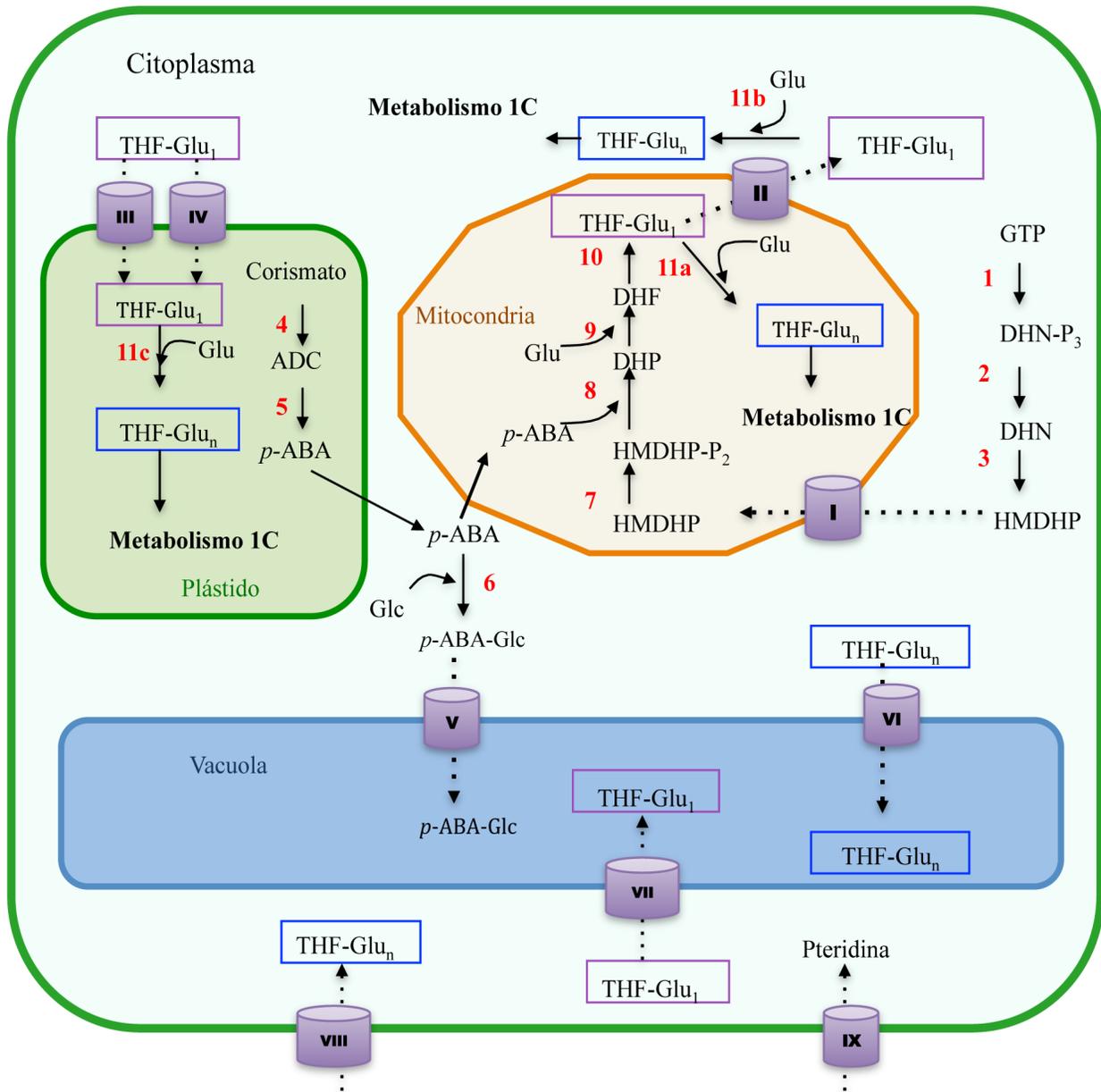


Figura 2. Síntesis, compartimentación y transporte de folatos (THF). 1-10 (en rojo), Pasos de la síntesis de folato (THF). 11a, b y c (en rojo), Muestra las 3 isoformas de la FPGS, enzima encargada de poliglutarilar las unidades de THF. I-IX (en morado), Transportadores propuestos en la vía de THF. Las líneas punteadas representan el transporte de las moléculas que señalan. THF son remarcados con recuadros purpura (monoglutarilados) y azul (poliglutarilados). (Modificado de la referencia 51).

mientras que la de p-ABA en pláستidos y, la unión de estas dos moléculas y el primer glutamato ocurre en mitocondria (Fig. 2, (1-10)).

Síntesis de la Pteridina

La síntesis de pteridina se realiza en el citosol en tres pasos. El primero, comienza con la conversión de GTP a dihidroneopterina (DHN) trifosfato, reacción en la cual participa la GTP-ciclohidrolasa

I (GCHI) (Fig. 2, (1)). La GCHI de plantas es un homodímero con dos dominios GCHI en tándem en cada monómero. Estos dominios se requieren para la actividad enzimática, sin embargo, no es claro como actúan catalíticamente (7). La carencia de secuencias señaladoras hacia organelos en GCHI sugiere que es una enzima citosólica. En el segundo paso, la DHN trifosfato se defosforila (Fig. 2, (2)) para formar DHN y esto ocurre en dos etapas. En plantas, así como en bacterias, durante

la primera etapa se remueve el pirofosfato para obtener DHN monofosfato. En *Arabidopsis*, una enzima de la familia Nudix localizada en citoplasma puede catalizar esta reacción *in vitro*, pero no se ha comprobado su actividad *in vivo* (8). La segunda etapa consiste en la hidrólisis de la DHN monofosfato y en plantas no se conoce aún la enzima que realiza esta función (9). En el tercer y último paso, la cadena de DHN se procesa a 6-dihidroximetil-dihidropterina (HMDHP) y glicolaldehído por una dihidropterina aldolasa presumiblemente citosólica (Fig. 2, (3)) (10).

Síntesis del *p*-Aminobenzoato

El *p*-ABA se sintetiza en los plástidos a partir de corismato, producto de la vía de Shikimato, en dos pasos. En el primer paso, el corismato se convierte a aminodeoxicorismato (ADC) por la ADC sintasa (ADCS) (Fig. 2, (4)). ADCS es una molécula bipartita con dominios en tándem que son homólogos a las subunidades presentes en *Escherichia coli*, PabA y PabB (11). En el segundo paso, la ADC liasa (ADCL) convierte la ADC a *p*-ABA (Fig. 2, (5)) (12). Este último producto puede ser esterificado con una glucosa en una reacción reversible mediada por una UDP-glucosiltransferasa (Fig. 2, (6)). El *p*-ABA esterificado es más abundante que su forma libre (13) y se encuentra acumulado en vacuolas, por lo que se ha sugerido que las vacuolas pueden ser un sitio de almacenaje de este precursor de folatos (14). Dicho éster puede ser reconvertido en *p*-ABA, sin embargo, la enzima esterasa que pudiera hacerlo *in vivo* se desconoce.

Síntesis del THF

Los precursores de las moléculas de folato, HMDHP y *p*-ABA junto con una unidad de glutamato (Glu) son unidos para producir primero el THF en la mitocondria. Cuatro pasos son requeridos para formar THF: 1) HMDHP se activa por pirofosforilación (Fig. 2, (7)); 2) HMDHP se acopla a *p*-ABA para dar dihidropteroato (Fig. 2, (8)). Estas dos primeras reacciones son catalizadas por los dominios HMDHP pirofosfocinasa y dihidropteroato sintetasa (respectivamente), que pertenecen a una proteína bifuncional en plantas (15). En *Arabidopsis* existe además una isoforma citosólica de dicha enzima que sólo es expresada durante el desarrollo de la semilla y durante estrés salino, y la cual parece no tener homólogos en otras especies de plantas (16). En los dos últimos pasos: 3), la DHF sintetasa (DHFS) acopla dihidropteroato a Glu para generar DHF (Fig. 2, (9)); y 4), el DHF es reducido a THF por la DHFR (Fig. 2, (10)), la cual, como mencionamos,

en plantas es una enzima bifuncional (DHFR-TS) (2, 17).

Poliglutamilación de los Folatos

La poliglutamilación de los folatos la cataliza la folilpoliglutamato sintetasa (FPGS), de la cual existen 3 isoformas en *Arabidopsis*. El monitoreo de estas isoformas, a partir de fusiones transcripcionales con genes reporteros y expresados en protoplastos, muestra su localización en mitocondria (Fig. 2, (11a)), citosol (Fig. 2, (11b)) y plástidos (Fig. 2, (11c)) (18). Aunque fue reportado que la expresión de la FPGS1 es plastídica, esta isoforma también podría ser expresada en citoplasma (19). Esa expresión fuera de plástidos está de acuerdo con el fenotipo de tipo silvestre observado en mutantes "knock-outs" sencillas y dobles, de las 3 isoformas de FPGS, donde se observa una probable compensación de la función entre ellas (20). Además, en algunas especies como en tomate, maíz y arroz solo existen dos isoformas de dicha enzima, lo que sugiere que podrían localizarse en más de un compartimento celular (20).

En *Arabidopsis*, la presencia de FPGS en citosol, mitocondria y plástidos es consistente con la ubicación de folatos poli-Glu en estos compartimentos (20). Sin embargo, se ha encontrado 5-metil-THF poli-Glu en vacuolas, aun cuando éstas no contienen FPGS o el ATP requerido para la reacción de poliglutamilación (21). Esto sugiere que los folatos poli-Glu podrían ser importados a este organelo. El grado de extensión de la cola de Glu en los folatos puede variar en parte por acción de la enzima gamma-glutamil hidrolasa (GGH). *Arabidopsis* cuenta con 3 GGHs localizadas en vacuolas, estas enzimas presentan sitios de corte diferentes en la cadena de Glu, particularmente, AtGGH2 es la isoforma que corta la cadena a folatos mono-Glu. Esto apoya la hipótesis de que la vacuola puede ser un organelo donde se almacenan los folatos poli-Glu y donde la GGH podría remover los Glu para que folatos mono-Glu sean transportados y reutilizados en otros compartimentos celulares (21).

REGULACIÓN DE LA SÍNTESIS DE FOLATOS

Como en otras vías biosintéticas, parece existir un circuito regulatorio a nivel de transcripción y actividad enzimática en la síntesis de folatos. Por ejemplo, estudios *in vitro* demuestran que hay una regulación negativa de la DHP sintasa por el DHP, DHF y THF (22). DHP y DHF también pueden interrumpir la síntesis de *p*-ABA *in vitro*, inhibiendo la enzima ADCS (23). Sin embargo, esta regulación

podría ser diferente *in vivo* ya que se propone que DHP y DHF se encuentran principalmente en mitocondria mientras que la ADCS está en plástidos. En plantas que sobre producen folatos se ha descubierto bajo porcentaje de folatos poli-Glu comparado con la acumulación que ocurre en los controles (24). Esto sugiere la existencia de saturación de la enzima encargada de poliglutarilar los folatos. Además se ha visto que el bloqueo de la síntesis de folatos en *Arabidopsis*, por la aplicación de metotrexato, provoca un incremento en el nivel de transcripción de la forma citosólica de FPGS (25). Esto sugiere dos posibilidades: 1) que exista una asa de retroalimentación sobre la actividad de la enzima FPGS de citosol dependiente de altos niveles de folatos o 2) que cuando el contenido de folatos es bajo se induce el incremento del nivel de folatos poli-Glu, aumentando la eficiencia de los mismos.

Otro ejemplo de regulación en la síntesis de folatos es el resultado de la sobreexpresión de los transgenes de GCHI y ADCS en plantas de tomate, la cual causa acumulación de estos compuestos (24). El incremento de expresión de dichas enzimas también eleva la expresión de genes río abajo de la dihidropterina aldolasa, ADCL y FPGS mitocondrial. Por otro lado, se ha visto que la acumulación de DHN y ADC aparentemente induce la DHN aldolasa y la ADCL, respectivamente (26). Por lo tanto podría sugerirse que la producción de pterinas y *p*-ABA, precursores para la formación de los folatos, parecen ejercer un control importante en la vía de síntesis de folatos en especies vegetales (24). Sin embargo, este control es diferente en distintas especies vegetales sobreproductoras de folatos, por ejemplo, en las semillas de arroz que sobre producen *p*-ABA se inhibe la síntesis de folatos, mientras que en los frutos de tomate se induce (27). Estos datos muestran que la regulación de la síntesis de folatos puede ser modulada a diferentes niveles y puede variar entre especies, incluso en órganos y tejidos o edades de una misma planta.

TRANSPORTE DE FOLATOS

La síntesis y exportación de los precursores que forman a los folatos en conjunto con la compartimentación de los folatos sugiere un complejo sistema de transporte. Hasta ahora, en plantas no han sido caracterizados por completo los posibles transportadores involucrados en la vía de folatos. Sin embargo, evidencia experimental sugiere la existencia de un mínimo de 9 transportadores en esta vía (Fig. 2, (I-IX)). El primer transportador se trata de un importador de pterina a mitocondria (Fig. 2, (I)). En el parásito *Leishmania* se identificó un transportador específico de pterina (28). Basados

en la secuencia del gen de este transportador se han identificado 9 genes hipotéticos en *Arabidopsis*. Sin embargo, la expresión de 5 de estos genes en mutantes de pérdida de función del transportador en *Leishmania*, no ha demostrado tener la misma función (29).

