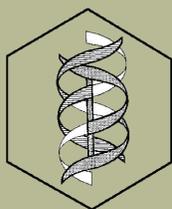


Revista de Educación Bioquímica

REB 2021



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



Facultad de Medicina



Sociedad Mexicana de
Bioquímica, A.C.

Departamento de Bioquímica
Facultad de Medicina
UNAM



EDITADO DESDE 1982 COMO BOLETÍN DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA

COMITÉ EDITORIAL

EDITOR EN JEFE

JOSÉ VÍCTOR CALDERÓN SALINAS

Departamento de Bioquímica
Centro de Investigación y de Estudios Avanzados

EDITORES

ARTURO BECERRA BRACHO

Facultad de Ciencias
Universidad Nacional Autónoma de México

RAFAEL CAMACHO CARRANZA

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

KARLA GUADALUPE CARVAJAL AGUILERA

Instituto Nacional de Pediatría

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

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

MARISELA AGUIRRE RAMÍREZ

Instituto de Ciencias Biomédicas
Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, Chihuahua

MARÍA MALDONADO VEGA

Dirección de Planeación, Enseñanza e Investigación
Hospital Regional de Alta Especialidad del Bajío

JUAN RAFAEL RIESGO ESCOBAR

Instituto de Neurobiología, UNAM
Campus Juriquilla, UNAM

ERIKA TORRES OCHOA

Departamento Académico de Ingeniería en Pesquerías
Universidad Autónoma de Baja California Sur

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, Latindex y Scielo.

REVISTA DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA (REB), Volumen 40, Número 3, septiembre de 2021, publicación trimestral, editada por Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, A.C., Avenida Universidad No. 3000, Colonia Universidad Nacional Autónoma de México, Delegación Coyoacán, C.P. 04510. Ciudad de México, México. Correspondencia: Apartado Postal 70-281, Coyoacán, C.P. 04510, Ciudad de México, México.

Correo E: reb@bq.unam.mx

<http://www.facmed.unam.mx/publicaciones/ampb/index.html>

Editor responsable Dr. José Víctor Calderón Salinas. ISSN: 1870-3690. Reserva de derechos al Uso Exclusivo No. 04-2015-113014523300-203, ambos otorgados por el Instituto Nacional del Derecho de Autor. Diseño: Celia Virginia Sánchez Meza, Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, UNAM. Disponible en septiembre del 2021.

El contenido de los artículos y las opiniones expresadas en ellos son responsabilidad de los autores y no reflejan necesariamente las del Comité Editorial. Se autoriza la reproducción parcial o total de los textos aquí publicados siempre y cuando se cite la fuente completa y la dirección electrónica de la publicación.

CONTENIDO

COMITÉ EDITORIAL

EDITORIAL

EL AZAR Y LA NECESIDAD DE JACQUES MONOD A 50 AÑOS DE SU PUBLICACIÓN
Víctor Valdés.....83

ARTÍCULOS

EL PAPEL DEL ÁCIDO SIALICO EN EL DESARROLLO DEL CÁNCER DE MAMA
Brenda Leticia Santiago Olivera,
Berenice Fernández Rojas,
Jesús Hernández Juárez,
Itandehui Belem Gallego Velasco,
Luis Miguel García-Cruz y
Pedro Antonio Hernández-Cruz.....89

TOR (TARGET OF RAPAMYCIN): EMPERADOR EN LA TOMA DE DECISIONES QUE REGULAN EL CRECIMIENTO Y DESARROLLO DE LAS PLANTAS
Kenia Salazar Diaz y
Tzvetanka D. Dinkova.....100

UN VISTAZO A LA MORFOLOGÍA Y DINÁMICA DE LA MITOCONDRIA Y A LOS SITIOS DE PRODUCCIÓN DE LAS ESPECIES REACTIVAS DE OXÍGENO
Genaro Matus-Ortega,
Juan Pablo Pardo,
Guadalupe Guerra Sánchez,
Karina Buendia Carrillo,
Maura Matus-Ortega,
James González,
Melissa Vázquez-Carrada y
Lucero Romero Aguilar.....111

LA FUNCIÓN DE LA O- β -N ACETILGLUCOSAMINA (O-GlcNac) EN LOS PROCESOS DE ENFERMEDAD
Gabriela Fuentes-García,
Cristina Patlán-Castañeda,
Tony Lefebvre y
Martha Robles-Flores.....128

OTRAS COMUNICACIONES

CRUCIBIOQ
METABOLISMO DEL NITRÓGENO
Yolanda Saldaña Balmori.....145

SOLUCIÓN AL CRUCIBIOQ
METABOLISMO DEL NITRÓGENO
Yolanda Saldaña Balmori.....148

INSTRUCCIONES PARA LOS COLABORADORES DE LA REVISTA DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA.....149

EDITORIAL

EL AZAR Y LA NECESIDAD DE JACQUES MONOD A 50 AÑOS DE SU PUBLICACIÓN

Este texto está basado en un seminario impartido el sábado 19 de junio de 2021.
<https://www.facebook.com/biologiamolecularmexico>
<http://www.biologiamolecularmexico.com/>

Estamos conmemorando 50 años de que Jacques Monod publicara el libro "EL AZAR Y LA NECESIDAD", un texto que ha marcado a generaciones. Ante la imposibilidad de hacer un análisis de todo el libro, se desglosarán algunos de los planteamientos centrales de los aspectos de Biología Molecular. Comenzaré detallando la estructura general del libro. En los dos primeros y el último capítulo, Monod se avoca a desarrollar su visión filosófica, epistemológica e histórica. Aunque no voy a profundizar en esos capítulos, simplemente voy a dejar apuntadas algunos de sus planteamientos. En el primer capítulo se desarrolla el concepto de la **Teleonomía**, que define como una aparente meta en los sistemas biológicos, sin apelar a una causa final o metafísica. Se refiere al atributo de tener un propósito aparente y de orientación a objetivos, de las estructuras y funciones de los organismos vivos, lo cual deriva de su historia biológica y de su adaptación evolutiva. Opone este concepto a la teleología desarrollada en parte por Teilhard de Chardin, que significaría un destino preconcebido e inevitable. De igual manera introduce el concepto de reproducción invariante que va a llamar **invariancia**. También define lo que él llama morfogénesis molecular autónoma como **emergencia** (en el sentido de que surge). En el capítulo dos elabora sobre diferentes concepciones vitalistas y animistas en particular sobre la visión teleológica del materialismo dialéctico, que se deriva de Hegel. En el último capítulo, comenta sobre el principio de la objetividad que considera fundamental. Para Monod las ideas son el motor de la historia, asociadas a una ética del conocimiento. Monod señala que el suyo es un punto de vista materialista, no dialéctico, idealista y deliberado.

Me voy a centrar en lo que define Monod como su objetivo general que es develar el conocimiento que emana de la nueva biología (en 1970) *i. e.*, la biología molecular. Parafraseando a Monod en su prólogo: "No había nada parecido en el conocimiento científico antes del advenimiento de la biología molecular". Pero me voy a tomar una pequeña libertad y no voy a tratar los temas en el orden en que los desarrolla Monod en su libro, si no voy a tratar de hacer una narrativa en un orden cronológico de cómo es que Jacques Monod y la biología molecular fueron caminando juntos.

Para empezar, quisiera mencionar un suceso que me parece que es clave para Monod y es el evento en el que antes de hacer su tesis doctoral, gracias a Boris Ephrussi, Monod hace una visita al laboratorio de Thomas Hunt Morgan en California, en 1936. Aquí hay una anécdota muy interesante. Monod se había graduado de licenciado en Ciencias y en particular podríamos decir que era un biólogo y en 1934 había participado en un viaje de expedición científica a Groenlandia en un barco llamado *Pourquoi pas?* (¿Porque no?). En 1936 pensaba repetir el viaje naturalista. Pero Ephrussi le explicó de qué se trataba la genética y le consiguió la beca para viajar a Estados Unidos. Afortunadamente convenció a Monod, porque ese año el barco de la expedición naufragó y no hubo sobrevivientes. Indiscutiblemente aquella estancia de un año en el laboratorio de Morgan fue una revelación para Monod en todos sentidos. Por un lado, presencié una forma de trabajar y de hacer ciencia totalmente distinta; pero además tuvo la posibilidad de entender y de discutir cómo es que de manera independiente, las le-

yes que originalmente describió Mendel habían sido redescubiertas y se comprendía aunque fuera de una manera muy general cómo es que fluía la información genética. También, en el texto de Monod se percibe como entendió a la llamada teoría sintética (neodarwinismo), que en lo general se interpreta como la integración ("*le mariage*") de la teoría de la evolución de las especies por la selección natural de Charles Darwin, la teoría genética de Gregor Mendel como base de la herencia genética, la mutación aleatoria como fuente de variación y la genética de poblaciones (Los principales artífices de esta integración fueron Ronald Fisher, J. B. S. Haldane y Sewall Wright en 1930 - 1940). Estos planteamientos eran muy modernos y tremendamente revolucionarios, pero tenían un pequeño hueco en el sentido de que, en ausencia del conocimiento de las bases físicas de la herencia, los planteamientos resultaban, por un lado, un poco nebulosos y por el otro lado difíciles de aterrizar en términos concretos. Cito a Monod: "*.....la teoría de la Evolución, aunque dominando a la biología entera, permanecía como suspendida mientras no se elaborara una teoría física de la herencia*". Inclusive, el mismísimo Morgan un poco antes de la visita de Monod (*circa* 1935), había comentado: "he pasado dos años induciendo mutaciones y cultivando estas moscas sin obtener ningún resultado comprensible o interesante". De hecho, en aquellos años, el grupo intelectualmente dominante, llamado el grupo del fago liderado por Max Delbruck, Salvador Luria y Alfred Hershey, se había planteado el descubrir nuevas leyes de la física en la biología para explicar el fenómeno hereditario. Afortunadamente, si bien estas ideas del grupo del fago parecían románticas, en la práctica eran muy concretos y, de hecho, sus experimentos de la fluctuación demostraron con claridad el que la selección natural también opera en las bacterias. Cuando Monod regresó a Francia y terminó la guerra, tuvo oportunidad de leer los trabajos del grupo del fago e inclusive llegó a considerar el trabajar en este campo. De hecho, el grupo del *Institut Pasteur* (André Lwoff, Jacques Monod y François Jacob), colaboraron con el grupo del fago de manera importante y podríamos decir que entre ambos establecieron las bases de la genética microbiana.

Sin lugar a duda, Monod llega a un punto crucial tanto en su carrera, como en el libro, cuando aborda la estructura de dimensional de la molécula de DNA, la llamada doble hélice propuesta por James Watson y Francis Crick en 1953 y por supuesto una de las grandes piedras angulares de la biología molecular. Antes de que se propusiera el modelo, durante la primera mitad del siglo XX, como se señaló antes, muchas cosas quedaban nebulosas y en ocasiones ambiguas, pero todo cambió con la llegada del modelo porque claramente éste explicaría cómo es que la información pasa de generación en generación y cómo esta información se expresa en cada individuo. Y no sólo eso, el modelo, les permitió a Jacob y Monod, tener una visión absolutamente concreta de cuál era el modelo de regulación que estaban generando. En el libro Monod hace mucho énfasis en que gracias al apareamiento complementario de los nucleótidos la reproducción se lleva a cabo de manera "invariante" donde evidentemente, "invariante" lo ponemos entre comillas. Es claro que ve una manera contundente de explicar el que los hijos se parezcan a los padres. Pero por supuesto, no le pasa desapercibido el hecho de que en la copia complementaria puede haber errores (mutaciones), que también se heredan a la descendencia y que por supuesto él interpreta como la materia prima básica de la evolución. En los tiempos de Morgan por decirlo así, la mutación estaba considerada casi como una mala palabra. Se hablaba del efecto deletéreo de las mutaciones, porque se veía que las moscas mutantes tenían alteraciones en las alas, en los ojos, etcétera. Por más de que en los años treinta y cuarenta del siglo XX, se postulara que las variaciones (mutaciones) aleatorias participaban en el proceso evolutivo, el cambio conceptual a partir de la doble hélice es fenomenal y entonces se entiende de manera muy concreta cómo es que se puede explicar, como dice Monod en su libro parafraseando a Demócrito, que del azar surja la necesidad.

Por supuesto Monod se da cuenta de la riqueza de la mutación, la variabilidad que genera, e inclusive intenta cuantificarla. Aquí, se anticipa a la visión que tenemos actualmente de la enorme variabilidad que poseemos a nivel molecular, evidenciada, por ejemplo, en los

polimorfismos de un solo nucleótido. No puedo dejar de mencionar que, en algún momento, el hecho de que existan especies que tienen una gran estabilidad anatómica/morfológica, a lo largo de millones de años, le hace un poco de mella a Monod. Él menciona a la llingula y podríamos mencionar al Celacanto (mal llamado fósil viviente). Efectivamente en ambos casos lo que vemos es que morfológicamente estos organismos han tenido muy poco cambio a lo largo de millones de años. En este punto se le pasa un poco de largo a Monod tanto el Reloj Molecular propuesto, por Emile Zuckerkandl y Linus Pauling (1962), así como la Teoría Neutral de Evolución Molecular propuesta por el profesor Motoo Kimura (1968), ambas desarrolladas antes de la publicación del libro y que básicamente consideran que no todas las mutaciones son ni adaptativas, ni deletéreas, sino pueden ser neutras.

En esta sección del DNA, un párrafo que llama la atención es el siguiente: "*El gen es un cristal aperiódico, en el sentido de que la secuencia no es repetitiva y totalmente libre. La estructura (D. H.), puede acomodar todas las secuencias posibles*". Aquí lo que hace Monod, es parafrasear a Erwin Schrödinger, quien el 1944, en su libro "*What is Life*" justamente había especulado que el gen debería ser un cristal aperiódico. Es sorprendente esta propuesta puramente teórica de Schrödinger, porque en ese año, el grupo de Oswald Avery apenas había sugerido tímidamente que el DNA era la substancia de la cual estaban hechos los genes (resultados que no fueron aceptados inmediatamente). Claramente Monod percibe, a partir del modelo sugerido por Watson y Crick que, con diferentes secuencias de nucleótidos, la estructura tridimensional general de la doble hélice se mantiene *grosso modo*. Esta característica explica porque el DNA nativo, purificado y "deshidratado", no forma cristales verdaderos sino fibras. Seguramente Monod, aunque no lo menciona, sabía que los patrones originales de difracción de rayos x de Rosalind Franklin que sirvieron para que Watson y Crick confirmaran su modelo de la doble hélice, se derivaban de fibras de DNA y no de verdaderos cristales. Cristales verdaderos de DNA no fueron obtenidos sino a partir de los años ochenta del siglo pasado, lo cual da mucho crédito al comentario de Monod, al respecto del cristal aperiódico.

Otro de los temas que no le pasa de largo es por supuesto, el hecho de que en la secuencia de nucleótidos está implícita la codificación de la secuencia de residuos de aminoácido en las cadenas polipeptídicas. Esta es la segunda dimensión de las capacidades del gen; siendo por supuesto en la primera, la capacidad de transmitir la información de generación en generación. Aquí, entra a desarrollar lo que son los flujos de información entre las macromoléculas informacionales DNA, RNA y proteína. En particular Monod, hace mucho énfasis en lo que él llama la irreversibilidad de la traducción. Dicho de otra manera, es una forma de referirse al Dogma Central de la Biología Molecular propuesto por Francis Crick en 1958, que establece que una vez que la información ha pasado a proteína ya no puede salir de ahí, (que es por supuesto una forma de decir en la traducción es irreversible).

Por supuesto el punto culminante del libro "El Azar y la Necesidad" es el modelo del operón y lo que de éste se deriva. Es imposible desarrollar el tema íntegramente, pero vale la pena mencionar que cuando Monod regreso a Francia después de su estancia en California, comenzó a hacer curvas de crecimiento bacteriano en diferentes medios y al particular André Lwoff recuerda que cuando creció a las bacterias en glucosa y lactosa observó un crecimiento bifásico o diáuxico como lo llamo Monod. En diciembre de 1940, entró al laboratorio de Lwoff y le preguntó cómo se podría interpretar la curva. Lwoff le respondió que podría estar relacionado con la *adaptación enzimática*, a lo que Monod preguntó ¿Qué es eso? El resto es historia. A partir de ahí, comenzó el análisis de ese fenómeno. Evidentemente, a partir del modelo de la doble hélice las mutaciones que generaban en las diferentes regiones del operón fueron adquiriendo sentido. Pero sin lugar a duda, la integración y comprensión de las mutaciones que afectaban al gen regulador, al promotor, al operador y a los genes estructurales requirió no sólo de una enorme paciencia, sino de una inteligencia profunda y una enorme capacidad de conceptualizar los resultados. Es claro que con el modelo de la doble hélice, Jacob y Monod estaban en una situación radicalmente diferente a la de T. H. Morgan porque el modelo físico les permitía "ver", aunque aún no pudieran conocer la se-

cuencia de nucleótidos. Veintiún años después de ver la curva de crecimiento bifásico, Jacob y Monod publicaron el trabajo que resumía la esencia del modelo del operón. Cuatro años después, en 1965, recibían junto con Lwoff el premio Nobel. El modelo del operón de lactosa continúa siendo el paradigma de regulación de la expresión génica. Independientemente de su valor intrínseco, veamos ahora algunas derivaciones muy importantes del modelo.