Como el *p*-ABA es sintetizado en plástido, esto sugeriría la existencia de un transportador para exportarlo a citosol para que posteriormente fuera importado a mitocondria. Sin embargo, la naturaleza del *p*-ABA, ácido débil e hidrofóbico, sugiere que su movimiento es por difusión (13). Después de que la pteridina y el *p*-ABA entran a la mitocondria, junto con Glu forman el folato THF, el cual debería ser exportado de dicho organelo hacia citoplasma, lo cual sugiere un segundo transportador (Fig. 2, (II)). En mamíferos se reportó la existencia del transportador Mitochondrial Folate Transporter (MFT), el cual realiza esa función (30). A partir de la secuencia de MFT, se identificaron 3 homólogos en *Arabidopsis* y sólo uno de ellos, AtFOLT1, mantiene la misma función. Sin embargo, AtFOLT1 se localiza en cloroplasto y no en mitocondria como se esperaba (31). Entonces, en plantas aun cuando los folatos deben ser transportados desde la mitocondria, hasta ahora no ha sido demostrada la presencia y actividad de un transportador de folatos en este compartimento celular.

Una vez que los folatos son exportados de mitocondria al citosol, algunos de ellos tienen que ser importados a plástidos donde son requeridos también para las reacciones de metabolismo de 1C. En *Arabidopsis* han sido identificadas dos proteínas en cloroplastos que pueden transportar folatos: el mencionado AtFOLT1 y la proteína codificada por el gen *At2g32040* (Fig. 2, (III-IV)) (32). La función como transportador de AtFOLT1 fue demostrada utilizando una línea celular mutante (*mft*) de ratón, la cual pierde la capacidad de transportar folatos a la mitocondria. Una vez que AtFOLT1 es expresado en las células mutantes *mft*, éstas son capaces de recuperar dicho transporte. Otra evidencia de la función de AtFOLT1, es que su expresión en *E. coli* permite que estas bacterias metabolicen folato exógeno. Sin embargo, en plantas de pérdida de función de AtFOLT1 no se afectan los niveles de folato en plástidos ni presentan un fenotipo mutante en su desarrollo (31). Esto sugiere la función redundante de AtFOLT1 con un segundo transportador de folatos en plástidos, el cual sería codificado por el gen *At2g32040*. Esto es apoyado por experimentos de expresión de este transportador en mutantes de *E. coli* incapaces de producir o importar folato exógeno, lo cual le permite recuperar la toma de estos compuestos a estas bacterias. La pérdida de función de *At2g32040* en *Arabidopsis* incrementa

el contenido total de folatos en plástidos y disminuye el de la forma 5 metil-THF. Sin embargo, estas plantas no presentan un fenotipo afectado en el desarrollo (31). Esto apoya parcialmente la hipótesis de que AtFOLT1 y At2g32040 son redundantes.

Debido a que los conjugados de *p*-ABA y glucosa, al contrario que *p*-ABA libre, no pueden cruzar membranas pero han sido encontrados en vacuolas se sugiere la existencia de otros 3 transportadores, que estarían localizados en tonoplasto (Fig. 2, (v)) (14). El transporte de dichos conjugados hacia la vacuola es apoyada con evidencia de que moléculas unidas a glucosa pueden ser importadas a la vacuola por medio de transportadores en el tonoplasto (33). Como los folatos encontrados en la vacuola pueden estar poli-Glu, se ha propuesto además la existencia de un sexto transportador capaz de importarlos para permitir su almacenamiento en dicho organelo (Fig. 2, (vi)). Esta idea es apoyada por el hecho de que FPGS no esta presente en vacuolas. Estos transportadores podrían ser parte de un sistema menos común que el sugerido para folatos mono-Glu. Por ejemplo, en células de mûridos se ha demostrado que en los lisosomas ocurre el importe de una molécula análoga a folato poli-Glu y la presencia de GGH en el mismo organelo (34). Recordemos que la GGH reduce el número de Glu de folatos poli-Glu, lo cual podría dejar nuevamente folatos mono-Glu para que sean exportados y reutilizados hacia y en otros compartimentos. Desafortunadamente, éste es otro de los aspectos relacionado a transporte de folatos del cual no se tiene suficiente evidencia que ocurra en las células vegetales.

El tercer transportador de folatos en vacuolas (el séptimo propuesto en la vía de folatos) es AtMRP1 (Fig. 2, (vii)). AtMRP1 también puede transportar glutatión y debido a que pertenece a la familia de proteínas Multidrug Resistance-associated Protein y subfamilia de proteínas con dominios de unión a ATP, se sugiere que transporta folato mono-Glu en una sola dirección (importador a vacuola). La pérdida de función de AtMRP1 en protoplastos de *Arabidopsis*, disminuye un 50 % el importe de un análogo de folato mono-Glu (metotrexato) a vacuolas. Esto demuestra que es requerido para el transporte de al menos ciertas formas de folatos mono-Glu y sugiere otro sistema de transporte de estas mismas formas de folatos en la vacuola (35).

Por último, se propone la existencia de otros dos transportadores que funcionarían a nivel celular. Uno sería encargado de importar folatos (Fig. 2, (viii)), ya que se ha demostrado que folatos o análogos exógenos pueden ser importados y me-

tabilizados por las células en distintos tejidos de las plantas (25, 36). Finalmente, el último transportador propuesto estaría involucrado específicamente en el transporte de pterinas (Fig. 2, (ix)). La existencia de este último transportador ha sido estudiada sólo en *Leishmania* (37).

Distribución de Folatos y su Papel en el Desarrollo de Plantas

Aunque la mayor demanda de unidades de 1C es en el citosol, los folatos están presentes en citosol (40%), mitocondria (30%), plástido (10%) y vacuola (20%) (38). Sin embargo, los patrones de distribución pueden volverse complejos si se diferencian los distintos derivados de folatos. En plantas superiores, los folatos se presentan entre 45-65% en forma metil, 30-35% en formil y 10-15% en metileno del contenido total de folatos (39). En cloroplasto se concentran principalmente 10-formil-THF y 5-metil-THF (21), donde participan en la síntesis de purinas y metionina. En citosol predominan los derivados de folato metilados que son requeridos para la síntesis de metionina (40). En vacuolas se encuentra predominantemente 5-metil-THF como posible forma de almacenaje (21). En mitocondria está predominante acumulado el 5-formil-THF, sin embargo, este derivado de folato no actúa como donador de 1C como la mayoría de los otros (41).

En la mayoría de las plantas, todos los derivados de folato no importando su compartimentación celular están poli-Glu, pero los niveles de glutamilación también pueden variar entre tejidos u organelos. Por ejemplo, Bensson y colaboradores en 1993 demostraron que en la matriz mitocondrial de células de hoja de chícharo, el 25% de los folatos se encuentran en forma tetrapoliglutamilada y el 55% pentaglutamilada (42). Entonces, todo esto muestra que la cantidad, distribución y nivel de glutamilación de los folatos en los distintos tejidos y células corresponde a las necesidades de unidades de 1C requeridas en distintos procesos biosintéticos y del desarrollo. Un hecho que sustenta esto, es que en tejidos con alta actividad proliferativa, como los tejidos meristemáticos de la raíz, contienen 5 veces más de folatos que en la zona madura (38).

La acumulación y distribución de folatos son importantes desde etapas tempranas del desarrollo. Gambonnet en 2001 demostró que los folatos acumulados en las semillas son necesarios para la germinación (43). En la presencia de un inhibidor de la síntesis de folatos en el medio hace que las plántulas detengan su desarrollo poco después de la germinación. Esto sugiere que la acumulación

de folatos en la semilla no es suficiente y que la síntesis se requiere desde etapas muy tempranas del desarrollo.

Esto ha sido evidenciado también en la mutante de *Arabidopsis gla1*, la cual no es capaz de llegar a la etapa de desarrollo llamada "corazón" del embrión (44). GLA1 es homóloga a FPGS y DHFS, aunque presenta mayor identidad de aminoácidos con DHFS, la cual es necesaria para la síntesis del folato THF.

Además del requerimiento de los folatos en etapas embrionarias, estos compuestos son requeridos también para el desarrollo en etapas post-embrionarias. Se ha demostrado que en *Arabidopsis* la pérdida de función de la enzima FPGS de plástido, afecta el desarrollo del sistema radical después de la germinación (45). Srivastava y colaboradores en el 2011 demostraron que los folatos poli-Glu son los principales cofactores que pueden mantener el crecimiento de la raíz y el meristemo apical de la raíz (45). Además, la mutante de pérdida de función de FPGS plastídica de *Arabidopsis* (*moots koom2, mko2* [raíz corta en Maya]), demuestra crecimiento determinado de la raíz. El trabajo con *mko2* demostró que la vía de folatos participa en el cambio del programa de desarrollo de crecimiento indeterminado al de determinado de la raíz. Además, en *mko2* la morfogénesis de los primordios de las raíces laterales también esta severamente afectada (46), lo cual demuestra el papel esencial de la FPGS plastídica en distintos procesos del desarrollo del sistema radical.

Otro estudio que demuestra la importancia de los folatos en el desarrollo post-germinación es el de la mutante de pérdida de función en la isoforma mitocondrial de FPGS (*atdfc*) (47). La mutante *atdc* presenta un menor número de raíces laterales desarrolladas en condiciones de deficiencia de nitrógeno, fenotipo que no se presenta si es cultivada en condiciones estándares de crecimiento, lo cual prueba que los folatos son requeridos para el desarrollo de las raíces laterales de manera dependiente del metabolismo de nitrógeno. Mutantes de pérdida de función de la enzima 5-metil-THF cicloligasa, encargada de metabolizar 5-metil-THF, muestran un retraso en el desarrollo general de la planta y en el tiempo de floración. Esto podría encontrarse relacionado a una redistribución de los folatos encontrada en estas mismas mutantes. En conjunto los estudios en las distintas mutantes mencionadas remarcan que existe un papel de los folatos en distintos procesos y etapas de desarrollo de las plantas y que no conocemos por completo como es regulado.

Entre lo poco que se conoce sobre el papel de los folatos y su regulación esta lo observado durante la diferenciación de órganos en la cual la cantidad de folatos aumenta en hojas. Esto sugirió que la fotosíntesis o algún aspecto relacionado con la luz pueden regular el proceso de acumulación de los folatos además de modular su distribución intracelular. Esto es apoyado con la observación de que en hojas, los folatos suelen acumularse 5 veces más en el citosol y 2 veces más en mitocondrias que en los mismos organelos de células de otros órganos (38, 43). En semillas de chícharo germinadas en medio con presencia de un inhibidor de síntesis de folatos y en oscuridad después de la germinación, disminuye el 5-metil-THF y la síntesis de clorofila (4). Lo anterior sustenta también que los procesos de la síntesis de folatos y distribución celular podrían encontrarse regulados por luz.

Se ha propuesto que el papel de los folatos sería en parte modular la sensibilidad a auxina e influir en su distribución durante el desarrollo de las plantas. Lo anterior fue sugerido a partir de la observación de una redistribución de auxina en plántulas de *Arabidopsis* desarrolladas en presencia de un inhibidor de la síntesis de folatos, lo cual afecta la elongación sus hipocótilos (48). Por lo tanto, la falta de folatos en una planta puede modular su sensibilidad a auxina y por lo tanto su desarrollo. Recientemente, se demostró que otra manera indirecta de regulación de los folatos sobre el desarrollo de las plantas podría darse a través de metilación de DNA y proteínas (49, 50). Sin embargo, aun no tenemos evidencia contundente sobre ello y los futuros avances en bioquímica, biología molecular y la biología del desarrollo de plantas podrán ayudar a entender el papel y mecanismo de acción de los folatos en la fisiología y el desarrollo vegetal. Estos mismos avances permitirían nuevas implicaciones biotecnológicas de los folatos para beneficio del hombre, tales como el manejo de contenido endógeno de folatos en las plantas cultivadas para su biofortificación o modulación controlada del desarrollo y crecimiento de la planta dependientes de metabolismo de folatos para mejoramiento de producción agrícola. 

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos los apoyos de UNAM-DGAPA-PAPIIT (IN205315) y CONACYT (127957 y 237430) otorgados a JGD y los apoyos de la Fundación FEMSA por medio de la Cátedra de Nutrigenómica y del Tecnológico de Monterrey a través del Grupo de Tecnologías Emergentes para la Estabilización de Nutrientes Esenciales (Cuenta 0821A01001) otorgados a RIDG.

REFERENCIAS

1. Orsomando G, Bozzo, GG, De la Garza RD, Basset GJ, Quinlivan EP, Naponelli V, Rebeille F, Ravanel S, Gregory JF 3rd, Hanson AD (2006) Evidence for folate-salvage reactions in plants. *Plant J* 46:426-435.
2. Cox K, Robertson D, Fites R (1999) Mapping and expression of a bifunctional thymidylate synthase, dihydrofolate reductase gene from maize. *Plant Mol Biol* 41:733-739.
3. Scott J (2000) Folic acid and folates: the feasibility for nutritional enhancement in plant foods. *J Sci Food Agric* 80:795-824.
4. Van Wilder V, De Brouwer V, Loizeau K, Gambonnet B, Albrieux C, Van Der Straeten D, Lambert WE, Douce R, Block MA, Rebeille F, Ravanel S. (2009) C1 metabolism and chlorophyll synthesis: the Mg-protoporphyrin IX methyltransferase activity is dependent on the folate status. *New Phytol* 182:137-145.
5. Shane B (1989) Folylpolyglutamate synthesis and role in the regulation of one-carbon metabolism. *Vitam Horm* 45:263-335.
6. Gao YS, Alvarez C, Nelson DS, Sztul E (1998) Molecular cloning, characterization, and dynamics of rat formiminotransferase cyclodeaminase, a Golgi-associated 58-kDa protein. *J Biol Chem* 273:33825-33834.
7. Basset G, Quinlivan EP, Ziemak MJ, Díaz De La Garza R, Fischer M, Schiffmann S, Bacher A, Gregory JF 3rd, Hanson AD (2002) Folate synthesis in plants: the first step of the pterin branch is mediated by a unique bimodular GTP cyclohydrolase I. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99:12489-12494.
8. Klaus SM, Wegkamp A, Sybesma W, Hugenholtz J, Gregory JF 3rd, Hanson AD (2005) A nudix enzyme removes pyrophosphate from dihydroneopterin triphosphate in the folate synthesis pathway of bacteria and plants. *J Biol Chem* 280:5274-5280.
9. Suzuki Y, Brown GM (1974) The biosynthesis of folic acid. XII. Purification and properties of dihydroneopterin triphosphate pyrophosphohydrolase. *J Biol Chem* 249:2405-2410.
10. Goyer A, Illarionova V, Roje S, Fischer M, Bacher A, Hanson AD (2004) Folate biosynthesis in higher plants. cDNA cloning, heterologous expression, and characterization of dihydroneopterin aldolases. *Plant Physiol* 135:103-111.
11. Basset GJ, Basset GJ, Quinlivan EP, Ravanel S, Rebeille F, Nichols BP, Shinozaki K, Seki M, Adams-Phillips LC, Giovannoni JJ, Gregory JF 3rd, Hanson AD (2004) Folate synthesis in plants: the p-aminobenzoate branch is initiated by a bifunctional PabA-PabB protein that is targeted to plastids. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101:1496-1501.
12. Basset GJ, Ravanel S, Quinlivan EP, White R, Giovannoni JJ, Rebeille F, Nichols BP, Shinozaki K, Seki M, Gregory JF 3rd, Hanson AD (2004) Folate synthesis in plants: the last step of the p-aminobenzoate branch is catalyzed by a plastidial aminodeoxychorismate lyase. *Plant J* 40:453-461.
13. Quinlivan EP, Roje S, Basset G, Shachar-Hill Y, Gregory JF 3rd, Hanson AD (2003) The folate precursor p-aminobenzoate is reversibly converted to its glucose ester in the plant cytosol. *J Biol Chem* 278:20731-20737.
14. Eudes A, Bozzo GG, Waller JC, Naponelli V, Lim EK, Bowles DJ, Gregory JF and Andrew Hanson AD (2008) Metabolism of the Folate Precursor p-Aminobenzoate in Plants GLUCOSE ESTER FORMATION AND VACUOLAR STORAGE. *J Biol Chem* 283: 15451-15459.
15. Rebeille F, Macherel D, Mouillon JM, Garin J, Douce R (1997) Folate biosynthesis in higher plants: purification and molecular cloning of a bifunctional 6-hydroxymethyl-7,8-dihydropterin pyrophosphokinase/7,8-dihydropteroate synthase localized in mitochondria. *EMBO J* 16:947-957.
16. Storozhenko S (2005) Folate enhancement in staple crops by metabolic engineering. *Trends Food Sci Technol* 16:271-281.
17. Luo M, Piffanelli P, Rastelli L, Cella R (1993) Molecular cloning and analysis of a cDNA coding for the bifunctional dihydrofolate reductase-thymidylate synthase of *Daucus carota*. *Plant Mol Biol* 22:427-435.
18. Ravanel S, Cherest H, Jabrin S, Grunwald D, Surdin-Kerjan Y, Douce R, Rebeille F (2001) Tetrahydrofolate biosynthesis in plants: molecular and functional characterization of dihydrofolate synthetase and three isoforms of folylpolyglutamate synthetase in *Arabidopsis thaliana*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98:15360-15365.
19. Srivastava AC, Tang Y, de la Garza RI, Blancaflor EB (2011) The plastidial folylpolyglutamate

- synthetase and root apical meristem maintenance. *Plant Signal Behav* 6:751-754.
20. Mehrshahi P, González-Jorge S, Akhtar TA, Ward JL, Santoyo-Castelazo A, Marcus SE, Lara-Núñez A, Ravanel S, Hawkins ND, Beale MH, Barrett DA, Knox JP, Gregory JF 3rd, Hanson AD, Bennett MJ, Dellapenna D (2010) Functional analysis of folate polyglutamylation and its essential role in plant metabolism and development. *Plant J* 64:267-279.
 21. Orsomando G, De la Garza RD, Green BJ, Peng M, Rea PA, Ryan TJ, Gregory JF 3rd, Hanson AD (2005) Plant gamma-glutamyl hydrolases and folate polyglutamates: characterization, compartmentation, and co-occurrence in vacuoles. *J Biol Chem* 280:28877-28884.
 22. Mouillon JM, Ravanel S, Douce R, Rebeille F (2002) Folate synthesis in higher-plant mitochondria: coupling between the dihydropterin pyrophosphokinase and the dihydropteroate synthase activities. *Biochem J* 363:313-319.
 23. Sahr T, Ravanel S, Basset G, Nichols BP, Hanson AD, Rebeille F (2006) Folate synthesis in plants: purification, kinetic properties, and inhibition of aminodeoxychorismate synthase. *Biochem J* 396:157-162.
 24. Diaz de la Garza RI, Gregory JF 3rd, Hanson AD (2007) Folate biofortification of tomato fruit. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104:4218-4222.
 25. Loizeau K, De Brouwer V, Gambonnet B, Yu A, Renou JP, Van Der Straeten D, Lambert WE, Rebeille F, Ravanel S (2008) A genome-wide and metabolic analysis determined the adaptive response of *Arabidopsis* cells to folate depletion induced by methotrexate. *Plant Physiol* 148:2083-2095.
 26. Waller JC, Akhtar TA, Lara-Núñez A, Gregory JF 3rd, McQuinn RP, Giovannoni JJ, Hanson AD (2010) Developmental and feedforward control of the expression of folate biosynthesis genes in tomato fruit. *Mol Plant* 3:66-77.
 27. Storozhenko S, De Brouwer V, Volckaert M, Navarrete O, Blancquaert D, Zhang GF, Lambert W, Van Der Straeten D (2007) Folate fortification of rice by metabolic engineering. *Nat Biotechnol* 25:1277-9.
 28. Lemley C, Yan S, Dole VS, Madhubala R, Cunningham ML, Beverley SM, Myler PJ, Stuart KD (1999) The *Leishmania donovani* LD1 locus gene ORFG encodes a biopterin transporter (BT1). *Mol Biochem Parasitol* 104:93-105.
 29. Eudes A, Kunji ER, Noiriel A, Klaus SM, Vickers TJ, Beverley SM, Gregory JF 3rd, Hanson AD (2010) Identification of transport-critical residues in a folate transporter from the folate-biopterin transporter (FBT) family. *J Biol Chem* 285:2867-2875.
 30. Perchiniak E, Lawrence SA, Kasten S, Woodard BA, Taylor SM, Moran RG (2007) Probing the mechanism of the hamster mitochondrial folate transporter by mutagenesis and homology modeling. *Biochemistry* 46:1557-1567.
 31. Bedhomme M, Hoffmann M, McCarthy EA, Gambonnet B, Moran RG, Rebeille F, Ravanel S (2005) Folate metabolism in plants: an *Arabidopsis* homolog of the mammalian mitochondrial folate transporter mediates folate import into chloroplasts. *J Biol Chem* 280:34823-34831.
 32. Klaus SM, Kunji ER, Bozzo GG, Noiriel A, De la Garza RD, Basset GJ, Ravanel S, Rebeille F, Gregory JF 3rd, Hanson AD (2005) Higher plant plastids and cyanobacteria have folate carriers related to those of trypanosomatids. *J Biol Chem* 280:38457-38463.
 33. Dean JV, Mills JD (2004) Uptake of salicylic acid 2-O-beta-D-glucose into soybean tonoplast vesicles by an ATP-binding cassette transporter-type mechanism. *Physiol Plant* 120:603-612.
 34. Barrueco JR, Sirotnak FM (1991) Evidence for the facilitated transport of methotrexate polyglutamates into lysosomes derived from S180 cells. Basic properties and specificity for polyglutamate chain length. *J Biol Chem* 266:11732-11737.
 35. Raichaudhuri A, Peng M, Naponelli V, Chen S, Sánchez-Fernández R, Gu H, Gregory JF 3rd, Hanson AD, Rea PA (2009) Plant Vacuolar ATP-binding Cassette Transporters That Translocate Folates and Antifolates in Vitro and Contribute to Antifolate Tolerance in Vivo. *J Biol Chem* 284:8449-8460.
 36. Prabhu V, Chatson KB, Lui H, Abrams GD, King J (1998) Effects of sulfanilamide and methotrexate on ¹³C fluxes through the glycine decarboxylase/serine hydroxymethyltransferase enzyme system in *Arabidopsis*. *Plant Physiol* 116:137-144.
 37. Lemley C, Yan S, Dole VS, Madhubala R, Cunningham ML, Beverley SM, Myler PJ, Stuart KD (1999). The *Leishmania donovani* LD1 locus gene ORFG encodes a biopterin transporter (BT1). *Mol. Biochem. Parasitol.* 104:93-105.
 38. Jabrin S, Ravanel S, Gambonnet B, Douce R, Rebeille F (2003) One-carbon metabolism in plants. Regulation of tetrahydrofolate synthesis during germination and seedling development. *Plant Physiol* 131:1431-1439.

39. Cossins EA (2000) The fascinating world of folate and one-carbon metabolism. *Can. J. Bot.* 78:691–708.
40. Ravanel S, Block MA, Rippert P, Jabrin S, Curien G, Rebeille F, Douce R (2004) Methionine metabolism in plants: chloroplasts are autonomous for de novo methionine synthesis and can import S-adenosylmethionine from the cytosol. *J Biol Chem* 279:22548-22557.
41. Goyer A, Collakova E, Díaz de la Garza R, Quinlivan EP, Williamson J, Gregory JF 3rd, Shachar-Hill Y, Hanson AD (2005) 5-Formyltetrahydrofolate is an inhibitory but well tolerated metabolite in *Arabidopsis* leaves. *J Biol Chem* 280:26137-26142.
42. Besson V, Rebeille F, Neuburger M, Douce R, Cossins EA (1993) Effects of tetrahydrofolate polyglutamates on the kinetic parameters of serine hydroxymethyltransferase and glycine decarboxylase from pea leaf mitochondria. *Biochem J* 292:425-430.
43. Gambonnet B (2001) Folate distribution during higher plant development. *J Sci Food Agric* 81:835–841.
44. Ishikawa T, Machida C, Yoshioka Y, Kitano H, Machida Y (2003) The GLOBULAR ARREST1 gene, which is involved in the biosynthesis of folates, is essential for embryogenesis in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J* 33:235-244.
45. Srivastava AC, Ramos-Parra PA, Bedair M, Robledo-Hernández AL, Tang Y, Sumner LW, Díaz de la Garza RI, Blancaflor EB (2011) The folypolyglutamate synthetase plastidial isoform is required for postembryonic root development in *Arabidopsis*. *Plant Physiol* 155:1237-1251.
46. Reyes-Hernández BJ, Srivastava AC, Ugartechea-Chirino Y, Shishkova S, Ramos-Parra PA, Lira-Ruan V, Díaz de la Garza RI, Dong G, Moon JC, Blancaflor EB, Dubrovsky JG (2014) Folate polyglutamate dependent pathway is required for indeterminate root growth in *Arabidopsis thaliana*. *New Phytol* 202: 1223-36.
47. Jiang L, Liu Y, Sun H, Han Y, Li J, Li C, Guo W, Meng H, Li S, Fan Y, Zhang C (2013) The mitochondrial folypolyglutamate synthetase gene is required for nitrogen utilization during early seedling development in *Arabidopsis*. *Plant Physiol* 161:971-989.
48. Stokes ME, Chattopadhyay A, Wilkins O, Nambara E, Campbell MM (2013) Interplay between sucrose and folate modulates auxin signaling in *Arabidopsis*. *Plant Physiol* 162:1552-1565.
49. Zhang H, Deng X, Miki D, Cutler S, La H, Hou YJ, Oh J, Zhu JK (2012) Sulfamethazine suppresses epigenetic silencing in *Arabidopsis* by impairing folate synthesis. *Plant Cell* 24:1230-1241.
50. Zhou HR, Zhang FF, Ma ZY, Huang HW, Jiang L, Cai T, Zhu JK, Zhang C, He XJ (2013) Folate polyglutamylation is involved in chromatin silencing by maintaining global DNA methylation and histone H3K9 dimethylation in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 25:2545-2559.
51. Hanson AD, Gregory JF 3rd (2011) Folate biosynthesis, turnover, and transport in plants. *Annu Rev Plant Biol* 62:105-125.

EL PAPEL DE LAS PLAQUETAS EN ENFERMEDADES AUTOINMUNES*

Nora Elena Ramirez-Cruz^{1,3}, Ivan Ilescas³, Belem Gallegos³, Carlos Solorzano², Yobana Perez² y Pedro Hernández Cruz^{3}**

¹Alergia e Inmunología clínica, Hospital Regional de Alta Especialidad de Oaxaca. Aldama S/N, Paraje "El Tule", San Bartolo Coyotepec, C.P. 71256 Oaxaca, Oaxaca. México.