En los experimentos que llevaron a cabo Monod y sus asociados en los años cincuenta, hicieron una observación que les parecía curiosa y es que cuando hacían los análisis de las recombinaciones de las mutaciones, los cambios en los patrones de expresión eran muy rápidos. Dentro de las implicaciones biológicas del modelo de la doble hélice estaba claro que la información en la secuencia de nucleótidos tenía que pasar a la secuencia de residuos de aminoácido en las proteínas. Paul Zamecnik había demostrado que la síntesis de proteínas se llevaba a cabo en unas partículas constituidas de proteínas y RNA (los ribosomas). Consecuentemente, se generó la hipótesis de un gen, un ribosoma, una proteína. El problema respecto a los cambios en los patrones de expresión, es que el RNA ribosomal es muy estable y por lo tanto la hipótesis anterior era incompatible con los resultados de Monod y sus colaboradores, de tal suerte, que en la publicación del modelo del operón propusieron que debería de haber una molécula lábil que llevaría la información de los genes a los ribosomas. Con esta propuesta en mente, de manera casi inmediata Sydney Brenner, François Jacob y Matthew Meselson, llevaron a cabo ingeniosos experimentos que demostraron que, efectivamente, existía un intermediario inestable que llevaba la información de los genes a los ribosomas para llevar a cabo la síntesis de proteínas. *Voilà*, había llegado la pieza del rompecabezas que faltaba: el RNA mensajero (mRNA) y Monod tuvo un papel fundamental en su descubrimiento. Pero además la propuesta y el descubrimiento del mRNA tiene otra consecuencia muy importante en relación con el código genético.

Casi inmediatamente después de que Watson y Crick propusieran su modelo, derivaron lo que se ha llamado las implicaciones biológicas

o genéticas del modelo de la doble hélice. Claramente cómo quedó plasmado en el trabajo original, el apareamiento complementario de nucleótidos inmediatamente sugiere una manera en la cual se copia la información y pasa de generación en generación (primera dimensión). Pero también proponen que debe de existir en la secuencia de nucleótidos un cifrado para transmitir la información de los genes a las proteínas (segunda dimensión). Las reglas informacionales en la copia de la información de ácido nucleico a ácido nucleico, no se veían demasiado complicadas desde el punto de vista molecular, *i. e.* adenina se aparea con timina y guanina se aparea con citosina en el caso de las transferencias de información DNA-DNA y adenina se aparea con uracilo y guanina con citosina en el caso de la transferencia DNA-RNA. Llamemos a esto, el lenguaje nucleotídico. Pero las reglas de la transferencia de información en la segunda dimensión claramente se veían mucho más complejas. Durante casi una década varios investigadores notables fueron deduciendo algunas de las características que debería de tener el cifrado genético. Establecieron que cada tres nucleótidos deberían de significar un aminoácido (tripletes / codones); en consecuencia, el código debería de ser redundante (degenerado) *i. e.*, algunos aminoácidos deben de estar cifrados por más de un codón; el código no debe ser ambiguo y se debe de leer sin pausas. Pero por supuesto hay una característica que no podía ser deducida: ¿cuál es la correspondencia informacional inequívoca entre cada codón y cada aminoácido? Por decirlo así, se tenía la lista completa de los 64 codones y la lista completa de los 20 aminoácidos, pero no había manera de correlacionar una lista con la otra. Aquí viene el impacto que tuvo la propuesta del mRNA. Ese mismo año (1961), Heinrich Matthaei, tuvo la brillante idea de sintetizar mensajeros sintéticos y junto con Marshall Nirenberg montaron un sistema de traducción *in vitro* y demostraron por primera vez que el codón UUU, significaba fenilalanina. Se había elucidado la primera asignación inequívoca de un codón y su correspondiente aminoácido. El resto es historia y en unos pocos años todos los codones habían sido asignados. Jacob y Monod no dilucidaron el código genético, pero su propuesta de esa molécula inestable que lleva la información de los genes a los ribo-

somas fue fundamental para el abordaje que permitió su elucidación. Como ha sido mencionado por otros autores, el RNA mensajero fue la Piedra Rosetta de la biología molecular que permitió descifrar el código genético.

Otra de las ramificaciones fundamentales del modelo del operón que presenta Monod en su libro tiene que ver por supuesto con el hecho de que el represor tiene que reconocer a la secuencia de nucleótidos del operador y también tiene que interactuar con la lactosa que es el regulador alostérico. La propuesta original del mecanismo de las transiciones alostéricas lo publicaron Monod, Jeffries Wyman y Jean-Pierre Changeux en 1965. Es curiosa, en el trabajo original, la siguiente cita: *"Es cierto que todos los cuerpos, aunque no tengan sentido, tienen percepción; porque cuando un cuerpo se aplica a otro, hay una especie de elección para abrazar lo agradable y excluir o expulsar lo ingrato; y ya sea que el cuerpo sea el alterante o el alterado, siempre una percepción precede a la asociación; porque de lo contrario todos los cuerpos serían iguales entre sí"* Francis Bacon (alrededor de 1620). Se ve que Monod gustaba de hacer citas con cierta erudición. En esta sección del libro desarrolla con bastante detalle, el cómo prácticamente todo lo que él llama ontogenia molecular y redes de regulación dependen de interacciones débiles no covalentes entre diferentes moléculas. Las interacciones más simples ocurren en los apareamientos complementarios entre las cadenas de nucleótidos. También estas interacciones esteroespecíficas se dan entre las subunidades de un oligómero al ensamblarse, que sería el caso del represor de lactosa, que es un tetrámero y por supuesto, estos reconocimientos se dan entre proteínas y ácidos nucleicos. Monod menciona el ensamblaje del ribosoma, pero en este caso, un buen ejemplo es el represor de lactosa que tiene que encontrar en los casi 4 millones y medio de nucleótidos del genoma de la bacteria una pequeña sección de 23 nucleótidos y lo hace con una velocidad que a Monod le parece sorprendente y agregaríamos que además es capaz de discriminar entre diferentes versiones similares de la secuencia de nucleótidos (los tres operadores).

Por último, voy a comentar sobre lo que Monod llama la *ultima ratio* de la Teleonomía y

que me parece que podría interpretarse como el último secreto de la Teleonomía. Aquí, se refiere a algo que no por sencillo es menos trascendente y así lo entienden Monod. La secuencia de residuos de aminoácido determina la estructura tridimensional de la proteína y es evidente que es aquí donde ve más claramente la relación entre el azar y la necesidad. Dado que la mutación ocurre al azar y sin intención, las posibilidades de cambio son enormes, pero de estas solo algunas derivan en cambios aceptados por la selección natural. Cito a Monod: **"Azar** captado, conservado, reproducido por la maquinaria de la invariancia y así convertido en orden, regla, **necesidad**. De un juego totalmente ciego, todo, por definición, puede salir, incluida la misma visión". Claramente está jugando con su cita inicial de Demócrito: *"Todo lo que existe en el universo es fruto del azar y de la necesidad"*. Evidentemente, queda deslumbrado por el hecho de que la estructura tridimensional de una cadena polipeptídica dependa en primer lugar, de la secuencia de nucleótidos en los genes y de las mutaciones que ocurren en éstas y que dan lugar a las secuencias de residuos de aminoácido que derivan en estructuras tridimensionales con una función. Por supuesto en este segmento Monod está dando crédito y reconociendo al gran paradigma propuesto por Christian Anfinsen, quien había llevado a cabo experimentos que efectivamente demostraron que la estructura tridimensional de las proteínas está determinada por su estructura primaria. En esta misma discusión, Monod parafrasea la llamada paradoja de Cyrus Levinthal que se refiere al hecho de que en el tubo de ensayo, la velocidad de plegamiento de una cadena polipeptídica desnaturalizada ocurre en segundos o en milisegundos, siendo que si ésta, intentara todas las conformaciones tridimensionales posibles hasta llegar a su conformación nativa, se tardaría millones de años. Claramente la estructura y la función se han desarrollado de manera paralela y complementaria dependiendo del azar para determinar la necesidad.

Es notable la visión de Monod que lo lleva a escribir un libro que en gran medida sigue teniendo vigencia. No hay que olvidar que hace 50 años la biología molecular había llegado a su fase académica y en términos generales se

entendía cómo se daban los flujos de información entre las macromoléculas informacionales, la esencia de la regulación génica y se percibía ya cuáles eran las fuentes de la evolución molecular. El impacto de este conocimiento en lo que había de venir es enorme. Monod falleció prematuramente en mayo de 1976 y ya no alcanzó a ver la revolución metodológica y conceptual que llegó un poco más tarde. Ciertamente la biología molecular tenía aún mucho por delante y con la llegada de la tecnología del DNA recombinante el conocimiento fue llevado a niveles que no se imaginaban en la época heroica de la biología molecular. En aquella época tener la secuencia completa de un genoma era simplemente un sueño. Pero no hay que olvidar que la clonación molecular fue posible gracias a este desarrollo inicial de la disciplina. Fred Sanger no hubiera desarro-

llado las técnicas de secuenciación si antes Arthur Kornberg no hubiera establecido las bases de cómo es que se lleva a cabo la síntesis de DNA. Pienso qué a Monod le hubiera encantado ver los usos prácticos de la regulación del operón de lactosa en los vectores de clonación que se desarrollaron décadas después, por ejemplo, el pBlueScript. Sin lugar a dudas, en *El Azar y la Necesidad*, Jacques Monod demostró porque es uno de los constructores de esta disciplina.

Dr. Víctor Valdés
Laboratorio de Biología Molecular y Genómica.
Departamento de Biología Celular.
Facultad de Ciencias, UNAM.
vvaldes@unam.mx

EL PAPEL DEL ÁCIDO SIALICO EN EL DESARROLLO DEL CÁNCER DE MAMA*

Brenda Leticia Santiago Olivera¹, Berenice Fernández Rojas¹, Jesús Hernández Juárez², Itandehui Belem Gallego Velasco¹, Luis Miguel García-Cruz¹ y Pedro Antonio Hernández-Cruz^{1}**

¹Laboratorio de Genómica, Proteómica y Glicobiología del Cáncer del Centro de Investigación Facultad de Medicina UABJO-UNAM. ²Universidad Autónoma Benito Juárez de Oaxaca, Oaxaca de Juárez, México.

**Autor de correspondencia: fuegoblanco136@yahoo.com.mx

RESUMEN

Los ácidos siálicos se encuentran típicamente como ramas terminales de N-glicanos, O-glicanos y gangliósidos de glucoesfingolípidos y ocasionalmente tapando las cadenas laterales de los anclajes de glicosilfosfatidilinositol (GPI). El ácido siálico tiene un potencial para la diversidad biológica así por ejemplo en el cáncer el incremento de la actividad de la enzima sialil transferasa 6 (ST6Gal1) favorece la formación del enlace glicosídico en posición α -2,6 en los carbohidratos presentes en glicoconjugados de la membrana celular como parte del fenotipo maligno. En esta revisión se abordará el papel del ácido siálico en el cáncer de mama.

PALABRAS

CLAVE:

Ácidos siálicos, cáncer de mama.

ABSTRACT

Sialic acids are typically found as terminal branches of N-glycans, O-glycans and glucosfingolipid gangliosides and occasionally covering the side chains of glycosylphosphatidylinositol (GPI) anchors. Sialic acid has a potential for biodiversity so for example in cancer increase the activity of the enzyme sialil transferase 6 (ST6Gal1) favors the formation of glycosidic binding in position α -2,6 in carbohydrates present in glycoconjugated cell membrane as part of the malignant phenotype. In this review we will address the role of sialic acid in breast cancer.

KEY WORDS:

Sialic acids, breast cancer.

El cáncer es un trastorno caracterizado por la alteración del equilibrio entre la proliferación y los mecanismos normales de muerte celular, su consecuencia es el desarrollo de una o varias clonas que pueden invadir los tejidos adyacentes (1). La sobreexpresión o pérdida de la regulación de enzimas implicadas en la maquinaria de glicosilación, glicosil transferasas y glicosidasas, está asociada a la expresión de antígenos ocultos o de nuevos. Se ha observado que en la mayoría de las células de carcinomas se presenta una elongación incompleta de las cadenas oligosacáridos, formando estructuras menos complejas donde algunos tipos de estructuras glicosídicas cortas se expresen, lo que origina la formación de nuevos antígenos asociados al cáncer (1). La glicosilación aberrante de proteínas contribuye a la transformación y la

capacidad metastásica del cáncer (2). Como consecuencia de la transformación maligna (cáncer) ocurren cambios en la glicosilación, sobre todo en la etapa de elongación de los O-glicanos (3). Los oligosacáridos, se pueden encontrar en proteínas estructurales, formando parte de glicoconjugados de membranas celulares, participan en procesos biológicos como: proteínas e interacciones ligando receptor (3). En células de cáncer de mama, se han observado cambios en la expresión de N-acetilgalactosaminiltransferasas, enzimas responsables de la O-glicosilación que originan cambios en la estructura de los oligosacáridos de las proteínas de membrana que se relacionan con procesos de transformación y proliferación celular, los cuales pueden originar el cáncer de mama además, la presencia de receptores para estos carbohidratos,

puede potencializar la capacidad metastásica del tumor (3). Los glicanos acortados o truncados parecen ser otra característica que comúnmente aumenta durante el cáncer, mientras que están ausentes o solo se expresan débilmente en tejidos normales, ejemplos de estructuras glicánicas truncas son: El antígeno Tn ($\text{GalNAc}\alpha\text{-Ser/Thr}$) y el antígeno TF o Thomsen-Freidenreich ($\text{Gal}\beta\text{1-3GalNAc}\alpha\text{1-Ser/Thr}$) sus formas sialiladas sTn ($\text{NeuAc}\alpha\text{2-6 GalNAc}\alpha\text{-Ser/Thr}$) y sT ($\text{NeuAc}\alpha\text{2-6 Gal}\beta\text{1-3GalNAc}\alpha\text{1-Ser/Thr}$) (3).

En el cáncer de mama y en otros tipos de cáncer, la aparición de estructuras glicosídicas como el sialil+ de Lewis x (sLex) y el sialil de Lewis a (sLea), son altamente expresados en la linfa de ganglios con metástasis (4).

GLICOSILACIÓN

La glicosilación es un proceso importante de modificación cotraduccional y postraduccional de proteínas y lípidos, está involucrado en numerosas procesos fisiológicos y patológicos clave de la célula incluyendo la transformación maligna, progresión y metástasis del cáncer. (5). La glicosilación es un proceso enzimático que une residuos de carbohidratos a lípidos o proteínas. Los glicanos unidos covalentemente a las proteínas intervienen en el plegamiento correcto de la misma, al adquirir resistencia a las proteasas, permite que la proteína interactúe con sus ligandos y dirigirlos a su ubicación (6). Se estima que más de la mitad de todas las proteínas humanas están glicosiladas. Las moléculas glicosiladas se caracterizan por la naturaleza de la unión que se presenta entre el carbohidrato y la parte proteica o lipídica. Existen varios tipos de glicanos, los N-glicanos, que son

complejos macromoleculares formados a partir de un precursor sintetizado en el retículo endoplásmico rugoso (RER). Consta de un oligosacárido preformado compuesto por N-acetil glucosamina (GlcNAc), manosa (Man) y glucosa (Glc), el cual se une al grupo amino (NH_2) de la cadena lateral de la asparagina (Asn) de una proteína (7).

La N-glicosilación de proteínas es la modificación postraduccional más conservada y compacta en eucariotas que comienza con la transferencia de 14 precursores de azúcar Glc_3Man_9 (GlcNAc_2) a una secuencia consenso Asn-X-Thr/Ser. (8), donde X es cualquier aminoácido excepto la prolina. Los N-glicanos inician con una molécula de N-acetil-D-glucosamina (GlcNAc). Los N-glicanos presentes en las proteínas se clasifican en tres grandes grupos: Los N-glicanos con un alto contenido de manosa en su estructura, que son muy comunes en proteínas con diversos orígenes y funciones, como por ejemplo proteínas plasmáticas, hormonas, enzimas, receptores de superficie celular, inmunoglobulinas y lectinas además, son intermediarios para otro tipo de estructuras N-glicánicas más complejas. El segundo grupo es el de los N-glicanos complejos o de estructuras del tipo lactosaminico, formados por el disacárido $\text{Gal}\beta\text{1-4GlcNAc}$ en cantidad variable, las glicoproteínas que presentan este tipo de estructuras normalmente se encuentran en la superficie celular actúan como señales de reconocimiento celular. El tercer tipo de estructura N-glicánica se conoce como híbrida y las proteínas que presentan este tipo de arreglo contienen una mezcla de estructuras lactosaminicas y de las manosas (Fig. 1). Los N-glicanos también pueden proteger a las proteínas de la acción de proteasas (9).