²Laboratorio de bioquímica de proteínas y glicopatologías asociado a la Facultad de Odontología UABJO y al Centro de Investigación Facultad de medicina UNAM-UABJO. Oaxaca México

³Laboratorio de Glicobiología del Cáncer. Centro de Investigación Facultad de medicina UNAM-UABJO. Facultad de Medicina UABJO Oaxaca México. C.P 68020. Correo E***: fuegoblanc136@yahoo.com.mx

RESUMEN

Las plaquetas, son pequeñas células nucleadas, derivadas de los megacariocitos dentro de la médula ósea, juegan un papel vital en la respuesta hemostática normal al daño endotelial y son elementos clave en el Accidente Vascular Cerebral y el Infarto de miocardio. Las plaquetas tienen un papel importante en la modulación de la respuesta inmune innata ya que poseen actividad fagocítica y antibacteriana rudimentaria y en la respuesta inmune adaptativa, además de que contienen citocinas proinflamatorias como la IL-1, de esta manera modula la respuesta inmune e inflamatoria. En artritis reumatoide las plaquetas y las micropartículas derivadas de las plaquetas pueden acumularse en las articulaciones de los pacientes con artritis reumatoide, además de que las plaquetas pueden ser esenciales para la progresión de artritis inflamatoria. En lupus eritematoso sistémico, existe un aumento de reactividad de las plaquetas y el aumento de suero CD40L en pacientes con lupus eritematoso sistémico. En esclerosis sistémicas, las plaquetas están activadas en esta enfermedad. En esta revisión se presenta una visión general sobre el papel de las plaquetas en enfermedades autoinmunes.

ABSTRACT

Platelets are small nucleated cells derived from megakaryocytes in the bone marrow, play a vital role in the normal hemostatic response to endothelial damage and are key elements in the stroke and heart attack. Platelets play an important role in the modulation of innate immune response because they possess rudimentary activity antibacterial and phagocytic, and in adaptive immune responses. In addition that contain proinflammatory cytokines such as IL-1, in this way modulates the immune response and inflammatory. In rheumatoid arthritis platelets and platelet-derived microparticles can accumulate in the joints of rheumatoid arthritis patients, plus platelets can be essential to the progression of inflammatory arthritis. In systemic lupus erythematosus, there is an increased platelet reactivity and increased serum CD40L in patients with systemic lupus erythematosus. In systemic sclerosis, platelets are activated in this disease. This review presents an overview on the role of platelets in autoimmune diseases.

PALABRAS CLAVE:

Plaquetas, enfermedades autoinmunes.

KEY WORDS:

Platelets, Autoimmune diseases.

INTRODUCCIÓN

Las plaquetas, son pequeñas células anucleadas de 2µm de diámetro aproximadamente derivadas de los megacariocitos dentro de la médula ósea, juegan un papel vital en la respuesta hemostática normal al daño endotelial y son elementos clave en el accidente vascular cerebral y el Infarto de miocardio (Fig. 1). Las plaquetas poseen gránulos que contienen sustancias biológicamente activas, los más importantes de los cuales son los gránulos densos, los gránulos alfa y los lisosomas. Cuando las plaquetas se activan, ya sea por adhesión a ligandos de la matriz subendotelial o por agonistas solubles, vacían su contenido a la circulación lo traslocan a su superficie (Fig. 2). El análisis del contenido secretado por las plaquetas revela la presencia de más de 300 moléculas con trombina. El origen de las sustancias bioactivas de los gránulos es la endocitosis y la biosíntesis. Esta última se realiza en los megacariocitos que originaron las plaquetas o internamente por biosíntesis, ya que las plaquetas pueden sintetizar proteínas de forma constitutiva o en respuesta a estímulos fisiológicos porque poseen mRNA y la maquinaria necesaria para hacerlo (1, 2, 3).

Los gránulos densos contienen ADP/ATP, polifosfato inorgánico (PoliP), pirofosfato, serotonina y calcio, y liberan su contenido por exocitosis. Los lisosomas contienen catepsinas, elastasas, fosfatasa y glicosidasas que son responsables de la degradación de proteínas de la matriz celular (4, 5).

Las plaquetas, También, liberan eicosanoides, proteína CD154, conocida como ligando de CD40 (CD40L), una potente citocina que activa células inmunes (linfocitos B, células dendríticas) y células estructurales como las endoteliales, además de Factor de Crecimiento Transformante β1 (TGF-β1) el cual es liberado de las plaquetas en una forma latente y más tarde es activado por diferentes moléculas implicadas en perturbaciones de la matriz extracelular (6). Las plaquetas tienen un papel importante en la modulación de la respuesta inmune innata debido a que poseen actividad fagocítica y antibacteriana rudimentaria (4-6) y en la respuesta inmune adaptativa, además de que contienen citocinas proinflamatorias como la Interleucina-1 (IL-1), de esta manera modula la respuesta inmune e inflamatoria. Las plaquetas, tienen un papel en el inicio de la inflamación, la angiogénesis, la aterosclerosis, el desarrollo y el crecimiento del tumor linfático, así mismo, contribuyen a enfermedades crónicas como la Diabetes mellitus tipo 2 (7). Las plaquetas expresan múltiples moléculas inmunomoduladoras (ej. P-selectina, Receptores Tipo Toll (TLRs), tales como TLR-2, TLR-4 y TLR-9 (8) La interacción del lipopolisacatido (LPS) de bacterias Gram negativas con el TLR-4 de las plaquetas activa la plaqueta e induce interacción plaqueta-neutrófilo, que conduce a la degranulación de neutrófilos y la liberación de trampas extracelulares que puede matar a las bacterias (9). Se ha demostrado que la secreción de plaquetas estimuladas por LPS potencia la agregación plaquetaria y la formación

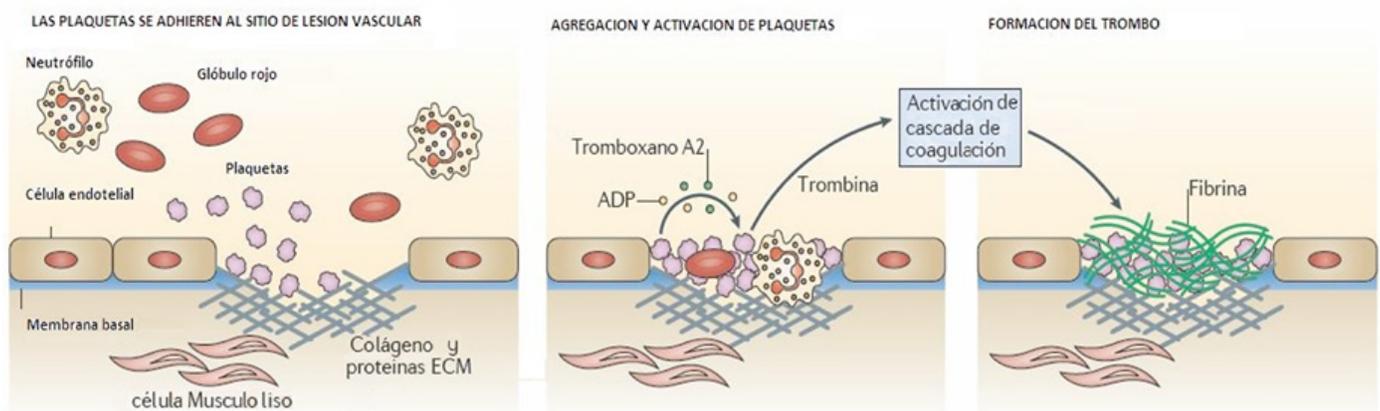


Figura 1. Funciones de la plaqueta en la hemostasia. El principal papel fisiológico de la plaqueta se cree que es la hemostasia. En el primer paso de este proceso, una lesión vascular expone las proteínas de colágeno y la membrana basal lo cual permite que las plaquetas se adhieran al sustrato. Las plaquetas adheridas posteriormente se agregan y liberan mediadores de activación plaquetaria, tales como ADP y el tromboxano A₂. Después de la activación, las plaquetas producen trombina, la cual cataliza la iniciación de la cascada de coagulación que finalmente genera una deposición similar a una malla de fibrina. Esta estructura de componentes forma un tapón hemostático con una fuerza que impide la fuga sanguínea de los restos de la matriz extracelular. (Modificado de la referencia 6).

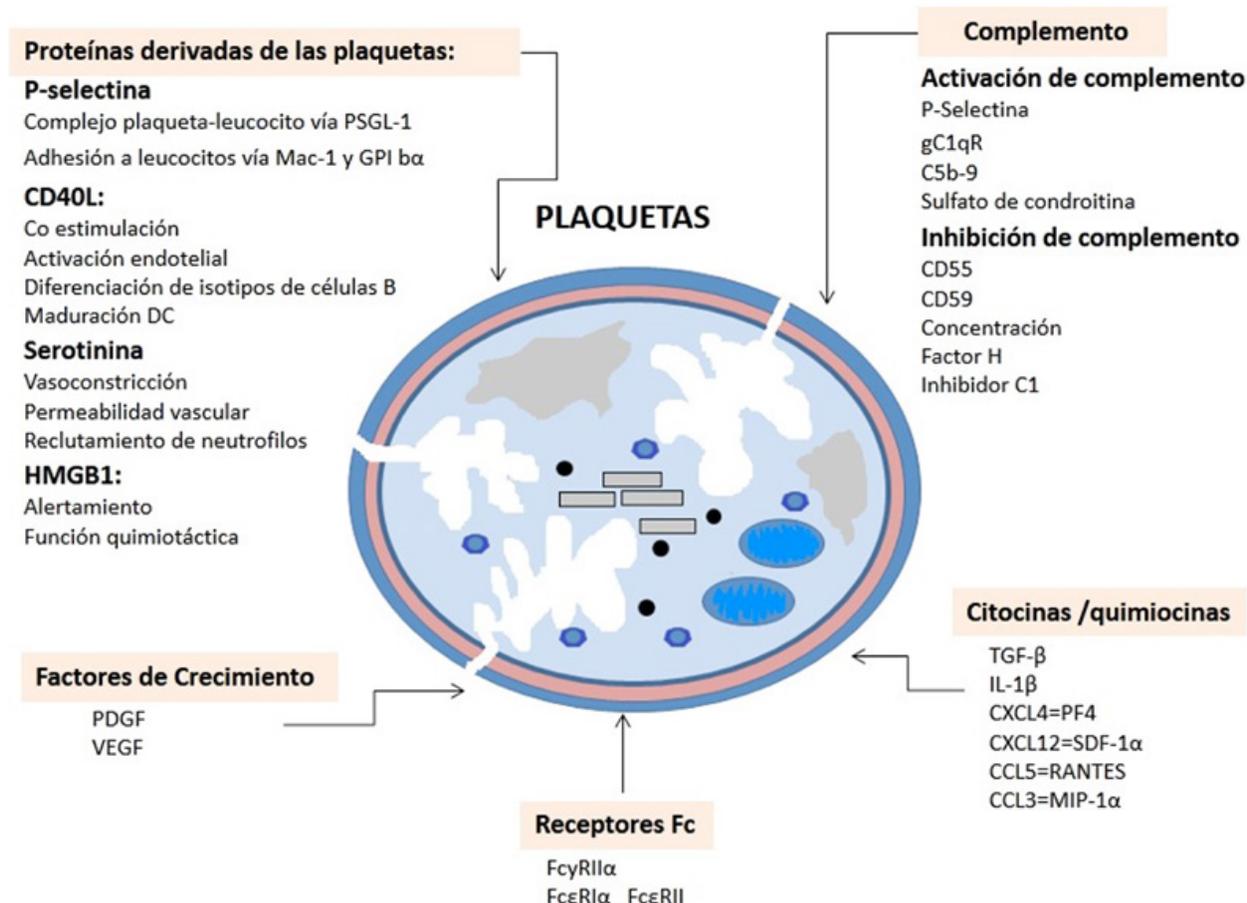


Figura 2. Moléculas expresadas por las plaquetas. (Modificado de la referencia 49).

de trombos vía TLR-4/MyD88, vinculando así la inmunidad innata con trombosis (10). Citocinas como por ejemplo: IL-1 β y TGF- β (Fig. 3) y tienen la capacidad de interactuar con varias células inmunes (8). La interleucina 1 (IL-1 α) plaquetaria dirige la inflamación cerebrovascular mediante la inducción de la activación de células endoteliales del cerebro e incrementa su liberación de la quimiocina CXCL1 (Fig. 3). La IL-1 derivada de plaquetas también estimula la producción de citocinas (ej. IL-6 e IL-8) por las células del músculo liso vascular (3). Las plaquetas participan en procesos inflamatorios (11). Las plaquetas activadas se han implicado en varias condiciones patológicas como la aterosclerosis, esclerosis múltiple (EM), artritis reumatoide (AR), lupus eritematoso sistémico (LES) y esclerosis sistémica (ES) (12-17). Tras la activación, las plaquetas liberan el contenido de sus α -gránulos secretando una variedad de citocinas, quimiocinas y factores de crecimiento. Las plaquetas no sólo responden por la liberación inmediata de sus gránulos, sino que también son capaces de modificación post-transcripcional del

RNAm que se ha empaquetado durante la formación de plaquetas a partir de megacariocitos. Como resultado, las plaquetas son capaces de producir más de 1100 proteínas identificadas por proteómica (18). Aproximadamente, un billón de las plaquetas circulan en la sangre de un humano adulto, por lo que tienen la capacidad de desempeñar un papel centinela y proporcionar señales tempranas a las células inmunes, debido a elevada proporción en circulación y su capacidad para liberar mediadores de la inflamación (19, 20).

PLAQUETAS Y ACTIVACIÓN DEL COMPLEMENTO

El sistema del complemento es un mecanismo de defensa cuya misión principal es eliminar patógenos de la circulación. Existen tres vías de activación: clásica, alternativa y de las lectinas. La importancia de este sistema se manifiesta porque la ausencia o anomalías en algún componente pueden causar enfermedades graves e incluso letales. En la ruta clásica (incluyendo el sistema de ataque a la membrana), los componentes son: C1q, C1r, C1s, C4,

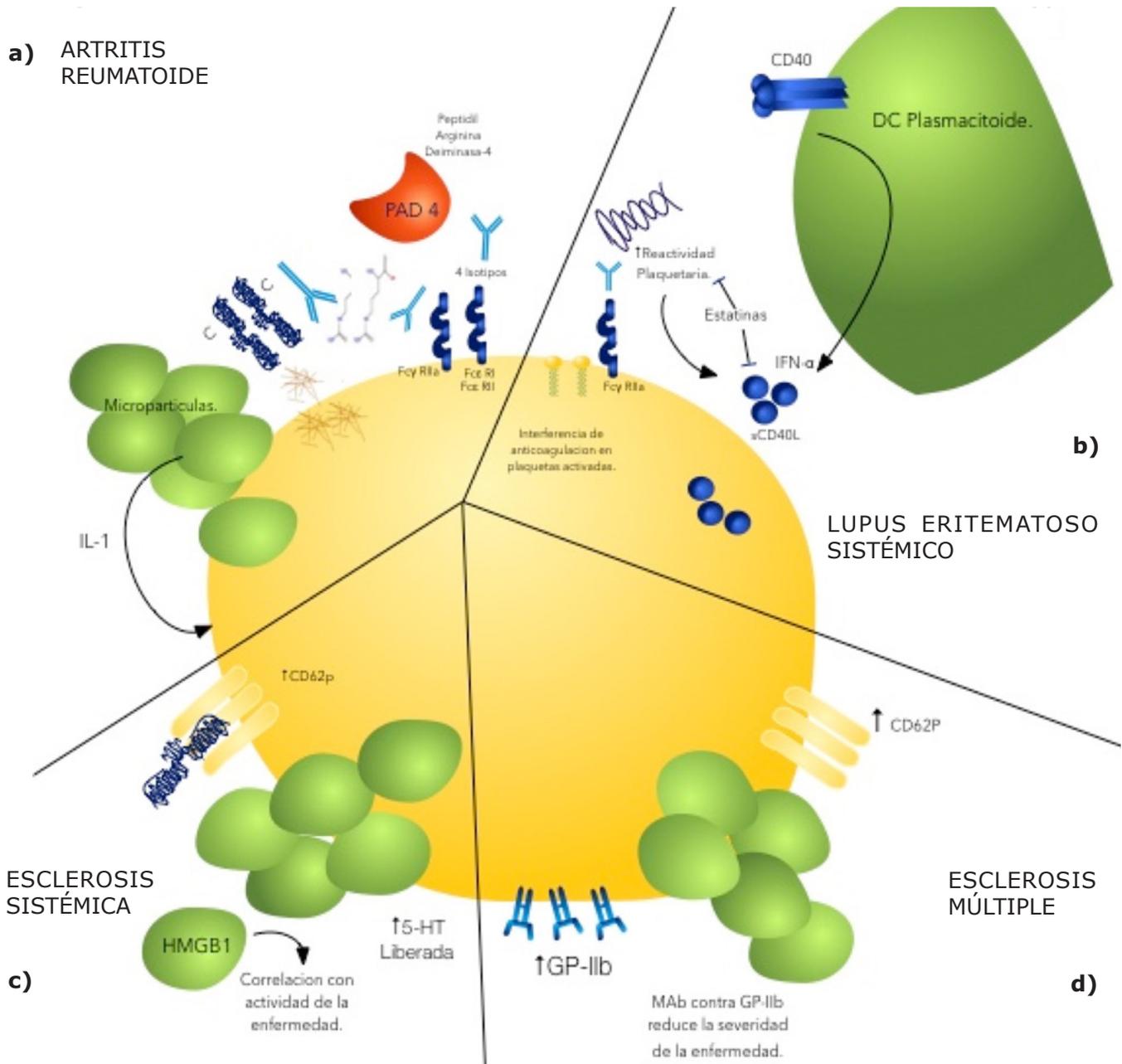


Figura 3. Las Plaquetas en enfermedades autoinmunes. **a) ARTRITIS REUMATOIDE:** El Fibrinógeno, vimentina, colágeno tipo II y enolasa se transforman en autoantígenos al ser modificados postraslacionalmente por la enzima deaminasa de peptidil-arginina (PAD4) que conduce a la conversión de residuos de arginina por citrulina, dichos antígenos son blanco de autoanticuerpos antiproteínas citrulinadas (ACPA), éstos son de los 4 isotipos secretados IgM, IgG, IgA e IgA, que tienen la capacidad de activar a las plaquetas a través de los receptores FcγRIIa, FcεRIa y FcεRII. La plaqueta activada produce fibrinógeno y expresa vimentina, el sinovio hemorrágico puede sinergizar la formación de éstas proteínas citrulinadas. Las micropartículas plaquetarias en líquido sinovial amplifican inflamación articular vía liberación de citocinas proinflamatorias como IL-1, la IL-1 y otras citocinas proinflamatorias promueven la producción de micropartículas plaquetarias. **b) LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO:** Las plaquetas son la fuente principal de sCD40L (marcador de inflamación vascular) y traduce en reactividad plaquetaria, las estatinas reducen la reactividad plaquetaria y la producción del sCD40L, FcγRIIa de las plaquetas, reconoce los complejos inmunes circulantes, incrementando la activación plaquetaria. Plaquetas activadas interactúan con células dendríticas plasmacitoides e incrementan la producción de IFN-α por interacción de CD40-sCD40L. Uno de los diferentes mecanismos propuestos para los eventos trombóticos dado por Los anticuerpos anti fosfolípidos es por unión de los fosfolípidos expresados en plaquetas activadas, promoviendo aún más la activación de la misma. **c) ESCLEROSIS SISTÉMICA:** Las plaquetas expresan niveles altos de P-selectina (CD62p), que origina una unión a fibrinógeno más fuerte; la activación plaquetaria libera micropartículas que contienen HMGB1, una alarma sello característico de la necrosis, que correlaciona en esta enfermedad con la actividad de la misma. El exceso de 5-HT derivado de plaquetas se ha observado en éstos pacientes correlacionándolo con la disminución de la función pulmonar. **d) ESCLEROSIS MÚLTIPLE** las plaquetas tienen expresión de CD62p elevada e incremento en la producción de Micropartículas. Existe sobre-regulación de receptor GPIIb.

C2, C3, C5, C6, C7, C8 y C9. Muchos de ellos son proenzimas (zimógenos) que requieren su rotura proteolítica para convertirse en enzimas activas.

Los factores del complemento C1q, C4, C3 y C9 se encuentran en la superficie de las plaquetas activadas (21). La activación del complemento específica en plaquetas, está asociada con la secreción de sulfato de condroitina y la expresión en la superficie de la P-selectina, que ayuda en la formación del complejo de C3 convertasa de la vía alternativa en la superficie de las plaquetas, asociada como una proteína de unión a C3b y gC1q-R (21). En contraste, gC1q y sulfato de condroitina activan la vía clásica, éste último es el glucosaminoglicano más abundante en el plasma humano y se almacena principalmente en los α -gránulos de las plaquetas (22). Sin embargo, la activación del complemento en la superficie celular de las plaquetas es un evento bien controlado como se indica por la presencia de muchos factores reguladores del complemento sobre la superficie de las plaquetas (CD55, CD59 y clusterina) y la capacidad de las plaquetas para liberar Factor H y el inhibidor de C1 (INH C1) desde los α -gránulos. Otro mecanismo probable por el cual las plaquetas pueden activar el complemento es vía de la captura de complejos inmunes en su superficie. El único receptor que se expresa en plaquetas es el receptor de baja afinidad para IgG (Fc γ RIIA), el cual une complejos inmunes, generados por enfermedades como: Trombocitopenia autoinmune, púrpura trombocitopenia y lupus eritematoso (23). Las plaquetas por lo tanto, representan una herramienta poderosa para la eliminación de los complejos inmunes de IgG y la prevención de la deposición de complejos inmunes generadoras de daño en los órganos. La cadena FcR-c común en las plaquetas se colocaliza con GPVI (exclusivamente expresado en plaquetas y megacariocitos), formando un receptor de colágeno de plaquetas crítico para la activación de plaquetas mediada por colágeno (23). Se ha reportado que al receptor de colágeno VI como el principal activador para la producción de micropartículas de plaquetas mediada en la AR (15).

PLAQUETAS Y ENFERMADES AUTOINMUNES

Artritis reumatoide (AR)

La AR es la enfermedad inflamatoria poliarticular más común y afecta aproximadamente al 1% de la población adulta occidental, está caracterizada por destrucción progresiva de la sinovia articular como resultado de inflamación crónica. Una de las características de la AR es la producción de anticuerpos en contra de moléculas, células o te-

jidos propios, denominados autoanticuerpos. En la AR, Los autoanticuerpos antiproteínas citrulinadas (ACPA), reconocen a un grupo de autoantígenos que son modificados postraslacionalmente por la enzima deaminasa de peptidilarginina (PAD4) que conduce a la conversión de arginina por citrulina, siendo altamente específicos para la AR y reconocen péptidos citrulinados de fibrinógeno, vimentina, el colágeno tipo II y enolasa. Un 50-70% de los pacientes con AR son ACPA positiva y los niveles de ACPA se pueden observar varios años antes de la aparición de la enfermedad (25); así mismo predice el pronóstico de la enfermedad ya que los pacientes positivos muestran una evolución de la enfermedad más grave que requiere un régimen de tratamiento más agresivo. Existen diferentes isotipos de anticuerpos ACPA: IgM-ACPA, IgG-ACPA, IgA-ACPA e IgE-ACPA (24). Debido a su expresión de Fc γ RIIA y a los receptores de alta y baja para IgE (Fc ϵ RIa y Fc ϵ R2/CD23 respectivamente), las plaquetas pueden ser activadas de manera específica por ACPA que puede explicar el incremento de la activación plaquetaria observada en los pacientes con AR (25). Por otro lado las plaquetas podrían desempeñar un papel importante en la generación de ACPA ya que las plaquetas activadas producen altas cantidades de fibrinógeno y expresan vimentina en la superficie, ambas proteínas son objetivos para el proceso de citrulinación. El fibrinógeno en sí mismo se ha identificado como un modulador importante de muchas enfermedades inflamatorias. Una de las observaciones más sorprendentes en la AR es la acumulación de fibrina en la membrana sinovial indicativa de la activación plaquetaria y subsiguiente hemorragia dentro de la articulación (26). Los depósitos de fibrina persisten durante la progresión de la enfermedad y además, los productos de degradación de fibrina como D-dímero se utilizan comúnmente como biomarcadores de la inflamación. Los neutrófilos son los primeros leucocitos que se movilizarán para el sitio de la lesión y quedan atrapados en la red de fibrina. La activación local de ambas plaquetas y neutrófilos en el sitio de sangrado sinovial, podría sinergizar la formación de fibrinógeno/vimentina citrulinados por acción de la enzima deaminasa de peptidilarginina (PAD4), en el líquido sinovial de pacientes con AR (27); las formas citrulinadas de fibrinógeno, fibronectina y vimentina se han detectado en el fluido sinovial de pacientes con AR y podrían convertirse en dianas para la respuesta inmune mediada por ACPA (28) (Fig. 3). Niveles elevados de plaquetas en el líquido sinovial se asocian con factor reumatoide (FR) y los marcadores de activación de leucocitos sinoviales en la artritis inflamatoria neutrofílica (29). Se ha demostrado que las plaquetas interactúan y

se adhieren a células endoteliales y leucocitos en los vasos sinoviales inflamados, y la presencia en el suero de P-selectina y sCD40L derivados de las plaquetas correlacionan con la actividad de la AR (20, 30). Las micropartículas de plaquetas están presentes en el líquido sinovial de pacientes con AR. Estas micropartículas de plaquetas de pequeño tamaño (0.1-1.0 μm de diámetro) se caracterizan por marcadores de activación de superficie (CD62P), contienen factores liberados tras la activación (CD40L, citocinas y quimiocinas) y se adhieren a una variedad de células, además amplifican la inflamación de las articulaciones a través de la liberación de citocinas pro-inflamatorias como la IL-1. Además, el receptor GPVI y el Fc γ -R común fueron identificados como los principales activadores de la producción de micropartículas proinflamatorias plaquetarias (15).