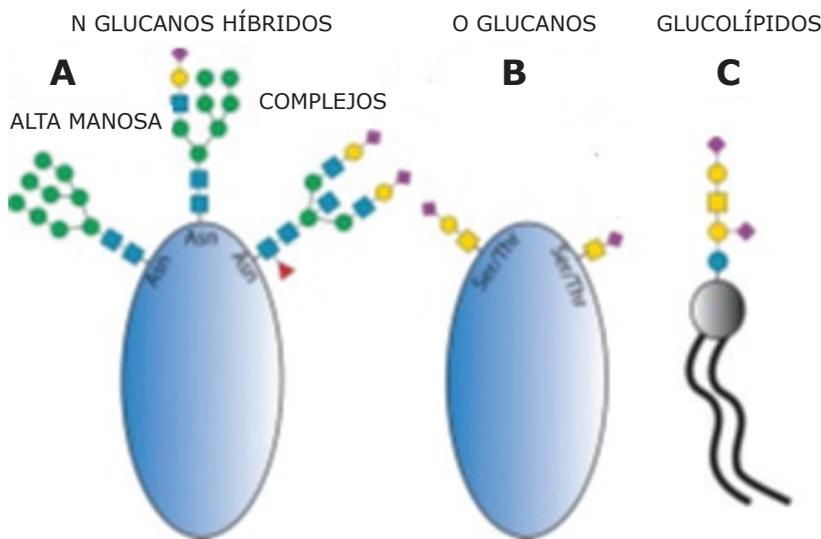


Figura 1. Representación esquemática de glicanos tipo N y tipo O en glicoproteínas y glicolípidos. A) Representación de los tres tipos de N-glicanos, los de alta manosa, los híbridos y los complejos B) ejemplos de O-glicanos C) Glicolípidos.

- N-acetil glucosamina
- Glucosamina
- Manosa
- Galactosa
- ◆ Ácido sialico
- ▲ Fucosa
- ~ Lípidos
- Proteínas

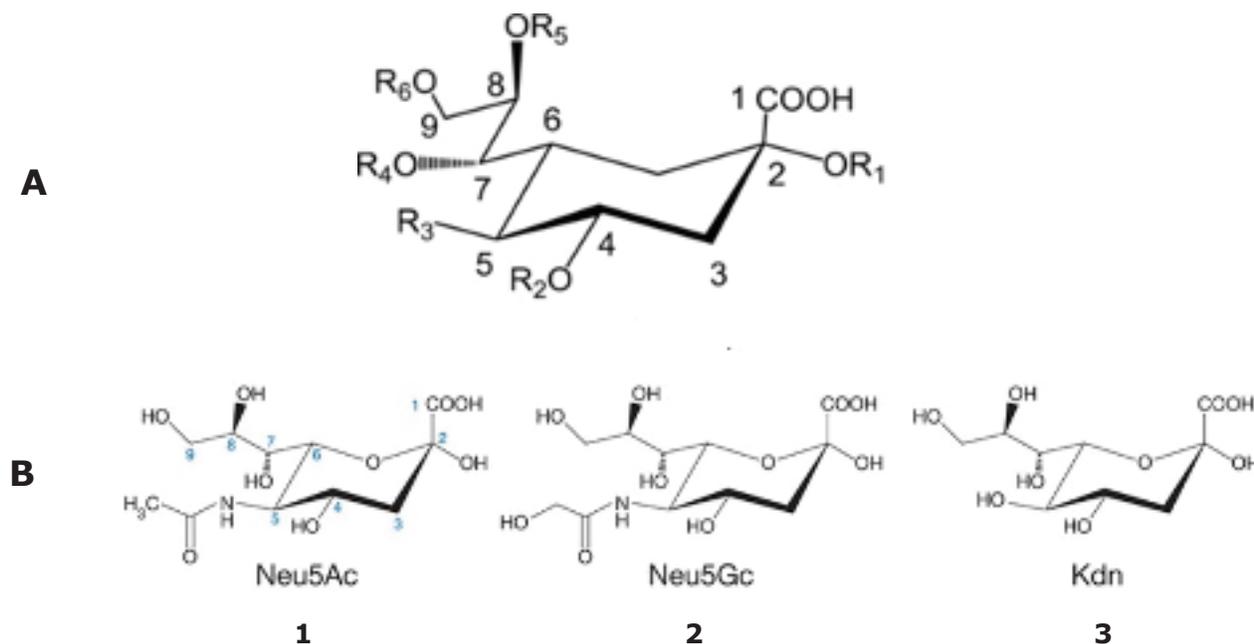


Figura 2. A) Estructura del ácido siálico sustituciones en R1= Hidroxilo (OH), Galactosa (Gal) y N-acetil galactosamina (GalNAc), en R2= Hidrógeno o acetilo, en R3= N ácido -acetilneuraminico (Neu5Ac), el ácido N ácido -glicolilneuraminico (Neu5Gc), el ácido 2-ceto-3-desoxi-nonulosónico (o ácido deaminoneuraminico) (KDN) en R4= Hidrógeno o acetilo, en R5= Hidrógeno o acetilo, en R6= Hidrógeno o acetilo B) Principales tipos de ácido siálico 1: el N ácido-acetilneuraminico (Neu5Ac), 2: el ácido N ácido -glicolilneuraminico (Neu5Gc) y 3: ácido 2-ceto-3-desoxi-nonulosónico (o ácido deaminoneuraminico) (KDN).

La O-glicosilación consiste en glicanos unidos vía N-acetilgalactosamina (GalNAc) ligada al grupo hidroxilo de residuos serina (Ser) y treonina (Thr), y es una de las formas más abundantes de glicosilación de proteínas en animales, este proceso está controlado por una familia de genes que codifican las enzimas responsables del inicio de la glicosilación. Un ejemplo de este tipo de glicoproteínas son las mucinas.

La O-glicosilación de tipo mucínico es un proceso controlado por una gran familia de hasta 20 genes homólogos que codifican UDP-GalNAc: polipéptido GalNAc-transferasa (GalNAc-Ts), con una regulación diferencial en células y tejidos, al poder generar una gran variedad de estructuras (10) (Fig. 1). Por su gran complejidad y diversidad los O-glicanos participan en la conformación de la estructura secundaria y terciaria e inclusive de la cuaternaria de algunas proteínas como las mucinas.

ÁCIDO SIÁLICO

El término de ácido siálico se utiliza para nombrar a los miembros de la familia de amino azúcares (monosacáridos) de naturaleza ácida, derivados del ácido neuramínico, que se encuentran presen-

tes como residuos terminales de las cadenas de carbohidratos de glicoconjugados (glicoproteínas y glucolípidos) involucrados en muchos fenómenos biológicos y patológicos presentes en la mayoría de las células, secreciones, fluidos y tejidos de mamíferos. El ácido N-acetilneuramínico (NANA por sus siglas en inglés) es el miembro de la familia más abundante.

El ácido siálico tiene un pKa de 2.6 relacionado con el carboxilato C-1 y el amino C-5. La cadena lateral de tipo glicerol exocíclico (C-7, C-8 y C-9, cada uno con un grupo hidroxilo) brinda oportunidades para unir hidrógeno. El grupo N-acetilo facilita las interacciones hidrofílicas, cambiando a propiedades hidrofóbicas con un grupo N-glicolilo. Cada uno de estos restos puede participar en las especificidades y funciones de unión de los glicanos que contienen ácido siálico (Fig.2a)

Los ácidos siálicos son una familia de α -cetoácidos con una cadena principal de nueve carbonos. Más de 50 formas de ácido siálico se han encontrado en la naturaleza, incluyendo el más abundante ácido-N-acetilneuramínico (Neu5Ac), el ácido N ácido-glicolilneuramínico (Neu5Gc), el ácido 2-ceto-3-desoxi-nonulosónico (o ácido deaminoneuramínico) (KDN) (Fig.2b) (11). Están unidos a carbohidratos complejos de

glicoproteínas y glicolípidos de las membranas celulares.

La estructura particular de este monosacárido es usada para activar o inhibir interacciones intermoleculares e intercelulares por su carga negativa a pH fisiológico, sin embargo, el ácido siálico puede actuar como ligando de una variedad de proteínas animales, vegetales y de origen microbiano, que reconocen azúcares conocidos como lectinas. Las glicoproteínas sialiladas se encuentran en las membranas plasmáticas y siempre se ubican de tal manera que los grupos de carbohidratos se encuentren únicamente en la superficie externa de la membrana celular, donde el ácido siálico es el último monosacárido adicionado a la cadena de oligosacáridos, por lo que funciona como sitio reconocimiento para las lectinas.

SIALILACIÓN Y CÁNCER

Durante la progresión tumoral ocurren cambios en la glicosilación de proteínas y lípidos, las alteraciones en los patrones de sialilación de las células tumorales, son consecuencia de la transformación neoplásica. Las alteraciones en los patrones de expresión del ácido siálico en el cáncer, se encuentran la expresión de antígenos sialilados de la familia Thomsen-Freidenreich y sialil Lewis, así como el aumento de ácido siálico alfa-2,6 unido al disacárido Gal β -1,4-GlcNAc (lactosamina) (Tabla 1). Estos cambios se observan en diferentes tipos de cáncer y de manera general se ha propuesto que están relacionados con alteraciones en la expresión de las sialiltransferasas encargadas de la transferencia de ácido siálico a posiciones terminales de glicoconjugados (4). El incremento en la expresión de ácido siálico se relaciona de manera positiva con la expresión de la sialiltransferasa β -galactósido α -2,6-sialiltransferasa (ST6Gal I), ya que se ha observado un aumento en el ARNm y/o en la actividad enzimática en tejido tumoral comparado con tejido normal. La importancia de esta alteración radica en la relación que existe entre el de ácido siálico en posición α -2,6 en los glicanos de los glicoconjugados de la membrana celular y ciertas

características del tumor como son la pérdida de diferenciación y una mayor capacidad invasora de las células tumorales. En algunos tipos de cáncer se ha tratado de establecer como un marcador de supervivencia de los pacientes (12).

SIALIL TRANSFERASAS

Los ácidos siálicos se unen mediante enlaces glicosídicos α -2,3 ó α -2,6 a residuos de galactosa (Gal), este último se agrega a residuos de N-acetil galactosamina (GalNAc), el ácido siálico se puede unir por enlace glicosídico α -2,8 a otro residuo de ácido siálico. Los diferentes tipos de enlace que forman, así como, la variabilidad que existe en la familia da como resultado una gran diversidad de estructuras derivadas del ácido siálico. La transferencia de ácido siálico a los oligosacáridos se da a partir de un azúcar donador activado (CMP-NeuAc), y es catalizada por una familia de enzimas llamadas sialiltransferasas (STs), estas se encuentran ancladas a la membrana de la red trans del aparato de Golgi. A la fecha, se conocen 20 sialiltransferasas las cuales presentan diferencias en la afinidad por el sustrato que reconocen y se clasifican en función del tipo de enlace que forman (Tabla 1) (12).

La expresión de estructuras con ácido siálico está regulada en espacio y tiempo, cambiando durante el desarrollo y la diferenciación. La presencia de una cierta estructura en un momento particular, es el resultado del balance total entre las actividades de sialiltransferasas y de sialidasas (neuraminidasas), así como, la actividad de otras glicosil-transferasas en el aparato de Golgi en donde se lleva a cabo el proceso (12).

El ácido siálico unido α -2,3 a residuos de galactosa (Gal) en cadenas de glicanos: Gal β -1,3-GlcNAc y Gal β -1,4-GlcNAc de los glicoconjugados, presente en muchos tipos celulares y quizá en todos los tejidos en vertebrados. En humanos la expresión de cadenas Gal β -1,3-GlcNAc está restringida principalmente a los epitelios (12). El ácido siálico α -2,6 se presenta sobre terminales de Gal o GalNAc, las estructuras formadas por la adición de ácido siálico sobre GalNAc, incluyen algunos de los antígenos Thomsen-Freidenreich como son: el

TABLA 1

FAMILIAS DE SIALIL TRANSFERASAS		
FAMILIA	ENLACE FORMADO	ENZIMAS
α -2-6 Sialiltransferasas	α -2,6-Gal/GalNAc	ST6Gal NAc I-VI
α -2-3 Sialiltransferasas	α -2,3-Gal	ST3Gal I-VI
α -2-8 Sialiltransferasas	α -2,8-Neu5Ac	ST8Sia I-VIII

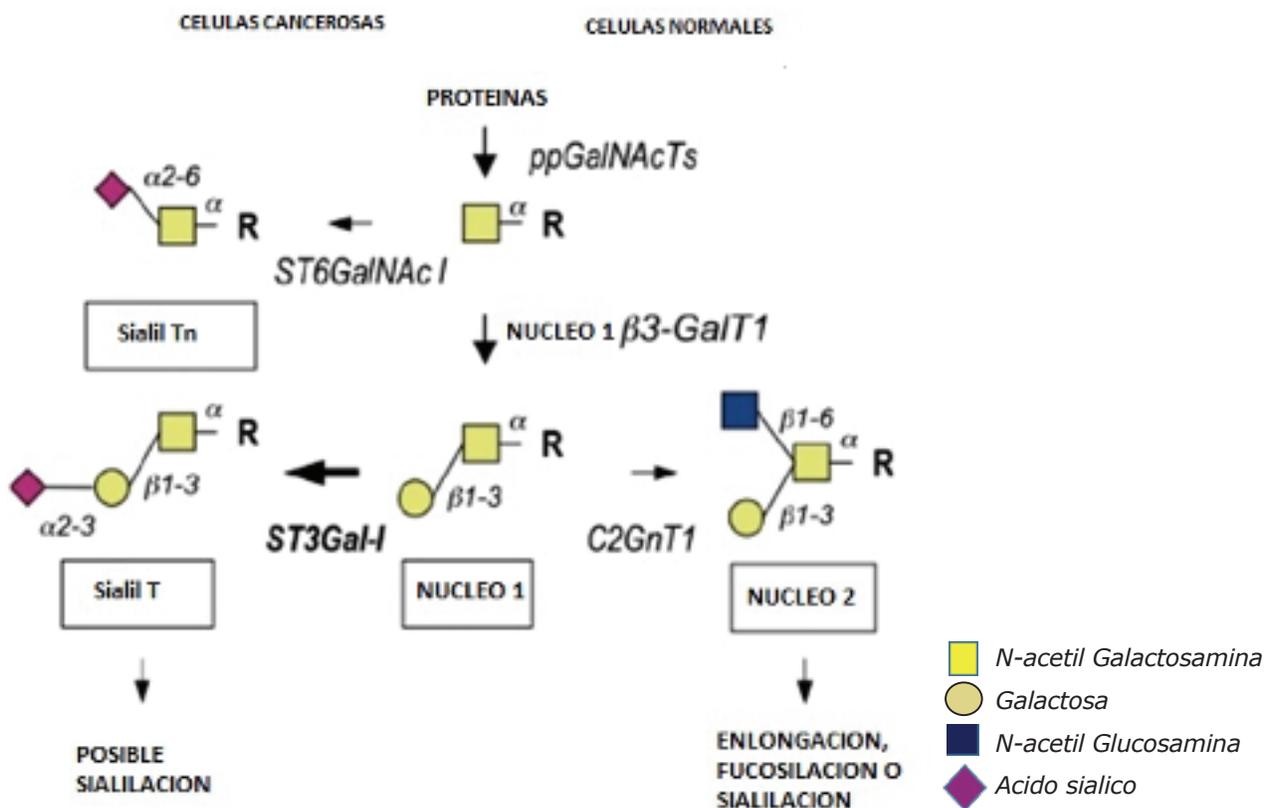


Figura 3. Biosíntesis de O- glicanos en células normales y cancerosas de la glándula mamaria. Las enzimas responsables de la biosíntesis de varias estructuras de O- glicano se indican junto a las flechas. El polipéptido GalNAc-transferasa (*ppGalNAcTs*) inicia O-glicosilación mediante la transferencia de GalNAc a residuos de serina o treonina. La α6-sialiltransferasa (*ST6GalNAc I*) sintetiza el antígeno sialil-Tn mediante la adición de un residuo sialil α6 a GalNAc. Alternativamente, la enzima núcleo 1 β3-Gal-transferasa (*C1GalT*) sintetiza el núcleo 1, el antígeno T. La estructura sialil-T es sintetizada por la α3-sialiltransferasa *ST3Gal-I*. La sialilación adicional de sialil-T puede incluir la sialilación α6 de GalNAc para formar el antígeno T disialilado y / o la sialilación α2-8 del residuo de ácido siálico unido a α3. En la glándula mamaria normal, el núcleo 2 β6-GlcNAc-transferasa (*C2GnT*) puede introducir una rama, cuyos brazos pueden alargarse y sialilarse o fucosilarse aún más.

sialil-Tn, y sialil-T, los cuales se han asociado con el grado de progresión tumoral, además durante la carcinogénesis se generan estructuras nuevas o incompletas como, sialil-Lewis X (SLx) y sialil-Lewis A (SLa) (13). (Fig.3)

El ácido siálico α-2,6 sobre Gal forma el antígeno α-2,6-sialil-lactosamina (Neu5Acα-2,6-Galβ1,4GlcNAc), el cual se observa frecuentemente en estructuras de N glicanos ramificados, ya que son portadores del disacárido Gal-β1,4- GlcNAc (lactosamina) aunque también puede estar presente en O-glicanos y en glicolípidos (14).

Dentro de los fenómenos celulares en los que participa el ácido siálico se encuentra la extravasación de leucocitos activados a sitios de inflamación o el reclutamiento de los mismos a órganos linfoides secundarios, como los ganglios linfáticos, en donde los antígenos sialil Lewis (sLew) median el reconocimiento a través de moléculas de adhe-

sión de la familia de las selectinas. El ácido siálico también modula interacciones moleculares a través del enmascaramiento de la galactosa, evitando el reconocimiento por galectinas, las cuales son una familia de lectinas de unión a galactosa que participan en una variedad de procesos que incluyen interacciones célula-célula y célula-matriz extracelular (MEC). Se sabe que la galectina-1 y la galectina-9 inducen apoptosis en células T activadas y se ha propuesto a la galectina-1 como inmunosupresor en padecimientos autoinmunes (15). También, se ha documentado la participación del antígeno α-2,6-sialil-lactosamina en fenómenos de regulación del sistema inmune, por ejemplo. El antígeno CDw75 está formado por la estructura α-2,6-sialil-lactosamina, se expresa durante la maduración de las células B en etapa de Ig+ y su expresión cesa con la diferenciación terminal a células plasmáticas (8). La adición y la remo-

ción de ácido sialico está regulada por lo que una alteración en la síntesis de estructuras sialiladas está asociada con el desarrollo de cáncer (12). La prevalencia de sialilación α -2,3 o α -2,6 también ha sido ampliamente estudiada para cada tipo de cáncer en términos de expresión de sialiltransferasas y estructuras de glicano que portan estos epítomos, los glicanos α -2,3 o α -2,6 sialilados están involucrados en conferir un fenotipo metastásico en líneas celulares de melanoma. (12). La expresión y la actividad de sialiltransferasas son interruptores importantes en el metabolismo del ácido siálico de la célula transformada por lo que son de gran importancia en el desarrollo del cáncer. (12).

ANTIGENOS Tn Y T

El antígeno Tn es el precursor del antígeno T o TF: por la acción de una β galactosil transferasa, se ha observado que la actividad de la enzima puede estar bloqueada, por aumento en la actividad de las sialil transferasas, que provoca una temprana terminación del antígeno Tn (16), que normalmente se encuentra sustituido con galactosa (Gal) o N-Acetilglucosamina (GlcNAc). Las expresiones de los antígenos sialil-Tn y sialil T se han asociado con adenocarcinoma gástrico difuso, cáncer de pulmón, cáncer cervico-uterino, cáncer de hígado y cáncer de mama.

En el cáncer de mama el antígeno Tn se expresa en el 90% de los casos, mientras que el sialil Tn se expresa entre un 20 y 25%. La sobreexpresión de la sialiltransferasa ST3Gal-I produce la expresión de ST (16), mientras que la expresión de STn se debe a la activación de la transcripción de la sialiltransferasa ST6GalNAc-I (17). Mutaciones en el gen que codifica COSMC, (una chaperona), resulta en la pérdida de la actividad de la T sintasa. En el cáncer de mama, los glicanos T y ST se expresan junto con el antígeno Tn, lo que sugiere que la pérdida de la función COSMC no desempeña un papel importante en la expresión de Tn.

El antígeno Tn puede ser sialilado en la posición C6 de GalNAc, dando como resultado el disacárido Neu5Ac α 2-6GalNAc-Ser/Thr (sTn), sTn está ausente en tejidos sanos normales, pero se puede expresar en casi todos los tipos de carcinomas. La enzima ST6GalNAc I cataliza la transferencia de ácido siálico a GalNAc *in vivo* (18). Se ha propuesto que la mutación COSMC era necesaria para proporcionar el sustrato aceptor de Tn a ST6GalNAc I para sintetizar el antígeno sTn (18). Sin embargo, se ha demostrado que la transfección del cDNA de ST6GalNAc I es suficiente para inducir la expresión de sTn en varias líneas celulares de cáncer de mama que expresan glicanos del núcleo 1 y 2 (18), lo que

demuestra que ST6GalNAc I en cáncer de mama es variable, al menos 25 a 30% de los diferentes tipos de cáncer de mama son positivos para sTn (19). El 25% de muestras provenientes de mujeres diagnosticadas con carcinoma ductal invasivo fueron positivas al anticuerpo B72.3 mientras que el 60% de las muestras estudiadas fueron positivas al anticuerpo con HB-STn1 (20). Kinney y sus colegas propusieron que la expresión de sTn era un factor de mal pronóstico del cáncer de mama (21). Miles, informó de una correlación significativa de la expresión de sTn con la disminución de la supervivencia en el grupo restringido de pacientes con ganglios positivos, mientras que Leivonen, limita la asociación al pronóstico a corto plazo (22).

ANTIGENO SIALIL LEWIS (sLw)

Los antígenos Lewis se encuentran en la mayoría de los tejidos epiteliales humanos, donde se localiza en la parte terminal de las cadenas de glucolípidos y glucoproteínas (23). Estos antígenos se derivan de la sustitución en las secuencias del disacárido de tipo 1 (Gal β 1-3GlcNAc) o de tipo 2 (Gal β 1-4GlcNAc) por residuos de fucosa y ácido siálico respectivamente (Fig. 4). Le^a, Le^b y sLe^a derivan de secuencias de tipo 1, y Le^x, Le^y y sLe^x derivan de tipo 2

La biosíntesis de antígenos Lewis sialilados (sLe^a y sLe^x) requiere primero la α 2,3-sialilación de Gal antes de la α 1,3 / 4-fucosilación ST3Gal III [(23), que actúa preferentemente sobre los disacáridos de tipo 1, participa en la síntesis de sLe^a. ST3Gal IV y ST3Gal VI actúan sobre el disacárido tipo 2, lo que lleva a la biosíntesis de sLe^x, pero ambos también comparten la especificidad con ST3Gal III. Para la fucosilación posterior, FucT III es la enzima principal involucrada en la biosíntesis de sLe^a, mientras que FucT VII muestra una especificidad de sustrato restringida ya que solo puede formar sLe^x (24).

La expresión de los antígenos sialil-Lewis (sLw) generalmente se altera en el cáncer de mama. La glándula mamaria comúnmente expresa Le^x, principalmente en la parte apical de los conductos celulares junto con mucina uno (MUC1). Los epítomos sLe^x y sLe^y también pueden detectarse a veces en la glándula mamaria normal, pero con una intensidad baja (25). Por el contrario, la expresión sLe^a y sLe^x aumenta en los tejidos de cáncer de mama, incluidas las lesiones primarias de la glándula mamaria (24). No obstante, los niveles de expresión de sLe^x son más altos en pacientes con metástasis en comparación con pacientes que presentan cáncer no metastásico (24). La expresión de los antígenos sialil-Lewis es débil en el carcinoma *in*

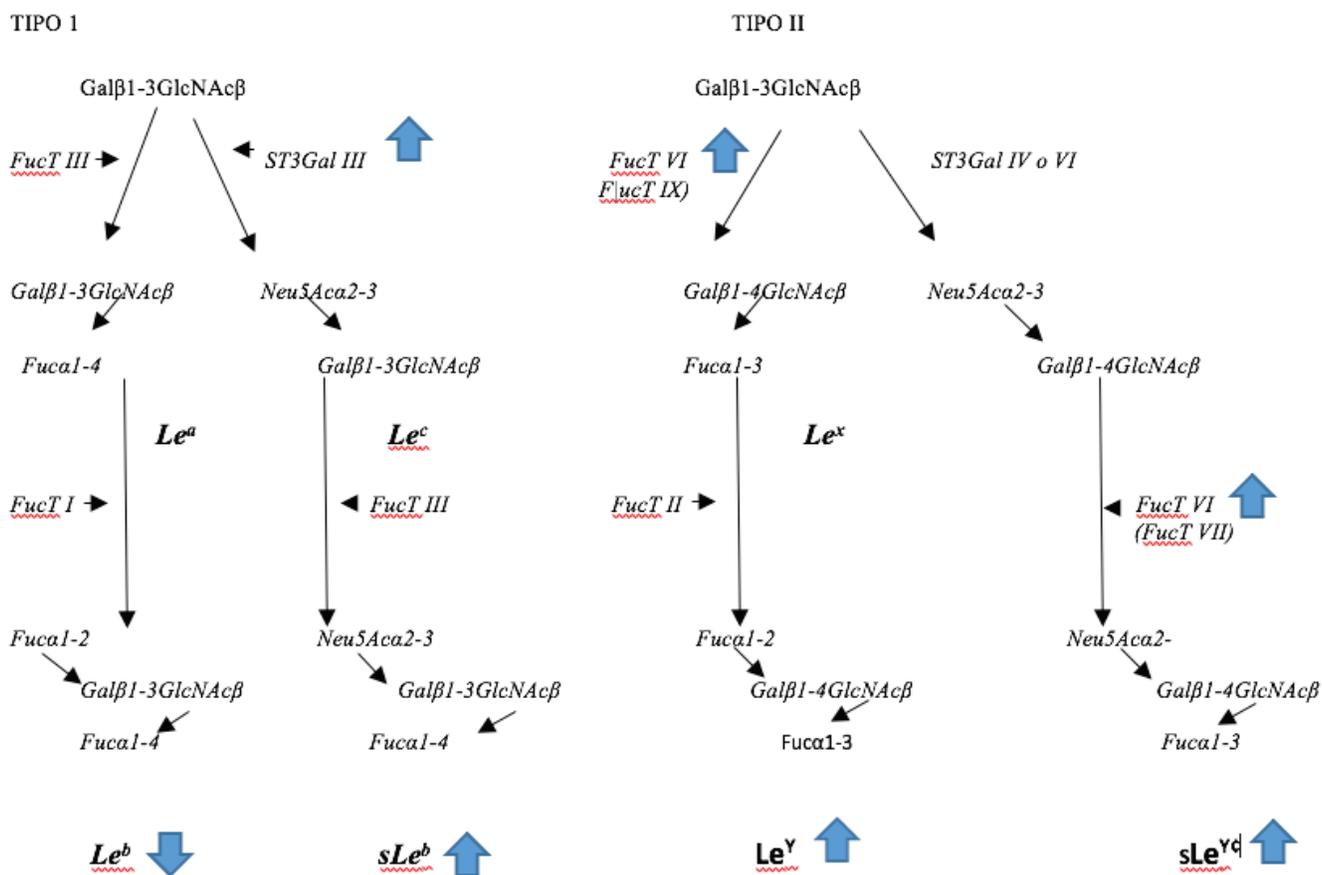


Figura 4. Síntesis de los antígenos Lewis. Los antígenos de Lewis se derivan de la sustitución del tipo 1 (Galβ1-3GlcNAc) o del tipo 2 (Galβ1-4GlcNAc) secuencias de disacárido por residuos de fucosa y ácido siálico. El nombre del antígeno se indica junto a la estructura de glicano. Las enzimas implicadas en las vías biosintéticas se indican en cursiva entre las cuales destacan: Fucosil transferasa (FucT) I, II, III, VI, VII y IX; sialil transferasas: ST3Gal III, ST3Gal IV y ST3Gal VI. Flechas en azul: antígenos alterados en el cáncer de mama, las flechas hacia abajo indican disminución, las flechas hacia arriba indican un aumento.

situ, es moderada en los carcinomas invasivos sin metástasis y es alta en el carcinoma primario con metástasis en los ganglios linfáticos, mostrando una buena correlación con el riesgo metastásico en pacientes con cáncer de mama (24). La inmunohistoquímica del tejido del cáncer de mama sugiere que la expresión de sLex es un indicador pronóstico de supervivencia independientemente del tamaño del tumor primario y la afectación de los ganglios linfáticos (24). Una expresión reducida de antígenos tipo 1 y una mayor expresión de antígenos tipo 2 en cáncer de mama, y la expresión relativa de antígenos de tipo 2 parece ser capaz de servir como factor pronóstico. Hasta el 80% de los tumores de mama han perdido la expresión del antígeno Le^b, lo que se correlaciona con el grado de malignidad e invasividad (24).

El antígeno Le^y también se sobre expresa en 60 a 90% de los cánceres de origen epitelial, incluido

el cáncer de mama (25). El nivel de expresión de sLex también aumenta en el suero de pacientes con cáncer de mama avanzado (25) y, por lo tanto, es un buen candidato como marcador de diagnóstico. En combinación con el antígeno de suero CA15-3, el marcador de cáncer de mama más utilizado, la medición de sLex en suero puede mejorar el monitoreo: para el 78.5% de casos de cáncer de mama metastásico detectado, en comparación con el 61.5% cuando solo se usa el antígeno de cáncer 15-3 (CA15-3) (26). Un estudio clínico mostró que la alta expresión de Le^y se correlacionó con una disminución significativa de la supervivencia de las pacientes con carcinoma de mama con ganglios linfáticos negativos. Al mostrar una expresión restringida en las superficies epiteliales de los tejidos normales, Le^y también constituye un buen candidato para la inmunoterapia contra el cáncer (25).

GANGLIÓSIDOS EN EL CÁNCER DE MAMA

Los gangliósidos son lípidos de la membrana plasmática de las células, especialmente en los tejidos en desarrollo y el sistema nervioso central adulto, derivan estructural y biosintéticamente de lactosilceramida (LacCer) y de residuos de azúcar, incluidos el ácido siálico, la N-acetilgalactosamina y la galactosa, se transfieren de forma gradual por una serie de Glicosil Transferasas (GT) específicas. G_{M3} , G_{D3} y G_{T3} son los puntos de partida para la biosíntesis de los gangliósidos serie a, serie b y serie c, respectivamente (Fig. 5). Las cantidades relativas de estos glicoesfingolípidos determinan la cantidad de gangliósidos complejos de cada serie. Por lo tanto, la cantidad de lados ganglio complejos depende del nivel de expresión y actividad de varias GT sintasas, incluyendo G_{M3} (ST3Gal V), G_{D3} (ST8Sia I), G_{T3} (ST8Sia V) y $G_{M2/D2}$ ($\beta 1,4$ -GalNAc T1).

Los gangliósidos G_{M3} , G_{D3} y los derivados 9-O-acetil- G_{D3} (antígeno CDw60) y 9-O-acetil- G_{T3} , que muestran una expresión muy restringida en tejidos mamarios normales, aumentan aproximadamente el 50% en el carcinoma ductal infiltrante (27).

La expresión de glicosil transferasas implicadas en la biosíntesis de gangliósidos también puede alterarse en los tumores de cáncer de mama. Dos estudios clínicos han demostrado que la sintasa G_{D3} (ST8Sia I) mostró una mayor expresión entre los tumores de cáncer de mama con receptores de estrógenos negativos (28). La sobreexpresión de ST8SIA1 se asoció con una pobre clasificación histológica en los tumores negativos al receptor de estrógenos y una menor supervivencia de los pacientes (29). Por el contrario, se observó un mejor pronóstico para las muestras positivas para receptores de estrógenos con alta expresión de ST8SIA1 (30).