Lupus eritematoso sistémico (LES)

El LES es una alteración autoinmune que puede afectar todos los órganos y tejidos, es una enfermedad inflamatoria sistémica caracterizada por una respuesta inmune dirigida contra componente nuclear y resulta en daño tisular mediado por auto-anticuerpos, con manifestaciones clínicas diversas que van desde muy simples como: Fatiga y úlceras orales, hasta manifestaciones renales y neurológicas que ponen en peligro la vida, tiene actividad fluctuante con remisiones y exacerbaciones; además de ser una enfermedad multifactorial, el desarrollo temprano de aterosclerosis representa una gran contribución de la morbilidad y la mortalidad observada en el LES; pero el riesgo cardiovascular excesivo no sólo se explica por la presencia de factores de riesgo cardiovascular (por ejemplo, dislipidemia, hipertensión, tabaquismo y diabetes); el ligando de CD40 (CD40L), es un marcador de la inflamación vascular, y las plaquetas son la fuente principal de CD40L presente en circulación, por lo que de esta manera las plaquetas tiene una función importante en la aterosclerosis, en el LES, se ha reportado un aumento de reactividad de las plaquetas y el aumento en el suero del ligando de CD40 (CD40L) en pacientes con LES (31). En ratones propensos a lupus (prl) la disminución de plaquetas mejoró todas las mediciones de la actividad de la enfermedad y la supervivencia global. Los efectos benéficos del tratamiento con estatinas, que junto a su efecto reductor de lípidos tiene una serie de efectos anti-inflamatorios, incluyendo una reducción de la reactividad plaquetaria y de CD40L en circulación, como se demostró en dos ensayos clínicos controlados con placebo, doble

ciego, aleatorizados (32, 33). Se ha mostrado que el Fc γ RIIa que media el reconocimiento de complejos inmunes circulantes es responsable del incremento en la activación plaquetaria, ya que el bloqueo del receptor Fc γ RIIa o la disminución en el suero de las inmunoglobulinas disminuye la activación de plaquetas. Las plaquetas activadas interactúan con las Células Dendríticas plasmacitoides y mejorar la producción de IFN- α través de las interacciones de CD40-CD154 (34). Los anticuerpos antinucleares (ANA) y los anticuerpos antifosfolípidos (aPL) están presentes en la mayoría de pacientes con LES y correlacionan con la actividad de la enfermedad y el daño tisular subsecuente; los anticuerpos antinucleares y antifosfolípidos son un factor de riesgo importante para mortalidad cardiovascular en LES; la presencia de aPL resulta en un incremento en el riesgo de futuros eventos trombóticos (35). Dos posibles mecanismos contribuyen al incremento de trombosis: a) interferencia del sistema de anticoagulación dependiente de Fosfolípidos (PL) y b) por incremento en la producción de trombina o por unión del PL expresado en plaquetas activadas, y de ese modo aún más la activación de la misma, también conocido como el fenómeno del "doble hit" (36). Un incremento en el depósito de complemento sobre plaquetas ha sido descrito en LES, especialmente en pacientes con historia de trombosis venosa. Niveles elevados de la subunidad q de la proteína del complemento C1 (C1q), el fragmento de 302 aminoácidos (C3d), en la cadena alfa de la proteína del complemento C3b, se forma cuando esta proteína es inactivada y el fragmento mayor (C4d) que se forma cuando la proteína del complemento C4 es dividida por la proteína del complemento C1s; se encuentran presentes en plaquetas. Los niveles de C4d unidos a plaquetas correlacionan con la actividad de la enfermedad y se asocia con la presencia de aPL. El aumento de C4d sugiere que la activación plaquetaria y el depósito del complemento en plaquetas puede ser un biomarcador útil en pacientes con LES (Fig. 3).

Esclerosis sistémica (ES)

La ES; es una enfermedad autoinmune con un espectro amplio de manifestaciones clínicas, caracterizado por falla orgánica múltiple. Los tres sellos fisiopatológicos característicos son: El depósito excesivo de tejido conectivo, inflamación y autoinmunidad y la disfunción vascular, incluso antes de que la fibrosis tisular sea evidente, los pacientes presentan microangiopatía causada por el daño endotelial en curso y la posterior activación de plaquetas. Debido a que las plaquetas mantienen la integridad de los

vasos, se sabe desde hace mucho tiempo, que las plaquetas están activadas en ES (17). El incremento de la agregación plaquetaria y los niveles elevados de diversas moléculas derivadas de plaquetas (factor 4 plaquetario, factor de crecimiento derivado de plaquetas y β -trombomodulina) son detectadas en pacientes con ES (37). Se ha descrito que las plaquetas de estos pacientes, no solo expresan altos niveles de P-selectina y muestran una unión al fibrinógeno más fuerte, comparados con controles sanos, también liberan micropartículas que contienen HMGB1 que correlaciona con la actividad de la enfermedad (38, 39). HMGB1 es una proteína de unión a la cromatina nuclear que se libera pasivamente por las células necróticas, pero también puede ser excretada a partir de células inmunes activadas y plaquetas. HMGB1 es una alarmina y, como tal, es una molécula de sello de la necrosis. Actúa como un regulador de la inmunidad innata y adquirida por el aumento de la expresión de moléculas de adhesión necesarias para el reclutamiento de leucocitos mediante la activación de las células endoteliales. Por otra parte, la HMGB1 también puede inducir la secreción de citocinas proinflamatorias y promover la maduración de células dendríticas o DC (40). La principal causa de mortalidad en la esclerosis sistémica, es la enfermedad pulmonar. La lesión pulmonar histológica puede ser detectada hasta en el 80% de los pacientes y resulta en insuficiencia respiratoria progresiva. La activación plaquetaria desempeña un papel importante durante la lesión pulmonar como los pulmones se consideran un sitio secundario de trombopoyesis, además por la vasculatura pulmonar de los pacientes con esclerosis sistémica está expuesta crónicamente a los mediadores inflamatorios liberados en el torrente sanguíneo, que activan a los megacariocitos, por lo que la microangiopatía típica observada en pacientes con esclerosis sistémica proporciona un fuerte estímulo activador de plaquetas. El exceso de 5-HT derivado de plaquetas se ha observado en pacientes ES y se ha ligado a la disminución de la función pulmonar debido a la vasoconstricción y la fibrosis tisular (41). La síntesis defectuosa de la prostaciclina endotelial (PGI2) también contribuye a la vasoconstricción microvascular observada. PGI2 es un fuerte inhibidor de la activación plaquetaria. La combinación de la reducción de la producción de PGI2, junto con la estimulación continua del colágeno seguido de la producción de tromboxano A₂ (TXA₂) proporciona un circuito de retroalimentación positivo para la activación y agregación de plaquetas. Análogos sintéticos de PGI2 son ampliamente utilizados en la esclerosis sistémica, con buena evolución clínica. Dicho hallazgo debe tomarse de

manera cautelosa, debido a que la PGI2 también favorece la diferenciación de las células T induciendo la respuesta TH17 (42) (Fig. 3).

Esclerosis Múltiple (EM)

La EM, es una enfermedad del sistema nervioso central, caracterizada por manifestaciones neurológicas y de alteración cognitiva. El sello característico es la desmielinización de la materia blanca en el sistema nervioso central, inflamación perivascular, daño axonal y disrupción de la barrera hematoencefálica y la destrucción de oligodendrocitos. La EM se ha asociado con un incremento a largo plazo de riesgo de tromboembolismo venoso comparado con la población general, sugiriendo un papel para las plaquetas (43). Se ha descrito una activación incrementada de las plaquetas en la sangre periférica de pacientes con EM como lo indica la expresión incrementada de CD62p y el incremento en la producción de micropartículas. Además el análisis de microarreglos en lesiones de EM crónica en humanos reveló una sobreexpresión de receptor GPIIb específico de plaquetas (13). Se han identificado plaquetas en lesiones de EM en humanos, como sucede en el modelo murino de encefalomiелitis autoinmune (EAE). Además los síntomas de EAE, correlacionan con los niveles de factor activador de plaquetas (PAF) que es similar a lo observado en LCR de pacientes con EM en remisión (44). La serotonina derivada de plaquetas modula la inflamación cerebral promoviendo el reclutamiento de neutrófilos (45).

Las plaquetas también contribuyen a la modulación del líquido cefalorraquídeo (LCR), se ha demostrado que la IL-1 α derivada de plaquetas impulsa la activación cerebrovascular por la regulación positiva de moléculas de adhesión y quimiocinas; como consecuencia de la fuga de LCR, el fibrinógeno del plasma puede extravasarse en la lesión; el depósito de fibrina contribuye al daño axonal mediante la inducción de agrupación y activación de la microglia (macrófagos residentes en el sistema nervioso central) antes de la aparición clínica de la EAE (46). El fibrinógeno también contribuye a la inflamación local, activando astrocitos (47) (Fig. 3). El fármaco antiplaquetario más comúnmente utilizado es el ácido acetilsalicílico inhibidor de la COX1, las plaquetas maduras sólo expresan la COX1 y la acetilación irreversible de la COX1 por la aspirina previene la síntesis de tromboxano A₂ (TXA₂), una molécula de activación de plaquetas. La biosíntesis de TXA₂ se incrementa en pacientes con LES y se asocia con la actividad de la enfermedad, los niveles de TNF- α y los eventos cardiovasculares adversos.

PERSPECTIVAS

Las plaquetas son pequeñas células que se originan de los megacariocitos en la médula ósea, juegan un papel importante en las etapas iniciales del proceso de coagulación. Después de la activación, las plaquetas producen trombina y fibrinógeno que inician la cascada de coagulación. Plaquetas disfuncionales pueden causar varios tipos de enfermedades, además; las plaquetas activadas como hemos visto en esta revisión juegan un papel en varias condiciones patológicas como: esclerosis múltiple (ES), artritis reumatoide (AR), lupus eritematoso sistémico (LES) y esclerosis sistémica (ES). Tras la activación, las plaquetas liberan el

contenido de sus gránulos- α , que contienen una variedad de citocinas, quimiocinas y factores de crecimiento. Las plaquetas son capaces de llevar a cabo la modificación post-transcripcional del RNAm, que se forma desde el megacariocito. Como resultado, las plaquetas son capaces de producir más de 1100 proteínas por lo que, el conocimiento de los mecanismos moleculares que regulan la adhesión y la interacción química de las plaquetas con las células endoteliales y con los leucocitos, así como la inclusión del estudio del proteoma y de los microRNA de las plaquetas son herramientas que ayudarán a desarrollar nuevas estrategias terapéuticas para el tratamiento de las enfermedades autoinmunes. 

REFERENCIAS

1. Thon JN, Montalvo A, Patel-Hett S, Devine MT, Richardson JL, Ehrlicher A, Larson MK, Hoffmeister K, Hartwig JH, Italiano JE Jr (2010) Cytoskeletal mechanics of proplatelet maturation and platelet release. *J Cell Biol* 191:861-74.
2. Italiano J E, Richardson JL, Patel-Hett S, Battinelli E, Zaslavsky A, Short S, Ryeom S, Folkman J, Klement GL (2008) Angiogenesis is regulated by a novel mechanism: pro and antiangiogenic proteins are organized into separate platelet alpha granules and differentially released. *Blood* 11:1227-33.
3. Sehgal S, Storrie B (2007) Evidence that differential packaging of the major platelet granule proteins von Willebrand factor and fibrinogen can support their differential release. *J Thromb Haemost* 5: 2009-16.
4. Blair P, Flaumenhaft R (2009) Platelet alpha-granules: basic biology and clinical correlates. *Blood Rev* 23: 177-89.
5. Nurden AT, Nurden P, Sanchez M, Andia I, Anitua E (2008) Platelets wound healing. *Front Biosci* 13: 3532-48.
6. Semple W, Italiano JE, Freedman J (2011) Platelets and the immune continuum. *Nat Rev Immunol* 11:264-74.
7. Smyth SS, McEver RP, Weyrich AS, Morrell CN, Hoffman MR, Arepally GM, French PA, Dauerman HL, Becker RC (2009) Platelet Colloquium Participants. Platelet functions beyond hemostasis. *J Thromb Haemost* 7:1759-66.
8. Aslam R, Speck ER, Kim M, Crow AR, Bang KW, Nestel FP, Ni H, Lazarus AH, Freedman J, Semple JW (2006) Platelet Toll-like receptor expression modulates lipopolysaccharide-induced thrombocytopenia and tumor necrosis factor- α production in vivo. *Blood* 107: 637-41.
9. Clark SR, Ma AC, Tavener SA, McDonald B, Goodarzi Z, Kelly MM, Patel KD, Chakrabarti S, McAvoy E, Sinclair GD, Keys EM, Allen-Vercoe E, Devine R, Doig CJ, Green FH, Kubes P (2007) Platelet TLR4 activates neutrophil extracellular traps to ensnare bacteria in septic blood. *Nat Med* 13: 463-69.
10. Zhang G, Han J, Welch EJ, Ye RD, Voynoyasenetskaya TA, Malik AB, Du X, Li Z (2009) Lipopolysaccharide stimulates platelet secretion and potentiates platelet aggregation via TLR4/MyD88 and the cGMP-dependent protein kinase pathway. *J Immunol*: 182:7997-8004.
11. Thornton P, McColl BW, Greenhalgh A, Denes A, Allan SM, Rothwell NJ (2010) Platelet interleukin-1 α drives cerebrovascular inflammation. *Blood* 115: 3632-39.
12. Nurden AT (2011) Platelets, inflammation and tissue regeneration. *Thromb Haemost* 105:S13-33.
13. Langer HF, Choi EY, Zhou H, Schleicher R, Chung KJ, Tang Z, Göbel K, Bdeir K, Chatzigeorgiou A, Wong C, Bhatia S, Kruhlak MJ, Rose JW, Burns JB, Hill KE, Qu H, Zhang Y, Lehmann E, Becker KG, Wang Y, Simon DI, Nieswandt B, Lambris JD, Li X, Meuth SG, Kubes P, Chavakis T (2012) Platelets contribute to the pathogenesis of experimental autoimmune encephalomyelitis. *Circ Res* 110:1202-10.