EL DESARROLLO DE UNA TERAPIA

En el cáncer de mama se expresan O-glicanos truncados basados en núcleo 1, incluidos los antígenos T, Tn y sTn. La expresión de los antígenos sialil-Lewis también se altera, con una buena correlación con el riesgo metastásico, y los gangliósidos complejos se sobre expresan en carcinoma ductal infiltrante. Algunos de estos antígenos se

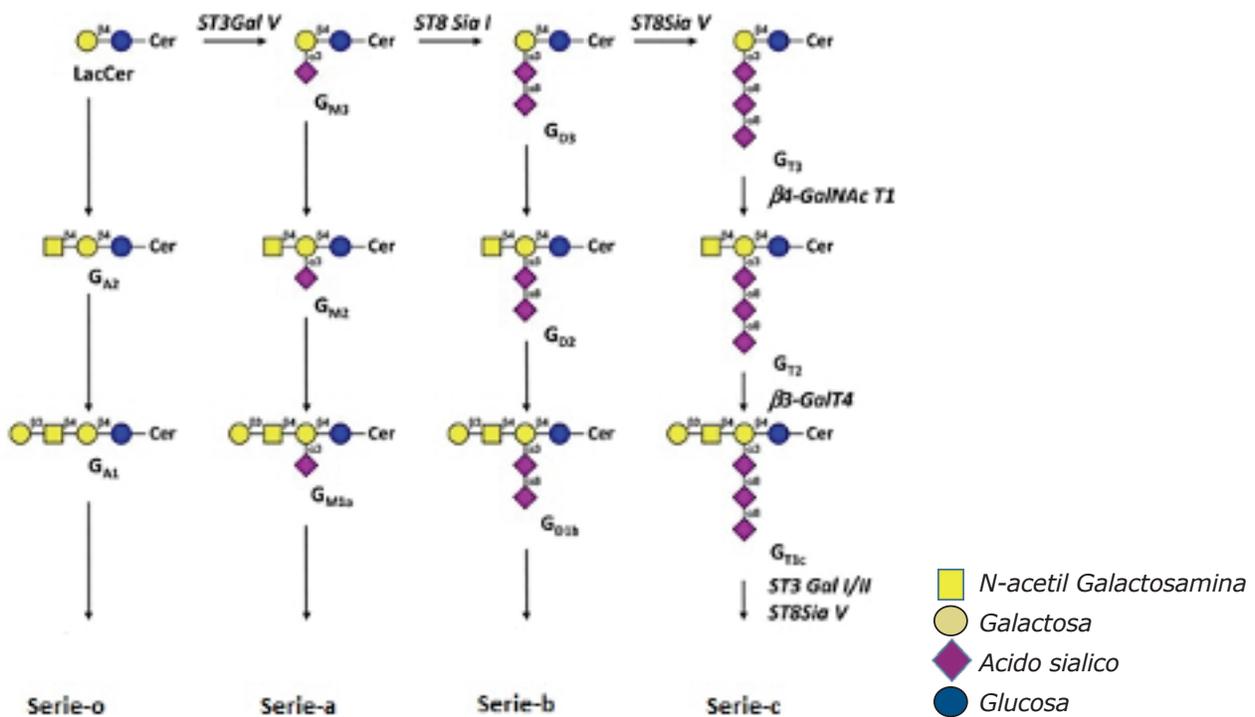


Figura 5. La acción de ST3Gal V (sintasa G_{M3}), ST8Sia I (sintasa G_{D3}) y ST8Sia V (sintasa G_{T3}) conduce a la biosíntesis del precursor de los gangliósidos serie a, serie b y serie c, respectivamente. Los gangliósidos de la serie o se sintetizan directamente a partir de lactosilceramida (LacCer). El alargamiento de los gangliósidos complejos se realiza por la acción secuencial de N-acetil-galactosaminiltransferasa ($\beta 4$ -GalNAc T1), galactosiltransferasa ($\beta 3$ -GalT4) y sialiltransferasas (ST3Gal I, ST3Gal II y ST8Sia V).

han propuesto como marcadores de mal pronóstico (por ejemplo, sLe^x o sTn), aún no han llegado a la clínica por falta de una metodología adecuada para su detección. El marcador de pronóstico en el cáncer de mama sigue siendo la invasión de los ganglios linfáticos determinada durante la cirugía. A menos que otro marcador demuestre ser de calidad superior o independiente de la afectación de los ganglios linfáticos, es poco probable que sea útil para la aplicación clínica. Estos antígenos están asociados con la invasión de ganglios linfáticos, restringidos a grupos específicos de pacientes, su uso como marcadores de pronóstico parece bastante limitado, diferentes métodos pueden aprovechar la expresión de antígenos glicosilados para tratar el cáncer de mama, como bloquear su biosíntesis o usarlos como dianas moleculares en inmunoterapia. Se ha demostrado que bloquear la biosíntesis de los glicanos cambia el fenotipo de las células de cáncer de mama *in vitro*, haciéndolas menos agresivas (30). Sin embargo, este enfoque es difícil de adaptar a la terapia humana porque tanto las células sanas como las cancerosas utilizan sus glicanos en interacciones célula-célula. Existe alto riesgo de que los efectos de un inhibidor químico actúe tanto en células sanas y las células cancerosas por igual. Para seguir desarrollándose, este campo tendrá que esperar la mejora de los sistemas de focalización, como las nanotecnologías (31).

La expresión de las glicosil transferasas implicados en la biosíntesis de los antígenos glicosilados. Todavía se sabe poco sobre los mecanismos moleculares que conducen a la expresión aberrante de las glicosil transferasas en el cáncer. La ganancia o pérdida de la expresión de glicosil transferasas podría atribuirse a la pérdida de integridad cromosómica que a menudo se observa en el cáncer, lo que lleva a la duplicación, eliminación o transposición de segmentos cromosómicos que involucran genes de glicosiltransferasa, se ha demostrado que la expresión elevada de ST6Gal I en células W16 murinas es el resultado de la reorganización del DNA en el locus *st6gal1* como resultado de la transposición de un elemento de tipo retroviral río arriba del ORF *st6gal1* (32). Sin embargo, los cambios en la expresión génica no siempre reflejan los reordenamientos genómicos, ya que la comparación de la matriz de hibridación genómica comparativa y la de micro arreglos de RNA no siempre muestran

una correlación absoluta. La expresión de los genes de glicosil transferasas y sus enzimas a menudo está regulada a nivel transcripcional (33) y varios ejemplos han demostrado que los genes de las enzimas glicosil transferasas, incluidos ST6GAL1 y MGAT5, pueden ser regulados por oncogenes. Solo se ha caracterizado un número limitado de promotores de genes GT (33), y este campo necesita más datos para comprender qué factores de transcripción, vías de señalización y, finalmente, receptores de membrana están involucrados en el cáncer.

La inmunoterapia se ha investigado a fondo durante los últimos 40 años como un enfoque alternativo para el tratamiento del cáncer. Como los glicanos son inmunogénicos. Las vacunas anti-idiotipo basadas en gangliósidos se centran en N-glicolil-GM₃ contra el cáncer de mama. El anticuerpo mAb 1E10 (Racotumomab) es una vacuna anti-idiotipo contra mAb P3, que reconoció Neu5Gc-GM3. La vacunación con 1E10 de ratones BALB / c desafiados con el carcinoma murino F3II conduce a la supresión del crecimiento del tumor y una disminución de la metástasis pulmonar. Además, el efecto antitumoral de 1E10 se potencia mediante la combinación con una dosis baja de ciclofosfamida (34).

Los haptenos agrupados del antígeno sTn conjugados con la hemocianina de lapa californiana (Theratope™; Biomira, Edmonton, AB, Canadá) también se han utilizado para inmunizar a pacientes con cáncer de mama (35). Aunque los resultados del primer ensayo clínico de fase III no mostraron un beneficio significativo. La falta de beneficio significativo para la población total podría explicarse por la baja representación de los pacientes que presentan tumores sTn positivos (25 a 30%). Recientemente, Theratope™ indujo la protección tumoral en un modelo murino. La protección dependía de los anticuerpos anti-sTn generados por la inmunización, los anticuerpos anti-sTn reconocieron una amplia gama de proteínas positivas para sTn expresadas por carcinomas (36).

El futuro del tratamiento del cáncer de mama podrá apoyarse en una combinación de estrategias personalizadas y de focalización múltiple, donde los antígenos glicosilados asociados a cáncer de mama debido a su perfil de expresión y su función, serán objetivos moleculares terapéuticos.



REFERENCIAS

1. Varki A y Kornfeld S (2017). *Essentials of Glycobiology*, 3rd edition (Tercera ed.). Cold Spring Harbor (NY), E.U.: Cold Spring Harbor Laboratory Press.
2. Taniuchi K, Cerny RL, Tanouchi A, Kohno K, Kotani N, Honke K, Saibara T, Hollingsworth MA. (2011). Overexpression of GalNAc-transferase GalNAc-T3 promotes pancreatic cancer cell growth. *Oncogene*, 30(49), 4843–4854. <https://doi.org/10.1038/onc.2011.194>.
3. Gallegos Velasco I B, Coutiño R, Martínez G y Hernández P (2008). Marcadores glicosilados en cáncer de mama. *Revista de Educación Bioquímica* 27:52-59
4. Christiansen MN, Chik J, Lee L, Anugraham M, Abrahams JL, Packer NH. Cell surface protein glycosylation in cancer. (2014). *Proteomics*. 14:525-546.
5. Zejian Zhang, Wuhner, M. Holst, S. (2018). Serum sialylation changes in cancer. *Glycoconjugate Journal*, 35:139–160.
6. Hakomori S. (2002) Glycosylation defining cancer malignancy: new wine in an old bottle. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 99:10231-10233
7. Suzuki T, Kitajima K, Inoue S, Inoue Y. (1995) N-glycosylation/deglycosylation as a mechanism for the post-translational modification/remodification of proteins. *Glycoconj J*. 12:183-193.
8. B S GK, Surolia A. (2017) Comprehensive analysis of a 2-3-linked sialic acid specific *Maackia amurensis* leukagglutinin reveals differentially occupied N-glycans and C-terminal processing. *Int J Biol Macromol*. 94:114-121.
9. Burchell JM, Beatson R, Graham R, Taylor-Papadimitriou J, Tajadura-Ortega V. (2018). O-linked mucin-type glycosylation in breast cancer. *Biochem Soc Trans*. 46:779-788.
10. Bennett E, Mandel U, Clausen H, Gerken T, Fritz T y Tabak, L. (2012). Control of mucintype O-glycosylation: A classification of the polypeptide GalNAc-transferase gene family. *Glycobiology*. 22:736–756.
11. Nissi M. Varki, Elizabeth Strobert, Edward J. Dick Jr., Kurt Benirschke, Ajit Varki (2011). Biomedical differences between human and nonhuman hominids: potential roles for uniquely human aspects of sialic acid biology. *Annu Rev Pathol*. 6:365-393.
12. López Morales D, Vallejo V. (2007). Expresión de ácido sialico y de la β -galactósido α -2,6-sialiltransferasa en cáncer. *Revista de Educación Bioquímica* 26(3):93-98.
13. Dall’Olio F, Chiricolo M (2001) Sialyltransferases in cancer. *Glycoconj J* 18:841-850.
14. Dall’Olio F (2000) The sialyl- α 2,6-lactosaminyl structure: biosynthesis and functional role. *Glycoconj J* 17:669-676.
15. Zhuang D, Yousefi S, Dennis JW (1991) Tn antigen and UDP-Gal:GalNAc α -R β 1-3Galactosyltransferase expression in human breast carcinoma. *Cancer Biochem Biophys*. 12:185-98.
16. Dhawan, P, and Richmond A. (2002) Role of CXCL1 in tumorigenesis of melanoma. *J. Leukoc. Biol*. 72, 9–18.
17. Heo SH, Lee JY, Yang K.M, and Park KS. (2015) ELK3 Expression Correlates With Cell Migration, Invasion, and Membrane Type 1-Matrix Metalloproteinase Expression in MDA-MB-231 Breast Cancer Cells. *Gene Expression* 16, 197–203.
18. Julien S, Krzewinski-Recchi MA, Harduin-Lepers A, Gouyer V, Huet G, Le Bourhis X, Delannoy P (2001) Expression of sialyl-Tn antigen in breast cancer cells transfected with the human CMP-Neu5Ac: GalNAc α 2,6-sialyltransferase (ST6GalNAc I) cDNA. *Glycoconj J*. 18:883-893.
19. Sewell R, Backstrom M, Dalziel M, Gschmeissner S, Karlsson H, Noll T, Gatgens J, Clausen H, Hansson GC, Burchell J, Taylor-Papadimitriou J (2006). The ST6GalNAc-I sialyltransferase localizes throughout the Golgi and is responsible for the synthesis of the tumor-associated sialyl-Tn O-glycan in human breast cancer. *J Biol Chem*. 281: 3586-3594.
20. Julien S, Delannoy P (2003) Sialyl-Tn antigen in cancer: from diagnosis to therapy. *Recent Research Developments in Cancer*. Edited by: Pandalai SG, Kerala: Transworld Research Network, 5:185-199
21. Kinney AY, Sahin A, Vernon SW, Frankowski RF, Annegers JF, Hortobagyi GN, Buzdar AU, Frye DK, Dhingra K (1997). The prognostic significance of sialyl-Tn antigen in women treated with breast carcinoma treated with adjuvant chemotherapy. *Cancer*. 80:2240-2249.
22. Leivonen M, Nordling S, Lundin J, von Boguslawski K, Haglund C (2001) STn and prognosis in breast cancer. *Oncology*. 61: 299-305.

23. Kitagawa H, Paulson JC (1993) Cloning and expression of human Gal beta 1,3(4) GlcNAc alpha 2,3-sialyltransferase. *Biochem Biophys Res Commun.* 194:375-382. 10.1006/bbrc.1993.1830.
24. Cazet A, Julien S, Bobowski M, Bouchel I J, Delannoy P. (2010). Tumour-associated carbohydrate antigens in breast cancer. *Breast Cancer Res* 12, 204
25. Matsuura N, Narita T, Mitsuoka C, Kimura N, Kannagi R, Imai T, Funahashi H, Takagi H (1997). Increased level of circulating adhesion molecules in the sera of breast cancer patients with distant metastases. *Jpn J Clin Oncol.* 27: 135-139.
26. Kelly MP, Lee FT, Smyth FE, Brechbiel MW, Scott AM (2006) Enhanced efficacy of 90Y-radiolabeled anti-Lewis Y humanized monoclonal antibody hu3S193 and paclitaxel combined-modality radioimmunotherapy in a breast cancer model. *J Nucl Med.* 47:716-725.
27. Marquina G, Waki H, Fernandez LE, Kon K, Carr A, Valiente O, Perez R, Ando S: (1996). Gangliosides expressed in human breast cancer. *Cancer Res.* 56:5165-5171.
28. Ruckhaberle E, Rody A, Engels K, Gaetje R, von Minckwitz G, Schiffmann S, Grosch S, Geisslinger G, Holtrich U, Karn T, Kaufmann M (2008) Microarray analysis of altered sphingolipid metabolism reveals prognostic significance of sphingosine kinase 1 in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.*, 112:41-52.
29. Ruckhaberle E, Karn T, Rody A, Hanker L, Gatje R, Metzler D, Holtrich U, Kaufmann M (2009). Gene expression of ceramide kinase, galactosyl ceramide synthase and ganglioside GD3 synthase is associated with prognosis in breast cancer. *J Cancer Res Clin Oncol.* 135: 1005-1013.
30. Goss PE, Baker MA, Carver JP, Dennis JW(1995) Inhibitors of carbohydrate processing: a new class of anticancer agents. *Clin Cancer Res.* 1:935-944.
31. Tanaka T, Decuzzi P, Cristofanilli M, Sakamoto JH, Tasciotti E, Robertson FM, Ferrari M (2009). Nanotechnology for breast cancer therapy. *Biomed Microdevices.* 11:49-63.
32. Lo NW, Dennis JW, Lau JT (1999). Overexpression of the alpha2,6-sialyltransferase, ST6Gal I, in a low metastatic variant of a murine lymphoblastoid cell line is associated with appearance of a unique ST6Gal I mRNA. *Biochem Biophys Res Commun.* 264:619-621.
33. Taniguchi A (2008). Promoter structure and transcriptional regulation of human beta-galactoside alpha2, 3-sialyltransferase genes. *Curr Drug Targets.*, 9:310-316.
34. Fuentes D, Avellanet J, Garcia A, Iglesias N, Gabri MR, Alonso DF, Vazquez AM, Perez R, Montero E (2010) Combined therapeutic effect of a monoclonal antiidiotype tumor vaccine against NeuGc-containing gangliosides with chemotherapy in a breast carcinoma model. *Breast Cancer Res Treat.* 120:379-389.
35. Miles D, Papazisis K (2003) Rationale for the clinical development of STn-KLH (Theratope) and anti-MUC-1 vaccines in breast cancer. *Clin Breast Cancer.* 3 (Suppl 4):S134-S138.
36. Julien S, Picco G, Sewell R, Vercoutter-Edouart AS, Tarp M, Miles D, Clausen H, Taylor-Papadimitriou J, Burchell JM (2009) Sialyl-Tn vaccine induces antibody-mediated tumour protection in a relevant murine model. *Br J Cancer.* 100:1746-1754.

TOR (TARGET OF RAPAMYCIN): EMPERADOR EN LA TOMA DE DECISIONES QUE REGULA EL CRECIMIENTO Y DESARROLLO DE LAS PLANTAS*

Kenia Salazar Díaz¹ y Tzvetanka D. Dinkova^{1,2}

¹Departamento de Bioquímica, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, México.

²Autor de correspondencia: cesy@unam.mx

RESUMEN

La señalización por la vía de Target Of Rapamycin (TOR) es esencial en la integración de estímulos ambientales, disponibilidad de nutrientes y energía con el control por factores de crecimiento, señales de desarrollo y diferenciación en organismos eucariontes. En las plantas, su descubrimiento y caracterización son más recientes y se ha estudiado poco en especies relevantes agrónomicamente. Específicamente, se describió una vía similar a la del complejo TORC1 de mamíferos pero con particularidades del linaje vegetal que involucran la respuesta a fitohormonas y a la luz, la adaptación a estrés y el control del ciclo de vida de la planta. TOR tiene un gran impacto en el perfil metabólico, la proliferación/diferenciación celular y la regulación de la expresión genética en respuesta a glucosa, auxinas y estrés. Aquí se describen los componentes principales de la vía TOR en la planta modelo *Arabidopsis*, la señalización río arriba de TOR, los procesos que regula y algunos de los hallazgos que la presentan como un blanco atractivo para el mejoramiento de cultivos.

ABSTRACT

The Target Of Rapamycin (TOR) pathway is essential for the integration of environmental signals, nutrients and energy availability with growth factors control on development and differentiation in eukaryotic organisms. Discovery and characterization of the pathway in plants is more recent and has been poorly studied in crops. Specifically, a pathway similar to that corresponding to the mammalian TORC1 complex was described, but with peculiarities of the plant lineage involving responses to phytohormones and light, stress adaptation and plant life span control. TOR has important impacts on the metabolic profile, cell proliferation/differentiation balance and coordination of gene expression in response to glucose, auxins and stress. Here we describe the main components of the TOR pathway discovered in the model plant *Arabidopsis*, upstream of TOR signaling, downstream processes regulation, and present some of the findings as an attractive target for crop improvement.

Introducción

En organismos eucariontes existe una vía de señalización conservada que actúa como regulador maestro para integrar la disponibilidad de nutrientes y energía con el crecimiento (1, 2). La proteína central de esta vía es la cinasa TOR (*Target Of*

Rapamycin) que fue descrita por primera vez en levaduras, donde se identificó como blanco de la rapamicina, una molécula con actividad antifúngica aislada de una bacteria del suelo en la Isla de Pascua (Rapa Nui) (3). En células de animales y levaduras TOR forma dos complejos proteicos denominados TORC1 y TORC2. El primero está

PALABRAS

CLAVE:

Crecimiento, desarrollo, plantas, TOR, transducción de señales.

KEY WORDS:

Development, growth, plants, signal transduction, TOR.

constituido por la cinasa TOR, LST8 (*Lethal with Sec Thirteen8*) y RAPTOR (*Regulatory Associated Protein of mTOR*) y regula el crecimiento celular, la traducción y autofagia. El complejo TORC2, además de la cinasa y LST8, está integrado por la proteína RICTOR (*Rapamycin Insensitive Companion of mTOR*), y a diferencia de TORC1 es insensible a la rapamicina. TORC2 regula el crecimiento polarizado de la célula, el citoesqueleto de actina y la proliferación celular (4, 5). La mutación de cualquiera de los componentes principales de TORC1,2 es letal desencadenando el arresto del crecimiento durante el desarrollo embrionario.

A partir de su descripción en levaduras y células animales, la proteína TOR y su compleja vía de señalización comenzaron a describirse en otros eucariontes. Diez años después de su identificación, en el año 2002, se describió TOR en la planta modelo *Arabidopsis thaliana* (6). Hasta el momento, en plantas solo se ha identificado un complejo similar a TORC1, ya que no presentan homólogos a RICTOR. Aunque las funciones de TOR en plantas están conservadas con respecto a otros eucariontes, la señalización río arriba y los mecanismos efectores del complejo requieren elementos específicos que permitan la adaptación al entorno y a señales de desarrollo para la iniciación de nuevos órganos. La investigación actual se centra en el estudio de los estímulos que regulan la actividad de TOR, los efectos de la vía en el crecimiento y aunque menos explorado, la identificación de blancos específicos de plantas. En este artículo presentamos los avances en la identificación de proteínas de la vía TOR en plantas, los principales procesos moleculares que regula y su impacto en el crecimiento y desarrollo en respuesta a estímulos hormonales, nutrientes y condiciones del entorno abiótico.

La vía TOR sensora del metabolismo central está conservada en eucariontes

Los organismos eucariontes sensan las condiciones de su ambiente y en respuesta a estas se produce la adaptación de su metabolismo y cambios en el comportamiento. Algunas de estas variaciones están relacionadas con el entorno biótico o abiótico como infecciones por patógenos, cambios de temperatura, incremento en la competencia por nutrientes, entre otras. La vía TOR se encuentra altamente conservada en eucariontes y es un eje central que percibe el estatus de la célula y en respuesta regula la expresión génica, la distribución de recursos energéticos y nutricionales y permite la adaptación del organismo.

En la levadura *Saccharomyces cerevisiae* se encontró que la rapamicina inhibe el ciclo celular

en la fase G1 y que mutaciones en los genes *fpr1* y *tor1;2* confieren resistencia a su inhibición, por lo que se propusieron como los blancos del fármaco (Figura 1). El gen *fpr1* codifica una prolina isomerasa que participa en el plegamiento de proteínas, denominada FKBP debido a que se une y es inhibida por la molécula FK506. FK506 y la rapamicina tienen actividad inmunosupresora, pero afectan diferentes vías de señalización (3). Por otro lado, se identificaron dos mutantes en genes parálogos denominados *tor1-1* y *tor2-1* que codifican una proteína de la familia PIKK (cinasas similares a PI3K: fosfatidilinositol-3-cinasa) con actividad treonina/serina cinasa.

En células animales se utilizó un acercamiento bioquímico para la identificación de la proteína blanco de rapamicina. En una purificación por afinidad, se encontró asociada al complejo FKBP/rapamicina una proteína, la cual inicialmente se denominó FRAP (*FKBP Rapamycin Associated Protein*). El aislamiento del transcrito permitió demostrar que su secuencia era muy similar a TOR1;2 de levadura y que la proteína es un ligando directo del complejo FKBP/rapamicina (7). TOR se compone de 5 dominios conservados (Fig. 1). El dominio HEAT está formado por repeticiones de aproximadamente 40 aminoácidos que se pliegan en dos α -hélice antiparalelas y está involucrado en la interacción proteína-proteína. El dominio FAT se compone de repeticiones HEAT y tetratricopéptido e interactúa con el dominio cinasa a través de residuos conservados. FRB es el sitio de unión del complejo FKBP12-rapamicina y regula la entrada de sustratos al sitio activo. FATC es un dominio de andamiaje y participa en la conformación del sitio activo. En células animales este dominio es esencial para la actividad catalítica de TOR.

TOR se asocia a RAPTOR y LST8 para formar el complejo TORC1, principal regulador de procesos anabólicos que permiten el crecimiento celular, como la biogénesis de ribosomas, síntesis de DNA y transcripción en respuesta a nutrientes y factores de crecimiento (8). RAPTOR es importante para la localización del complejo en lisosomas y su activación, así como para el reconocimiento de sustratos. LST8 es necesario para la conformación del sitio activo, la actividad catalítica de TOR y posiblemente para la regulación de la entrada de sustratos al sitio activo (9,10). TORC2 contiene LST8 y la proteína regulatoria RICTOR en lugar de RAPTOR. La unión de RICTOR bloquea la asociación de TORC2 con FKBP-12 confirándole insensibilidad a la rapamicina. TORC2 también es activado en respuesta a factores de crecimiento e insulina pero controla procesos diferentes a TORC1 como el metabolismo de la glucosa, lipogénesis y migra-

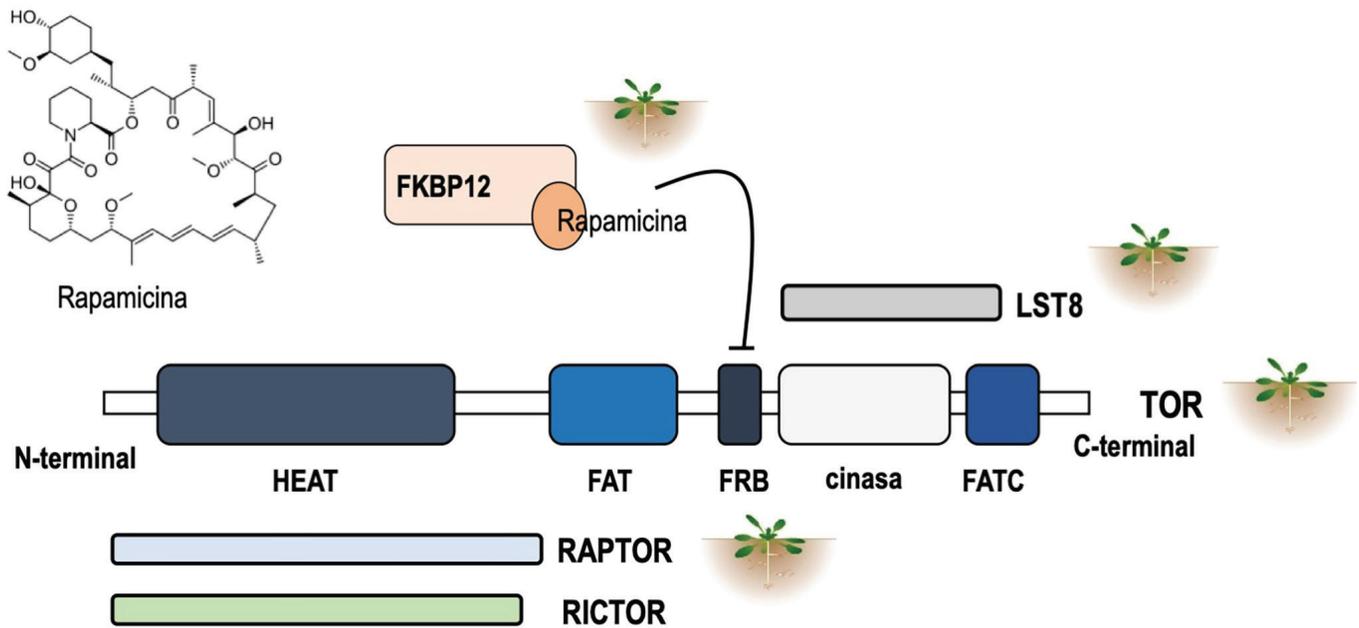


Figura 1. Representación esquemática de los dominios de la proteína TOR y los principales miembros del complejo TORC. TOR se compone de cinco dominios conservados: el dominio HEAT (Huntington, EF3A, ATM, TOR), involucrado en la interacción con otras proteínas y la asociación a membranas; el dominio FAT (Frap, ATM, and TRRA), que participa en el plegamiento del dominio catalítico; el dominio FRB (FKBP12-rapamycin binding domain), importante para la regulación de la proteína; el dominio cinasa; y FATC (FAT del C-terminal), que participa en el control de la accesibilidad de sustratos. La proteína RAPTOR interactúa con el dominio HEAT de TOR y LST8 se une a FATC y al dominio cinasa conformando el complejo TORC1 de animales que es sensible a la rapamicina. Por el contrario, el complejo TORC2 que contiene RICTOR es insensible a la rapamicina. Se indican en la figura las proteínas que presentan homólogos en plantas: FKBP12, RAPTOR, LST8 y TOR.

ción celular a través de sus principales blancos, entre los que se han descrito, la proteína Akt/PKB (*protein kinase B*) y PKC (*protein kinase C*) (11). TOR es esencial para el crecimiento en animales y levadura. La mutación de cualquiera de los componentes principales de TORC1,2 en animales es letal desencadenando el arresto del crecimiento durante el desarrollo embrionario.

A diferencia del acercamiento bioquímico que se utilizó para estudios en animales y levadura, en las plantas se utilizó un método genético para la identificación de TOR. A partir de su similitud con la secuencia codificante de mTOR, se identificó un transcrito y el gen codificante en *Arabidopsis* At1g50030, y maíz NM-00111823 (6,12). AtTOR forma parte de un complejo proteico similar a TORC1 ya que contiene LST8 y RAPTOR. Al igual que en animales, mutantes homocigotas de *tor* no son viables. RAPTOR y LST8 están codificadas por dos genes en *Arabidopsis*. Las mutantes de solo uno de los genes RAPTOR o LST8 son viables, aunque presentan crecimiento reducido. Este fenotipo es similar al que presentan mutantes reducidas en *tor*, en cuanto a crecimiento, desarrollo y perfiles metabólicos (13-15). En plantas, no se han identi-

ficado ortólogos de RICTOR, por lo que se considera que de existir otros complejos TORC en células vegetales, estos serían esencialmente diferentes al complejo TORC2 de animales y levadura.

Tanto RAPTOR como LST8 están relacionados con respuestas a estímulos ambientales. RAPTOR es esencial para el crecimiento post-embrionario en *Arabidopsis* y es blanco de un importante sensor del déficit energético en la célula, denominado SnRK (*Snf1-related kinase*). Su fosforilación conduce a la disociación del complejo y pérdida de actividad. Por otro lado, la mutación en LST8 reduce el crecimiento de la plántula principalmente en condiciones de fotoperiodo largo, y se ha propuesto que la proteína está implicada en la adaptación a cambios de fotoperiodo y deficiencia de fosfato en células vegetales (14-16).

El complejo TOR en plantas controla el crecimiento y desarrollo

Estudios fisiológicos, análisis metabólicos y perfiles de expresión en mutantes reducidas en *tor* por RNAi, *lst8* o *raptor*, así como en presencia de inhibidores ATP competitivos de TOR, señalan a la

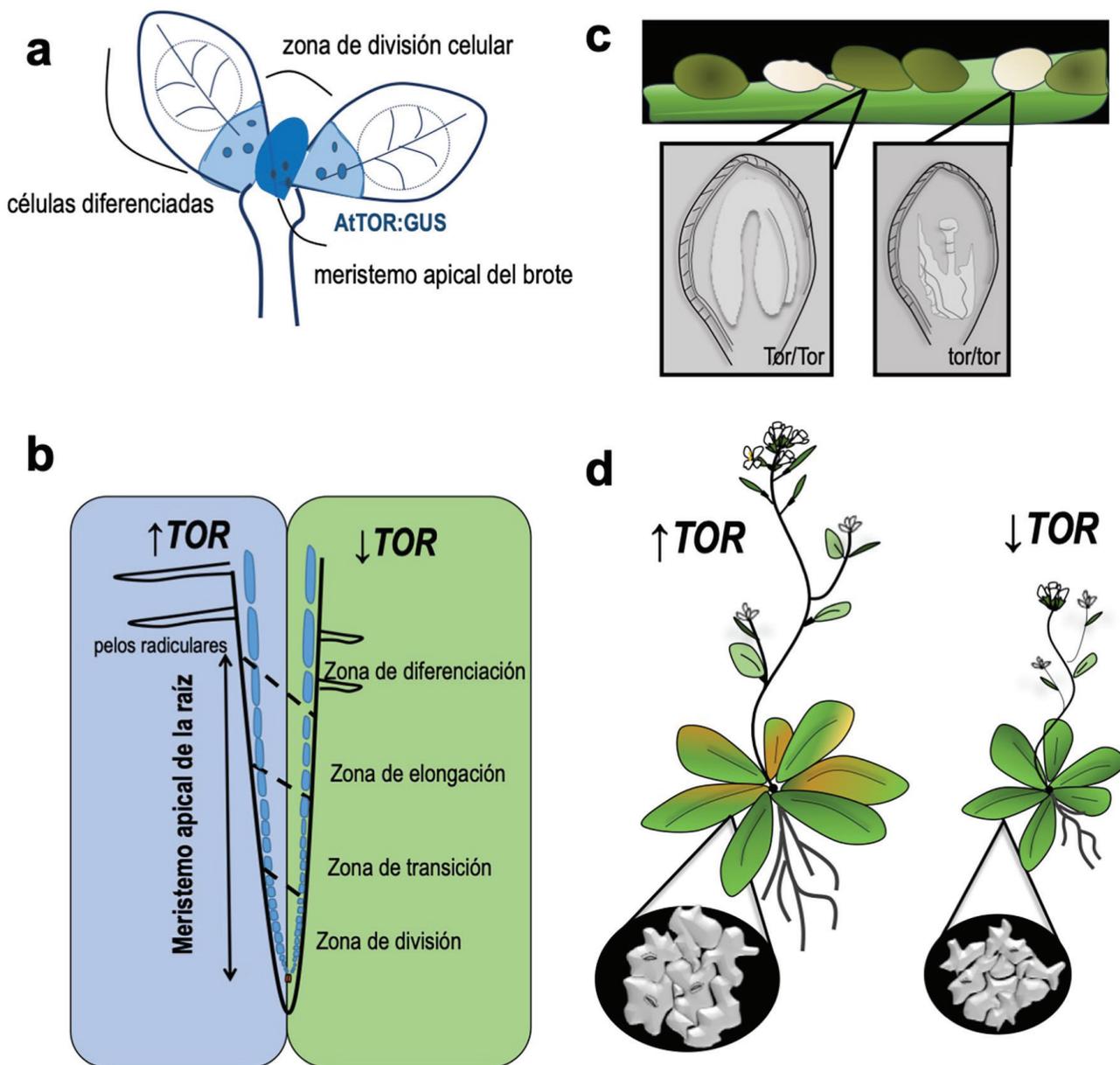


Figura 2. TOR es esencial en el control del crecimiento y desarrollo de las plantas. a) TOR se expresa en zonas meristemáticas del brote, acorde a la actividad del reportero beta-glucuronidasa (GUS; coloración azul) bajo el control del promotor del gen fusionado a la región codificante de TOR de *Arabidopsis thaliana*, AtTOR:GUS (6). b) Cambios en los niveles de TOR modifican la estructura de la raíz. La disminución de la actividad TOR reduce el tamaño del meristemo, adelanta la diferenciación y reduce el crecimiento de pelos radiculares. c) TOR se requiere para el desarrollo embrionario y su ausencia produce el arresto del crecimiento en las primeras divisiones celulares. d) La sobreexpresión de TOR estimula el crecimiento y tamaño celular, e induce la floración y senescencia de la planta, mientras que su inhibición reduce el crecimiento y desencadena retraso en el desarrollo.

vía como un importante actor en la regulación del metabolismo, proliferación y diferenciación celular. TOR se expresa principalmente en los meristemos y controla su tamaño (Fig. 2a,b), mediante la regulación del crecimiento celular en la zona de división, el número de células en proliferación y el paso de células a la zona de diferenciación (Fig. 2b) (17,18).

La inhibición de TOR afecta el crecimiento de la raíz primaria, raíces laterales e hipocotilo mientras que su sobreexpresión conduce a hojas y raíces más grandes (19, 20). Estos fenotipos coinciden con las funciones de TORC1 en mamíferos, por lo que se confirmó la conservación de la vía como regulador central del crecimiento en plantas.