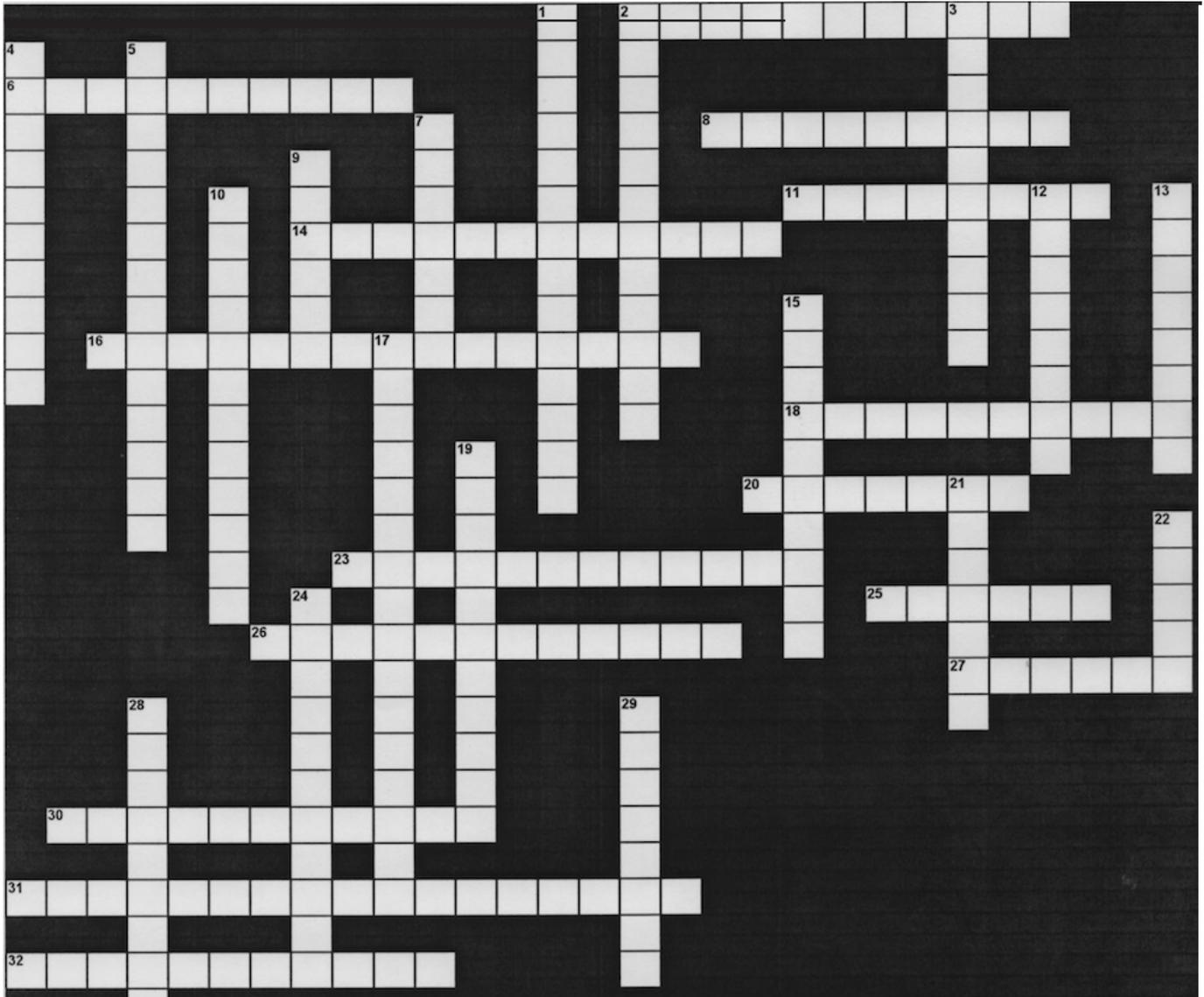
14. Lievens D, von Hundelshausen P (2011) Platelets in atherosclerosis. *Thromb Haemost* 106:827–38.
15. Boilard E, Nigrovic PA, Larabee K, Watts GF, Coblyn JS, Weinblatt ME, Massarotti EM, Remold-O'Donnell E, Farndale RW, Ware J, Lee DM (2010) Platelets amplify inflammation in arthritis via collagen-dependent microparticle production. *Science* 327:580–83.
16. Grammer AC, Lipsky PE (2002) CD154-CD40 interactions mediate differentiation to plasma cells in healthy individuals and persons with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 46:1417–29.
17. Ramirez GA, Franchini S, Rovere-Querini P, Sabbadini M G, Manfredi A A, Maugeri N (2012) The role of platelets in the pathogenesis of systemic sclerosis. *Front Immunol* 3:160 1-6.
18. Senzel L, Gnatenko D V, Bahou W F (2009) The platelet proteome. *Curr Opin Hematol* 16:329–33.
19. Prahalad S, Martins TB, Tebo A E, Whiting A, Clifford B, Zeft AS, McNally B, Bohnsack JF, Hill HR (2008) Elevated serum levels of soluble CD154 in children with juvenile idiopathic arthritis. *Pediatr Rheumatol Online J* 6:8.
20. Tamura N, Kobayashi S, Kato K, Bando H, Haruta K, Oyanagi M, Kuriyama M, Kipps T J, Hashimoto H (2001) Soluble CD154 in rheumatoid arthritis: elevated plasma levels in cases with vasculitis. *J Rheumatol* 28:2583–90.
21. Hamad O A, Nilsson P H, Wouters D, Lambris J D, Ekdahl K N, Nilsson B (2010) Complement component C3 binds to activated normal platelets without preceding proteolytic activation and promotes binding to complement receptor 1. *J Immunol* 184:2686–92.
22. Peerschke EI, Yin W, Grigg SE, Ghebrehiwet B (2006) Blood platelets activate the classical pathway of human complement. *J Thromb Haemost* 4:2035–42.
23. Tsuji M, Ezumi Y, Arai M, Takayama H (1997) A novel association of Fc receptor gamma-chain with glycoprotein VI and their co-expression as a collagen receptor in human platelets. *J Biol Chem* 272:23528–31.
24. Nishimura K, Sugiyama D, Kogata Y, Tsuji G, Nakazawa T, Kawano S, Saigo K, Morinobu A, Koshiba M, Kuntz KM, Kamae I, Kumagai S (2007) Meta-analysis: diagnostic accuracy of anti-cyclic citrullinated peptide antibody and rheumatoid factor for rheumatoid arthritis. *Ann Intern Med* 146:797–808.
25. Pamuk GE, Vural O, Turgut B, Demir M, Pamuk ON, Cakir N (2008) Increased platelet activation markers in rheumatoid arthritis: are they related with subclinical atherosclerosis? *Platelets* 19: 146–54.
26. Lee DM, Weinblatt ME (2001) Rheumatoid arthritis. *Lancet* 358: 903–11.
27. Li P, Li M, Lindberg MR, Kennett MJ, Xiong N, Wang Y (2010) PAD4 is essential for antibacterial innate immunity mediated by neutrophil extracellular traps. *J Exp Med* 207:1853–62.
28. Raijmakers R, van Beers JJ, El-Azzouy M, Visser NF, Bozic B, Pruijn GJ, Heck AJ (2012) Elevated levels of fibrinogen-derived endogenous citrullinated peptides in synovial fluid of rheumatoid arthritis patients. *Arthritis Res Ther* 14:R114.
29. Knijff-Dutmer E A, Koerts J, Nieuwland R, Kalsbeek-Batenburg EM, van de Laar M A (2002) Elevated levels of platelet microparticles are associated with disease activity in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 46:1498–503.
30. Ertenli I, Kiraz S, Arici M, Haznedaroglu IC, Calguneri M, Celik I, Kirazli S (1998) P-selectin as a circulating molecular marker in rheumatoid arthritis with thrombocytosis. *J Rheumatol* 25:1054–58.
31. Desai-Mehta A, Lu L, Ramsey-Goldman R, Datta SK (1996) Hyperexpression of CD40 ligand by B and T cells in human lupus and its role in pathogenic autoantibody production. *J Clin Invest* 97:2063–73.
32. Ferreira GA, Navarro TP, Telles RW, Andrade LE, Sato EI (2007) Atorvastatin therapy improves endothelial-dependent vasodilation in patients with systemic lupus erythematosus: an 8 weeks controlled trial. *Rheumatology (Oxford)* 46:1560–5.
33. Mok CC, Wong CK, To CH, Lai JP, Lam CS (2011) Effects of rosuvastatin on vascular biomarkers and carotid atherosclerosis in lupus: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Arthritis Care Res (Hoboken)* 63:875–83.
34. Duffau P, Seneschal J, Nicco C, Richez C, Lazaro E, Douchet I, Bordes C, Viallard JF, Goulvestre C, Pellegrin J L, Weil B, Moreau J F, Batteux F, Blanco P (2010) Platelet CD154 potentiates interferon-alpha secretion by plasmacytoid dendritic cells in systemic lupus erythematosus. *Sci Transl Med* 2:47ra63.
35. Gustafsson JT, Simard JF, Gunnarsson I, Elvin K, Lundberg IE, Hansson LO, Larsson A, Svenungsson E (2012) Risk factors for cardiovascular mortality in patients with systemic lupus erythematosus, a prospective cohort study. *Arthritis Res Ther* 14:R46.

36. Pierangeli S S, Vega-Ostertag ME, Gonzalez E B (2007) New targeted therapies for treatment of thrombosis in antiphospholipid syndrome. *Expert Rev Mol* 9:1–15.
37. Postlethwaite AE, Chiang TM (2007) Platelet contributions to the pathogenesis of systemic sclerosis. *Curr Opin Rheumatol* 19:574–79.
38. Maugeri N, Franchini S, Campana L, Baldini M, Ramirez GA, Sabbadini MG, Rovere-Querini P, Manfredi A A (2012) Circulating platelets as a source of the damage- associated molecular pattern HMGB1 in patients with systemic sclerosis. *Autoimmunity* 45:584–7.
39. Yoshizaki A, Komura K, Iwata Y, Ogawa F, Hara T, Muroi E, Takenaka M, Shimizu K, Hasegawa M, Fujimoto M, Sato S (2009) Clinical significance of serum HMGB-1 and sRAGE levels in systemic sclerosis: association with disease severity. *J Clin Immunol* 29:180–9.
40. Raucci A, Palumbo R, Bianchi M E (2007) HMGB1: a signal of necrosis. *Autoimmunity* 40:285–89.
41. Dees C, Akhmetshina A, Zerr P, Reich N, Palumbo K, Horn A, Jüngel A, Beyer C, Krönke G, Zwerina J, Reiter R, Alenina N, Maroteaux L, Gay S, Schett G, Distler O, Distler JH (2011) Platelet-derived serotonin links vascular disease and tissue fibrosis. *J Exp Med* 208:961–72.
42. Truchetet M E, Allanore Y, Montanari E, Chizzolini C, Brembilla NC (2012) Prostaglandin I(2) analogues enhance already exuberant Th17 cell responses in systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis* 71:2044–50.
43. Christensen S, Farkas DK, Pedersen L, Miret M, Christiansen CF, Sorensen HT (2012) Multiple sclerosis and risk of venous thromboembolism: a population-based cohort study. *Neuroepidemiology* 38:76–83.
44. Kihara Y, Ishii S, Kita Y, Toda A, Shimada A, Shimizu T (2005) Dual phase regulation of experimental allergic encephalomyelitis by platelet-activating factor. *J Exp Med* 202:853–63.
45. Duerschmied D, Suidan G L, Demers M, Herr N, Carbo C, Brill A, Cifuni SM, Mauler M, Cicko S, Bader M, Idzko M, Bode C, Wagner DD (2012) Platelet serotonin promotes the recruitment of neutrophils to sites of acute inflammation in mice. *Blood* 121:1008–15.
46. Davalos D, Ryu J K, Merlini M, Baeten K M, Le Moan N, Petersen M A, Deerinck T J, Smirnoff D S, Bedard C, Hakozaki H, Gonias Murray S, Ling J B, Lassmann H, Degen J L, Ellisman M H, Akassoglou K (2012) Fibrinogen-induced perivascular microglial clustering is required for the development of axonal damage in neuroinflammation. *Nat Commun* 3:1227.
47. Schachtrup C, Ryu J K, Helmrick M J, Vagena E, Galanakis D K, Degen J L, Margolis R U, Akassoglou K (2010) Fibrinogen triggers astrocyte scar formation by promoting the availability of active TGF-beta after vascular damage. *J Neurosci* 30:5843–54.
48. Projahn D, Koenen R (2012). Platelets: key players in vascular inflammation. *J Leukoc Biol* 92:1167–75.

CRUCIBIOQ[®]

GLUCOGÉNESIS Y GLUCOGENÓLISIS

Yolanda Saldaña Balmori
Correo E: balmori@bq.unam.mx



HORIZONTALES

- 2** Esta enzima en presencia de fósforo inorgánico rompe los enlaces $\alpha(1,4)$, de los extremos no reductores del glucógeno y libera una a una las moléculas de glucosa.
- 6** Los pacientes con la _____ de Cori tienen hepatomegalia e hipoglucemia debido a un defecto hereditario en el que hay deficiencia en la actividad de la enzima desramificante.
- 8** Es el polímero ramificado de alto peso molecular, mediante la cual se almacena la glucosa en los vertebrados, en su estructura hay uniones glucosídicas $\alpha(1,4)$ y $\alpha(1,6)$, en animales bien alimentados puede pesar hasta 2×10^7 Da.