La mutación homocigota de *tor* es letal y provoca el arresto del desarrollo embrionario en las primeras etapas de división (Fig. 2c). La sobreexpresión de TOR induce la floración, senescencia y el llenado temprano de las silicuas (Fig. 2d) (20). Por el contrario, mutantes inducibles por RNAi de *tor*, o nulas para *raptor* o *lst8* presentan retraso en la aparición de hojas y en la floración (13, 14, 19).

TOR regula la síntesis de proteínas, la expresión génica, el ciclo celular, y el metabolismo

Para un crecimiento acelerado se requiere la síntesis activa de proteínas para generar los componentes celulares necesarios para la elongación y división celular. En mamíferos y levadura, se demostró que TOR regula la biogénesis de ribosomas y el inicio de la traducción dependiente de 5'CAP (Fig. 3). La proteína cinasa de S6 (S6K) es un importante

blanco de TOR en la regulación traduccional, ya que controla la producción de rRNA (RNA Polimerasa I) y el inicio de la traducción (eIF4B). Además, TOR controla el inicio de la traducción inactivando a las proteínas 4E-BP (*eIF4E-Binding Proteins*) que inhiben la traducción al secuestrar el factor de unión a 5'CAP eIF4E (*eukaryotic initiation factor 4E*) e impedir el reclutamiento de mRNA por la maquinaria traduccional. La fosforilación de 4E-BP por TOR libera a eIF4E promoviendo la traducción, principalmente de transcritos que son poco reconocidos por la maquinaria traduccional (factores de crecimiento, promotores de mitosis, entre otros) (21).

La función de la vía en la regulación traduccional también se conserva en plantas, donde se ha descrito su importancia para la biogénesis ribosomal y la traducción de mRNA específicos (Fig. 3). En *Arabidopsis thaliana*, TOR se une al promotor del rDNA y desencadena su transcripción (22). Se propuso

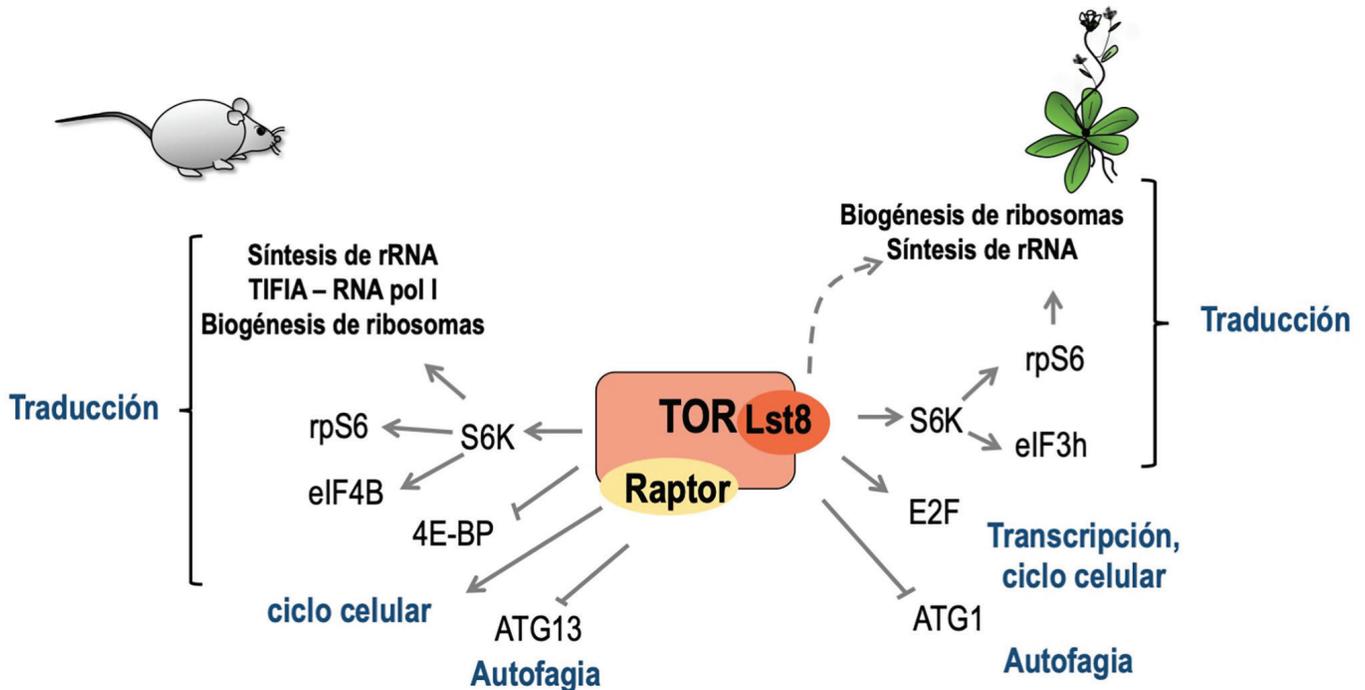


Figura 3. Conservación de procesos regulados por TOR en plantas y animales. TOR controla la traducción, transcripción y autofagia en plantas y animales. Algunos de los principales blancos de TOR se encuentran conservados, como S6K (proteína cinasa de S6) y S6 (proteína ribosomal de la subunidad pequeña). Estas proteínas están involucradas en la biogénesis de ribosomas. Además, TOR activa la transcripción de RNA ribosomal, en animales y plantas. Algunos blancos de la vía TOR involucrados en traducción en animales, como el factor de traducción eIF4B que participa en el escrutinio del 5'UTR de mRNA por la maquinaria traduccional y el factor transcripcional TIFIA que se requiere para la síntesis de RNA ribosomales (rRNA) por la RNA polimerasa I, no se han explorado en plantas. Además, las plantas no presentan homólogos de 4E-BP (proteínas de unión al factor eIF4E) que controlan la traducción de mensajeros importantes para la proliferación celular. Por otra parte, se han descrito mecanismos específicos de plantas que involucran blancos novedosos de TOR como el factor transcripcional E2F de fase S del ciclo celular y el factor de inicio de la traducción eIF3h (*eukaryotic translation initiation factor 3h*) que participa en la traducción de mensajeros que contienen uORF (marco abierto de lectura río arriba del ORF principal). Las proteínas ATG (proteínas relacionadas con autofagia) participan en la formación de autofagosomas y son inhibidas por TOR, tanto en animales como en plantas.

que TOR controla la expresión de rDNA a través de la fosforilación de la proteína ribosomal S6 (rpS6) la cual en estado inactivo (desfosforilación) interactúa con una desacetilasa de histonas que reprime la apertura de cromatina en esta región (23). Cuando rpS6 se fosforila por TOR, se promueve la apertura de la cromatina en esa zona. Además, en la plántula de *Arabidopsis* y ejes embrionarios de maíz se comprobó que TOR participa en la síntesis de proteínas ribosomales (24, 25). La regulación a la baja de la vía TOR conlleva a un decremento en la abundancia de fracciones traduccionalmente activas – polirribosomas – aunque su efecto es menos notable que en células animales (19, 26). En las plantas no se han identificado homólogos conservados de las proteínas 4E-BP, lo que conlleva a un vínculo más débil de la vía con el inicio de la traducción. Sin embargo, TOR participa en la traducción del factor de inicio de la traducción eIF4E el cual se requiere para la traducción de transcritos presentes en la semilla seca de maíz (27).

En *Arabidopsis*, TOR se requiere de manera específica para la traducción de mRNAs que contienen secuencias regulatorias en el 5' UTR denominadas uORF (*upstream Open Reading Frame*) (28). Los uORF inhiben la traducción del marco abierto de lectura principal (mORF) codificado en el mensajero. Su reconocimiento y traducción pueden desacoplar a la maquinaria de traducción del transcrito y anclar el ribosoma hacia el final de la secuencia del uORF impidiendo su avance hacia el mORF o propiciar la desestabilización del mensajero. Los transcritos que contienen uORF codifican para proteínas regulatorias, de señalización y factores transcripcionales que participan en la adaptación a estrés y el control del crecimiento y desarrollo (29, 30). Se propuso que TOR activo mantiene el estado de fosforilación de sus blancos en los complejos traduccionales, que son importantes para que el ribosoma continúe el escrutinio de la región 5' UTR después de la traducción del uORF y alcance el codón de inicio del mORF. Hasta el momento se conoce que la fosforilación de S6K, rpS6 y el factor de inicio de la traducción eIF3h son importantes para este proceso (Fig. 3).

Además de la traducción, TOR tiene un fuerte impacto en la regulación transcripcional en plantas, los principales blancos a nivel de abundancia de transcrito están involucrados en la biogénesis de ribosomas, fotosíntesis, autofagia, respuestas a fitohormonas, metabolismo de la pared celular, síntesis de DNA y regulación transcripcional (31-33). Un blanco fundamental de la vía para la regulación transcripcional, es el factor de transcripción E2F, quien funciona como regulador de la entrada a fase S del ciclo celular. Este es directamente fosforilado por TOR, y su activación conlleva a la inducción de

la maquinaria de replicación y la proliferación celular (33, 34).

El extenso impacto de TOR en la regulación de la expresión génica y la señalización celular en plantas conduce a importantes cambios metabólicos. La disminución de su actividad en plántulas de *Arabidopsis* desencadena un redireccionamiento del flujo de carbono y el uso de nitrógeno en la célula (35). Por un lado, se produce la disminución de procesos anabólicos de consumo de energía como la síntesis de proteínas y DNA. En condiciones normales de suministro de nutrientes y luz, esto conduce a la acumulación de ácidos orgánicos, triacilgliceroles y almidón, funcionando estos últimos como sumidero del carbono celular. Además, en plantas mutantes de *lst8* y reducidas en *tor* por microRNA artificial (amiR), se encontró un aumento de aminoácidos aromáticos y de cadena ramificada. No existe evidencia de que estos cambios se deban al aumento de la síntesis de aminoácidos (35). Sin embargo, se sugiere que podría relacionarse con la degradación de proteínas debido a la inducción de la autofagia en condiciones de inhibición de TOR y a la disminución de su incorporación en proteínas debido a la represión traduccional (19). Interesantemente, también se observaron cambios en el metabolismo de poliaminas, las cuales participan en el reciclaje de nitrógeno y son esenciales para el crecimiento de la planta.

Componentes de la vía y señalización de entrada a TOR en plantas

El complejo TOR de *Arabidopsis* es un centro de integración de señales nutrimentales, hormonales y de crecimiento, que traduce esta información a través de sus blancos, descritos anteriormente, permitiendo la adaptación sistémica a los cambios del entorno. Los actores proteicos de la vía de señalización de entrada a TOR han sido poco caracterizados en plantas. Es importante señalar que algunos de los componentes principales de las rutas de señalización que convergen en TOR en mamíferos no tienen ortólogos en plantas (36, 37). No obstante, la disponibilidad de genomas secuenciados ha permitido explorar la homología y proponer posibles integrantes de la ruta en plantas (Fig. 4).

En células animales el fosfatidil-inositol-3-fosfato (PI3P) es un importante señalizador celular que activa a la proteína PDK (*phosphoinositide-dependent kinase*) desencadenando la activación de TOR. Sin embargo, las plantas carecen de homólogos para la principal cinasa productora de PI3P de animales, una PI3K de clase I. Por otro lado, las proteínas PI3K de clase III, como la Vps34 (*vacuolar protein sorting 34*), catalizan la forma-

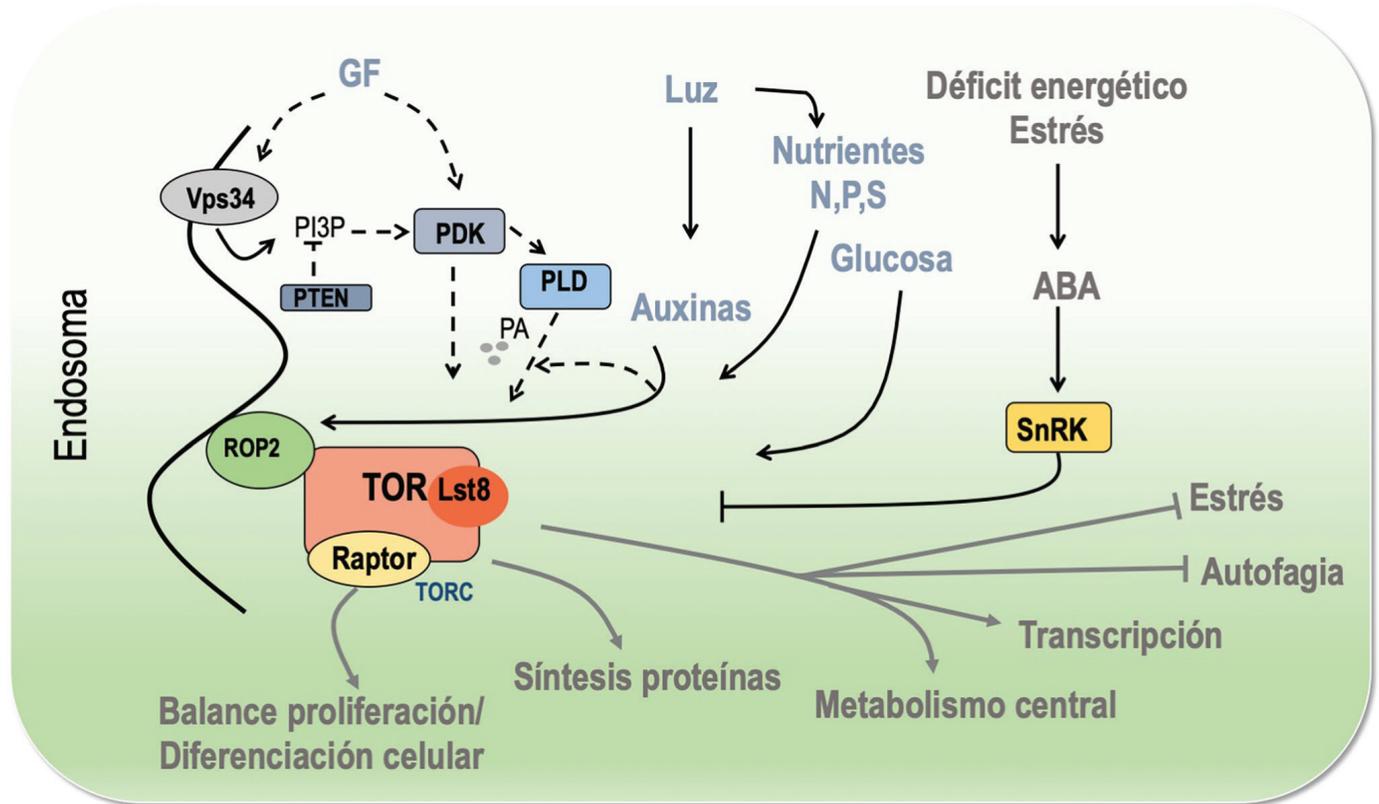


Figura 4. Componentes y señalización de entrada a la vía TOR en plantas y procesos a los que regulan.

TORC recibe las señales relacionadas con la disponibilidad de nutrientes, energía, factores de crecimiento (GF) y condiciones de estrés en la célula y mediante el control de la actividad de sus proteínas blanco regula la expresión génica, el metabolismo, la proliferación celular y la adaptación a estrés en las plantas. Aunque la conexión entre factores de crecimiento y TOR no se conoce con detalle en plantas (flechas discontinuas), se ha propuesto un rol para la producción localizada de fosfatidilinositol-3-fosfato (PI3P) por Vps34 (vacuolar protein sorting-34) y la activación de la proteína cinasa dependiente de fosfoinositoles (PDK). PDK podría activar directamente al complejo TORC, o a través de la producción de ácido fosfatídico (PA), un activador directo de TOR en animales, por la enzima fosfolipasa-D (PLD). Por otra parte, la fosfatasa PTEN (phosphatase and tensin homologue deleted on chromosome 10) se ha propuesto como punto de control para la abundancia de PI3P. Una señal bien caracterizada en plantas, es la activación de TORC por auxinas. En este caso, la localización del complejo en endosomas permite su activación por la pequeña GTPasa ROP (proteína similar a Rho) en respuesta a la hormona vegetal. En condiciones de déficit energético y estrés otra fitohormona, ácido abscísico (ABA), activa la cinasa SnRK (cinasa similar a Snf1) que fosforila a Raptor e inhibe la formación del complejo y su actividad.

ción de PI3P a partir de fosfatidilinositol y tienen secuencias homólogas en plantas (36, 37). Estas cinasas se relacionan con el tráfico vesicular, la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) y respuesta a estrés. Aunque el vínculo directo entre Vps34 y TOR no se ha descrito en plantas, las mutantes de ambos genes comparten fenotipos como la inhibición del crecimiento de pelos radiculares y la acumulación de prolina. La PDK de *Arabidopsis* se une a una amplia gama de fosfolípidos, específicamente a fosfoinositoles, cuya abundancia es controlada por la fosfatasa PTEN (*phosphatase and tensin homologue deleted on chromosome 10*). Sin embargo, la función de estas proteínas en la

señalización hacia TOR no se ha comprobado aún en plantas. En células animales, en respuesta a altos niveles de nutrientes se produce ácido fosfatídico (PA) que activa TOR a través de su unión al dominio FRB. En plantas, se ha propuesto que la señalización por fitohormonas induce la producción de ácido fosfatídico derivado de PI3P por la enzima fosfolipasa D (PLD) (38) lo cual podría contribuir a la activación de TOR (37).