- 11** La unión de esta hormona a las células hepáticas inhibe la glucogénesis y estimula la glucogenólisis; durante el ayuno la concentración de glucosa en sangre disminuye entonces la hormona propicia la liberación de glucosa hacia la circulación.
- 14** Con este término se agrupan una serie de enfermedades ocasionadas por trastornos hereditarios del metabolismo del glucógeno.
- 16** La UDP-glucosa _____ es la enzima que permite la reacción entre la glucosa-1-fosfato y una molécula de UTP, el producto obtenido es UDP-glucosa y pirofosfato inorgánico.
- 18** Proceso en el que tanto la síntesis, como la degradación del glucógeno están controladas por las hormonas insulina, adrenalina y glucagón.
- 20** Este metabolito es el único combustible del cerebro, durante el ayuno el nivel de este sustrato se mantiene debido a que el glucagón estimula la gluconeogénesis a partir de aminoácidos que provienen del músculo.
- 23** Proceso bioquímico que ocurre cuando la concentración de glucosa en sangre es elevada y tiene como finalidad añadir subunidades de glucosa a los polímeros de glucógeno.
- 25** Esta situación emocional o una agresión física, liberan adrenalina que tiene una función glucogenolítica; la oxidación de la glucosa proporciona la energía necesaria para resolverla situación de emergencia.
- 26** En la degradación del glucógeno este tipo de enlaces, por la intervención de la glucógeno fosforilasa se liberan secuencialmente las moléculas de glucosa-1-fosfato, hasta que quedan 4 residuos unidos a una ramificación.
- 27** El nivel bajo de glucosa en este líquido del sistema vascular, permite que el páncreas secrete en las células α de los islotes de Langerhans glucagón, o si el nivel es alto, en sus células β secrete insulina.
- 30** Esta enzima rompe en una ramificación, la unión entre el residuo uno y dos de una secuencia de 4 subunidades de glucosa y transfiere 3 a otra cadena para que se vayan desprendiendo secuencialmente.
- 31** Debido a su composición tanto el glucógeno como la amilopectina presentan esta estructura, ambos tienen uniones α 1,4 y α 1,6 de glucosa.
- 32** También se designa así a la enzima amilo- α (1,4 \rightarrow 1,6)-glucosil transferasa, que es la que crea las ramificaciones al unir una cadena de glucosas al carbono 6 de una secuencia lineal.

VERTICALES

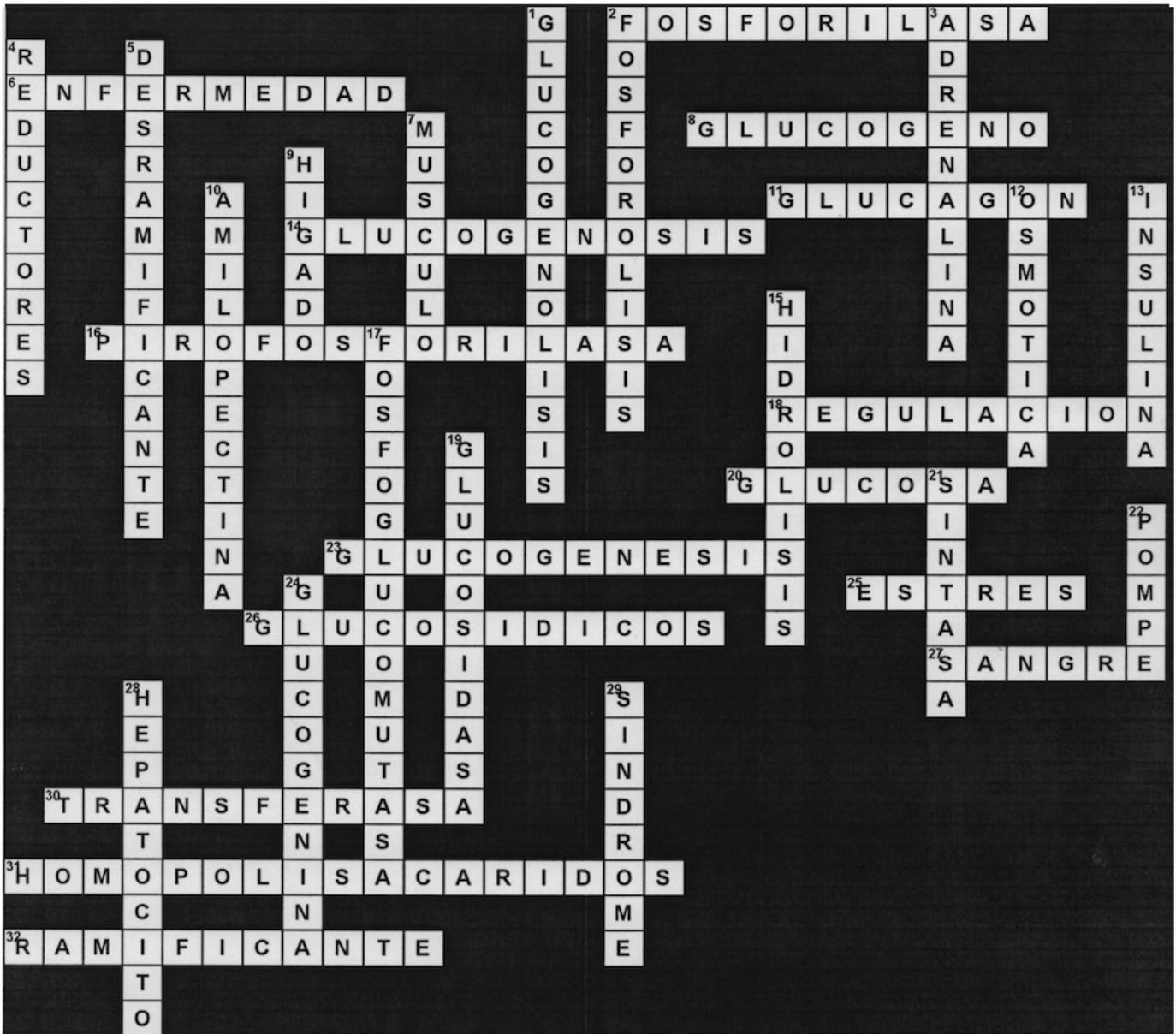
- 1** Ruta que tienen como finalidad eliminar del glucógeno una a una las moléculas monoméricas, esta vía se activa cuando la concentración de glucosa en sangre es baja, en ayuno prolongado la reserva del polímero puede estar casi agotada.
- 2** Mecanismo mediante el cual las subunidades de glucosa -como glucosa-1-fosfato- son desprendidas de glucógeno mediante la enzima específica y en presencia de fosfato de piridoxal.
- 3** Esta molécula y el glucagón al unirse a los receptores de superficie específicos activan a una proteína G que ocasiona un aumento de cAMP con ello se desencadena la cascada de fosforilación, que conduce a la liberación de subunidades de glucosa-1-fosfato.
- 4** La molécula de glucógeno tiene tantos azúcares no _____ como ramas tiene, esos azúcares son desprendidos uno a uno para oxidarse y producir energía.
- 5** Enzima participante en la glucogenólisis, tiene como función hidrolizar las uniones glucosídicas de una rama de glucógeno hasta dejar cuatro residuos de glucosa, luego otra enzima transfiere los tres últimos a un extremo no reductor próximo.
- 7** La cantidad de glucógeno que hay en el hígado es de 10 g/100 g de tejido, mientras que en este órgano es entre 1-2 g/100 g de tejido, pero la mayor cantidad del polímero se encuentra en éste, debido a que su masa es mayor.
- 9** Órgano con una importante función glucogénica, el polímero almacenado representa el 8 al 10% del peso seco de las células constitutivas.
- 10** El glucógeno tiene una estructura muy parecida a esta molécula que forma parte del almidón, la diferencia está en que el glucógeno tiene más ramificaciones, una cada 8 a 12 residuos de glucosa.
- 12** Debido a su dimensión, las moléculas grandes de glucógeno contribuyen a mantener la presión _____ de la célula, si las moléculas de glucosa no estuviesen unidas así, la célula estallaría.
- 13** Hormona que inhibe la glucogenólisis y estimula la glucogénesis debido a que activa a la fosfoproteína fosfatasa.

- 15** Nombre de la reacción química que se realiza cuando la amilo- $\alpha(1,6)$ glucosidasa interviene y se empiezan a eliminar las ramificaciones $\alpha(1,6)$ del glucógeno.
- 17** Nombre de la enzima que inicia el proceso de la glucogénesis ya que convierte a la glucosa-6-fosfato en su isómero glucosa-1-fosfato; hay un metabolito intermediario (glucosa-1,6-bisfosfato) debido a un fosforilo de la enzima.
- 19** La enzima α -1,6 _____ es la encargada de hidrolizar el último residuo de glucosa (que se desprende como glucosa no fosforilada) una a una, ramificación después de que por la acción de la transferasa se movilizaron 3 unidades.
- 21** La glucógeno _____ es la enzima que cataliza la transferencia del grupo glucosilo de la UDP-glucosa a uno de los extremos no reductores del glucógeno para formar un enlace glucosídico $\alpha(1,4)$.
- 22** Esta enfermedad es causada por un déficit de la enzima α -1,4 glucosidasa ácida lisosómica, la forma infantil se identifica aproximadamente a los 2 meses de vida el lactante el cual presenta flacidez, cardiomegalia y muerte hacia los 2 años; mientras que la forma juvenil presenta miopatías progresivas y distrofia muscular.
- 24** Para que se inicie la síntesis de glucógeno se requiere la participación de esta proteína cebadora sobre la que se ensamblan nuevas cadenas, cada una de ellas se inicia cuando la UDP-glucosa cede su grupo glucosilo a un residuo tirosilo de la proteína.
- 28** En esta célula se sintetiza el glucógeno a partir de moléculas de tres átomos de carbono como el lactato y la alanina y no de la glucosa sanguínea.
- 29** El _____ de McArdle es causado por un defecto genético autosómico recesivo que impide la síntesis correcta de la glucógeno fosforilasa lo que ocasiona que el glucógeno se almacene, situación que ocasiona calambres, fatiga, dolor y debilidad muscular, e intolerancia al ejercicio.

SOLUCIÓN AL CRUCIBIOQ®

GLUCOGÉNESIS Y GLUCOGENÓLISIS

Yolanda Saldaña Balmori
 Correo E: balmori@bq.unam.mx



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

La REB es una revista dedicada a la divulgación, difusión, discusión, análisis y presentación de resultados derivados de investigaciones originales en temas relevantes en el campo de la bioquímica y áreas afines. La Revista está dirigida a investigadores, profesores y estudiantes de posgrado, licenciatura y educación media superior. Los trabajos que se someten a evaluación para su posible publicación no deben de haberse presentado total o parcialmente en otras publicaciones.

Se aceptan únicamente contribuciones originales con estricto contenido científico en forma de artículos de investigación, de revisión, de crítica, de análisis y otras comunicaciones que tengan que ver con diversas formas de estimular el aprendizaje de la bioquímica y sirvan de apoyo a investigadores, profesores y alumnos, tanto en aspectos de investigación, académicos y de actualización.

I. Los artículos se deben ajustar a los siguientes lineamientos editoriales:

1) Portada. En el primer párrafo incluir el título, el cual debe de ser claro, simple, atractivo y evitar las abreviaturas o en su caso, definir las al inicio del texto. En el siguiente párrafo se anotarán los nombres completos de los autores, iniciando por el nombre propio completo. La afiliación de los autores se escribirá en el siguiente párrafo, indicando departamento, institución, ciudad, estado y 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) Resumen. Se deberán incluir dos resúmenes, uno en idioma español y uno en inglés (Abstract) de no más de 350 caracteres.

3) Palabras clave. Se deberá proporcionar de tres a seis palabras clave en idioma español y en inglés.

4) Texto. El artículo deberá ser escrito en el procesador de textos "Word", con una extensión máxima recomendada 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.

5) 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 para los artículos: 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, Ann Arbor, Michigan, USA, 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. 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 pueden presentarse en colores, con fondo y sombreado. Las tablas deben de estar en "Word" sin formatos especiales y 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 después de la reducción. En caso de emplear figuras previamente publicadas, deberá darse el crédito correspondiente y en su caso

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 y entre paréntesis (Fig. 2). Las tablas siempre llevarán la primera letra a mayúscula y entre paréntesis (Tabla 2).

7) Abreviaturas. Las abreviaturas seguirán las normas de la IUPAC, aquellas específicas o poco comunes deberán definirse entre paréntesis, la primera vez que se utilicen.

II. Otras comunicaciones incluyen: resúmenes de artículos científicos interesantes, relevantes o significativos, información científica o académica de interés general, avisos de reuniones académicas y cursos, problemas teóricos, ejercicios prácticos, juegos didácticos con orientación educativa, bolsa de trabajo o comentarios de artículos publicados previamente en la REB, cartas al editor, entre otras. Éstas deberán seguir los siguientes lineamientos:

- 1) El contenido deberá ser desarrollado en forma resumida y de una manera explícita.
- 2) Se aceptará un máximo de 10 referencias que se citarán entre paréntesis en el texto, como se indica en el inciso I-5. Se podrán incluir figuras o tablas, 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 lo menos por tres revisores seleccionados por el Comité Editorial a quienes se les enviará el trabajo con los autores en anónimo y quienes en todo momento permanecerán anónimos para los autores y entre

ellos; los revisores opinarán sobre la relevancia del trabajo en un lapso no mayor a un mes. Las correcciones y sugerencias de los revisores serán enviadas con anonimato entre ellos al Editor en Jefe. El resultado de la evaluación puede ser: rechazado, enviado para correcciones o aceptado. Una vez obtenida una evaluación global, el Editor en Jefe enviará las evaluaciones al autor responsable para que corrija e incorpore en el manuscrito las diferentes observaciones o en su caso, indique su opinión a observaciones que considere discutibles en los dictámenes de los revisores. El manuscrito corregido por los autores deberá ser devuelto a la Revista, en un lapso no mayor a 30 días naturales; de otra forma se considerará como un manuscrito enviado por primera vez. De ser necesario el Comité Editorial podrá enviar nuevamente el manuscrito corregido a los revisores para tener una nueva ronda de revisión, todo ello continuando con el anonimato. 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 indicar plenamente su adscripción con teléfono, dirección electrónica y postal para comunicaciones posteriores. En el texto del mensaje enviado se deberá 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. En el mismo texto se debe de aclarar que el trabajo no ha sido enviado a otra revista en su forma total o parcial, para su evaluación o que el mismo está en proceso de publicación en otra revista o en otro tipo de publicación. De igual manera se debe de aclarar que no existe conflicto de intereses entre los autores que envían el trabajo.