Entre las señales más estudiadas río arriba de TOR en plantas se encuentra la disponibilidad de nutrientes (luz, azúcares) y la presencia de hormonas vegetales como las auxinas (ácido indolacético y análogos) o el ácido abscísico (ABA) (39). La glucosa

y la luz son indispensables para la activación de TOR en el meristemo apical del brote, lo que permite la transición de la plántula al estadio fotoautotrófico (34). Aunque no se conocen los actores en la señalización de glucosa y luz hacia TOR, la activación de la cinasa depende de la obtención, a partir de la glucosa, de energía en forma de ATP en la mitocondria. La proteína SnRK es un importante sensor de la disponibilidad de energía en forma de ATP en la célula, señalándola como un candidato en la regulación de TOR mediada por glucosa.

La disponibilidad de nutrientes provenientes del suelo controla el crecimiento de la planta e impacta en la actividad de TORC1. La deficiencia de nitrógeno disminuye la actividad de TOR, mientras que la sobreexpresión de TOR permite a la planta mantener su crecimiento en exceso de nitrógeno (19). Por otro lado, existe una estrecha conexión entre la asimilación de fósforo, la producción de energía y la respuesta a estrés. Aunque en las plantas no se conoce cómo impactan los niveles de fosfato en la actividad de TOR, estudios en el alga unicelular *C. reinhardtii* muestran que la deficiencia de fosfato disminuye los niveles de LST8 y la actividad de TOR (16). Además, la deficiencia de azufre produce fenotipos asociados con la regulación de TOR a la baja, tales como la disminución en la actividad fotosintética, RNA ribosomales y la inducción de la autofagia. Curiosamente, estos defectos son parcialmente revertidos por la adición de glucosa al medio y la restauración de la actividad de TOR (40).

En la incipiente raíz de *Arabidopsis*, la glucosa y las auxinas dirigen el crecimiento a través de TOR. Las auxinas activan las proteínas ROP (*Rho like proteins*), GTPasa similares a Rho de animales, que se unen a TOR a través de un dominio rico en lisinas, induciendo la asociación del complejo a la membrana de endosomas y su activación (Fig. 4) (41). A su vez TOR controla la producción de auxinas y su maquinaria de percepción y respuesta, formando un lazo de retroalimentación positiva (28, 31). Particularmente, se describieron los factores transcripcionales de respuesta a auxinas como blancos traduccionales de TOR, en concordancia con la interconexión entre ambas vías en la generación de raíces secundarias, la activación del meristemo apical del brote y la proliferación de células en cultivo (31, 34, 42).

Las condiciones de estrés afectan la actividad de TOR. La señalización mediada por ABA induce la actividad de la proteína SnRK que fosforila a RAPTOR e inhibe al complejo TOR. Así mismo, plantas mutantes de *raptor* o *tor* RNAi presentan una notable sensibilidad en la germinación bajo tratamiento con ABA o estrés osmótico, respectivamente (13, 43). Por el contrario, la sobreexpresión de TOR protege a las plántulas del estrés osmótico, salino

y ante la deficiencia de agua. Por lo que se ha propuesto que TOR protege la actividad fotosintética e induce la expresión de genes de señalización y protección en la respuesta a estrés, aliviando así la restricción de crecimiento impuesta por el estrés (44).

Conclusiones y perspectivas

La vía TOR tiene un importante impacto en el control metabólico y genético, así como en el crecimiento de organismos vegetales y su respuesta a factores ambientales y señales de desarrollo. La mayor parte de la información disponible para plantas proviene del modelo *Arabidopsis thaliana*, donde se han descrito los homólogos de la vía de señalización por TOR y algunos de los procesos moleculares que controla. Estos hallazgos demuestran que aunque se conservan muchos de los efectos de la vía, en comparación con otros eucariontes, existen diferencias esenciales que contribuyen a la plasticidad inherente de las plantas en respuesta a señales de fitohormonas, disponibilidad de nutrientes y luz. Los estudios existentes presentan a la vía como un llamativo blanco para el mejoramiento de cultivos y procesos biotecnológicos (Fig. 5). Por un lado la reducción de la actividad de TOR impacta en el flujo de carbono favoreciendo la acumulación de fuentes de biocombustible como el almidón y triacilglicerol y fijación del nitrógeno. Además, importantes moléculas en la señalización y respuesta a estrés como la prolina, trehalosa y poliaminas son reguladas por la actividad de TOR permitiendo la adaptación de la planta a estas condiciones. Uno de los mayores retos en el desarrollo de cultivos resistentes a estrés es mantener la biomasa y el rendimiento. De acuerdo a hallazgos pioneros, la sobreexpresión de AtTOR en *Arabidopsis* y arroz favorece el tamaño de la inflorescencia y el número de semillas. Sin embargo, la manipulación de la vía TOR podría inducir cambios en la duración del ciclo de vida de la planta representando una desventaja en campo. Por lo tanto, el desarrollo de sistemas inducibles de expresión o silenciamiento de los componentes de la vía y su expresión tejido específica podría proporcionar resultados más refinados. Hasta el momento existen pocos avances en el estudio de la vía TOR en plantas agrónomicamente importantes como cereales y leguminosas. La caracterización del(los) complejo(s) TOR vegetal, sus interactores, blancos y señales que lo regulan, así como la implementación de métodos globales de caracterización metabólica y proteómica de mutantes de la vía en cultivos de interés agronómico, permitirán entender las funciones de TOR dentro de la planta e impulsar estrategias de mejoramiento.

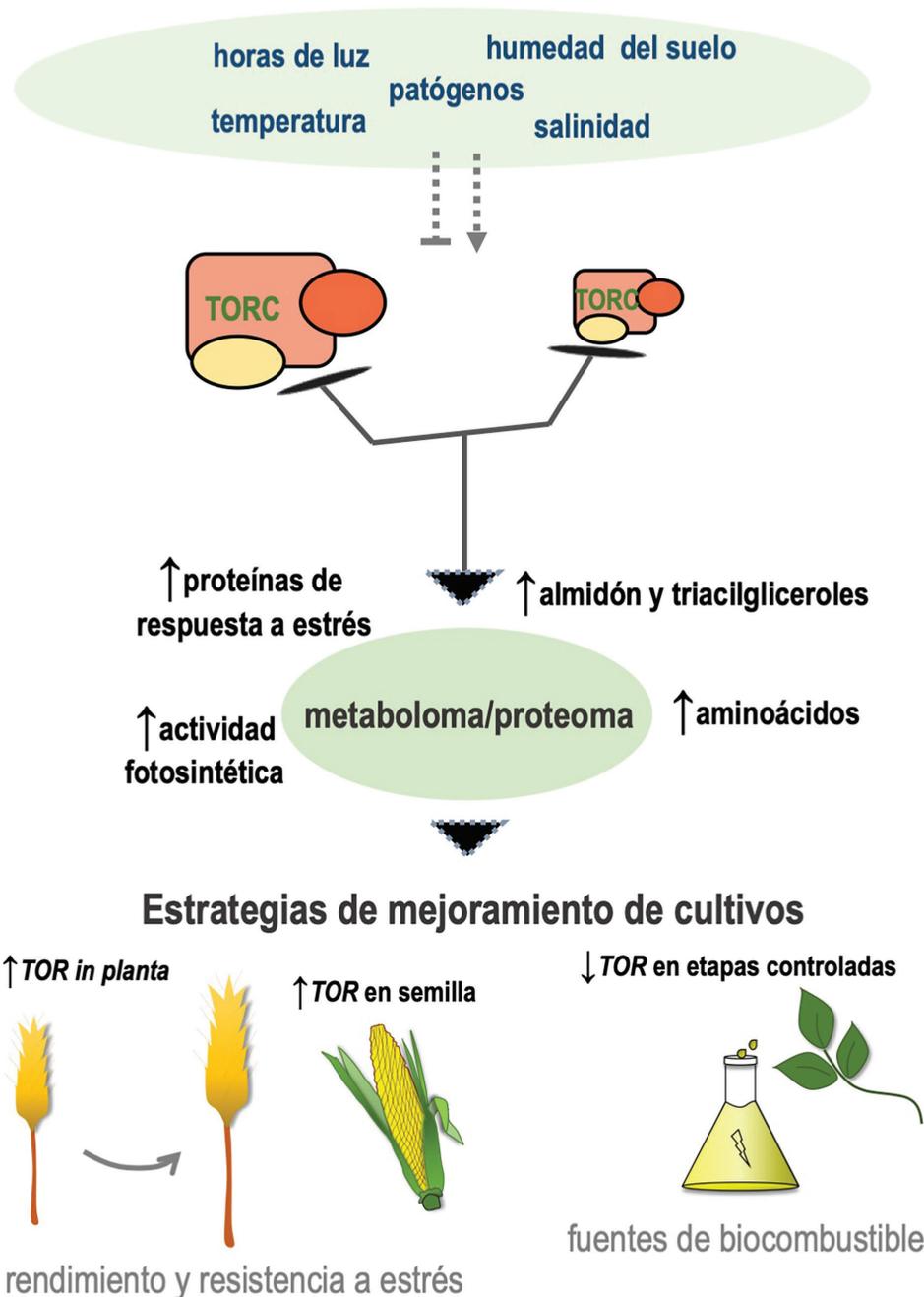


Figura 5. Aproximaciones futuras a la vía de TOR en cultivos y su aplicación en procesos biotecnológicos. TOR percibe una variedad de señales ambientales que impactan en su actividad y a través de sus blancos en el metaboloma y proteoma de la planta. La modificación de la actividad del complejo TOR en determinadas etapas de desarrollo o tejidos particulares en cultivos de interés agronómico, así como el estudio de sus efectos a nivel del metabolismo central en la planta, permitirán el diseño de estrategias para el mejoramiento de cultivos y sus usos biotecnológicos. Algunas posibilidades atractivas serían la obtención de plantas con mayor crecimiento y/o rendimiento y el aumento en la producción de fuentes de biocombustible como almidón y triacilgliceroles.

Agradecimientos

El trabajo desarrollado por las autoras sobre la regulación de la vía TOR en la germinación y establecimiento de la plántula de maíz ha sido

parcialmente financiado por el proyecto PAPIIT-UNAM IN214118 y por Facultad de Química proyecto PAIP 5000-9118. Kenia Salazar Díaz fue receptora de una beca doctoral del CONACyT (registro 576830). 

REFERENCIAS

1. Fonseca, B.D., Graber, T.G., Hoang, H.D., González, A., Hernández, G., Alain, T., Swift, S.L., Weisman, R., Meyer, C., Robaglia, C., et al. (2016). Evolution of TOR and translation control. En: *Evolution of the Protein Synthesis Machinery and Its Regulation*. Editor: Springer International Publishing, Suiza, pp 327–411.
2. Shi, L., Wu, Y., and Sheen, J. (2018). TOR signaling in plants: conservation and innovation. *Development* 145.
3. Heitman J, Movva NR, Hall MN (1991). Targets for cell cycle arrest by the immunosuppressant rapamycin in yeast. *Science* 253:905-909.
4. Martin, D.E., and Hall, M.N. (2005). The expanding TOR signaling network. *Curr. Opin. Cell Biol.* 17:158–166.
5. Sarbassov, D.D., Ali, S.M., Kim, D.-H., Guertin, D.A., Latek, R.R., Erdjument-Bromage, H., Tempst, P., and Sabatini, D.M. (2004). Rictor, a novel binding partner of mTOR, defines a rapamycin-insensitive and raptor-independent pathway that regulates the cytoskeleton. *Curr. Biol.* 14:1296–1302.
6. Menand, B., Desnos, T., Nussaume, L., Berger, F., Bouchez, D., Meyer, C., and Robaglia, C. (2002). Expression and disruption of the Arabidopsis TOR (target of rapamycin) gene. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 99: 6422–6427.
7. Sabers, C.J., Martin, M.M., Brunn, G.J., Williams, J.M., Dumont, F.J., Wiederrecht, G., and Abraham, R.T. (1995). Isolation of a Protein Target of the FKBP12-Rapamycin Complex in Mammalian Cells. *J. Biol. Chem.* 270:815–822.
8. Wullschleger, S., Loewith, R., and Hall, M.N. (2006). TOR signaling in growth and metabolism. *Cell* 124:471–484.
9. Schalm, S.S., and Blenis, J. (2002). Identification of a conserved motif required for mTOR signaling. *Curr. Biol.* 12:632–639.
10. Yang, H., Rudge, D.G., Koos, J.D., Vaidialingam, B., Yang, H.J., and Pavletich, N.P. (2013). mTOR kinase structure, mechanism and regulation. *Nature* 497:217–223.
11. Luo, Y., Xu, W., Li, G., and Cui, W. (2018). Weighing In on mTOR Complex 2 Signaling: The Expanding Role in Cell Metabolism. *OXID* 2018:15.
12. Agredano-Moreno, L.T., Reyes de la Cruz, H., Martínez-Castilla, L.P., and Sánchez de Jiménez, E. (2007). Distinctive expression and functional regulation of the maize (*Zea mays* L.) TOR kinase ortholog. *Mol Biosyst* 3:794–802.
13. Anderson, G.H., Veit, B., and Hanson, M.R. (2005). The Arabidopsis AtRaptor genes are essential for post-embryonic plant growth. *BMC Biol.* 3:12.
14. Moreau, M., Azzopardi, M., Clément, G., Dobrenel, T., Marchive, C., Renne, C., Martin-Magniette, M.-L., Taconnat, L., Renou, J.-P., Robaglia, C., et al. (2012). Mutations in the Arabidopsis Homolog of LST8/GβL, a Partner of the Target of Rapamycin Kinase, Impair Plant Growth, Flowering, and Metabolic Adaptation to Long Days. *Plant Cell* 24:463–481.
15. Salem, M.A., Li, Y., Bajdzienko, K., Fisahn, J., Watanabe, M., Hoefgen, R., Schöttler, M.A., and Giavalisco, P. (2018). RAPTOR Controls Developmental Growth Transitions by Altering the Hormonal and Metabolic Balance. *Plant Physiol.* 177:565–593.
16. Couso, I., Pérez-Pérez, M.E., Ford, M.M., Martínez-Force, E., Hicks, L.M., Umen, J.G., and Crespo, J.L. (2020). Phosphorus Availability Regulates TORC1 Signaling via LST8 in Chlamydomonas. *Plant Cell* 32:69–80.
17. Díaz-Granados, V.H., López-López, J.M., Flores-Sánchez, J., Olguin-Alor, R., Bedoya-López, A., Dinkova, T.D., Salazar-Díaz, K., Vázquez-Santana, S., Vázquez-Ramos, J.M., and Lara-Núñez, A. (2020). Glucose modulates proliferation in root apical meristems via TOR in maize during germination. *Plant Physiology and Biochemistry* 155:126–135.
18. Montané, M.-H., and Menand, B. (2013). ATP-competitive mTOR kinase inhibitors delay plant growth by triggering early differentiation of meristematic cells but no developmental patterning change. *J. Exp. Bot.* 64:4361–4374.
19. Deprost, D., Yao, L., Sormani, R., Moreau, M., Leterreux, G., Nicolai, M., Bedu, M., Robaglia, C., and Meyer, C. (2007). The Arabidopsis TOR kinase links plant growth, yield, stress resistance and mRNA translation. *EMBO Rep.* 8. 864–870.
20. Ren, M., Venglat, P., Qiu, S., Feng, L., Cao, Y., Wang, E., Xiang, D., Wang, J., Alexander, D., Chalivendra, S., et al. (2012). Target of rapamycin signaling regulates metabolism, growth, and life span in Arabidopsis. *Plant Cell* 24:4850–4874.
21. Ma, X.M., and Blenis, J. (2009). Molecular mechanisms of mTOR-mediated translational control. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 10:307–318.
22. Ren, M., Qiu, S., Venglat, P., Xiang, D., Feng, L., Selvaraj, G., and Datla, R. (2011). Target of rapamycin regulates development and ribosomal RNA expression through kinase domain in Arabidopsis. *Plant Physiol.* 155:1367–1382.

23. Kim, Y.-K., Kim, S., Shin, Y., Hur, Y.-S., Kim, W.-Y., Lee, M.-S., Cheon, C.-I., and Verma, D.P.S. (2014). Ribosomal Protein S6, a Target of Rapamycin, Is Involved in the Regulation of rRNA Genes by Possible Epigenetic Changes in Arabidopsis. *J Biol Chem* 289:3901–3912.
24. Dobrenel, T., Mancera-Martínez, E., Forzani, C., Azzopardi, M., Davanture, M., Moreau, M., Schepetilnikov, M., Chicher, J., Langella, O., Zivy, M., et al. (2016). The Arabidopsis TOR Kinase Specifically Regulates the Expression of Nuclear Genes Coding for Plastidic Ribosomal Proteins and the Phosphorylation of the Cytosolic Ribosomal Protein S6. *Front Plant Sci* 7: 1611.
25. Jiménez-López, S., Mancera-Martínez, E., Donayre-Torres, A., Rangel, C., Uribe, L., March, S., Jiménez-Sánchez, G., and Sánchez de Jiménez, E. (2011). Expression profile of maize (*Zea mays* L.) embryonic axes during germination: translational regulation of ribosomal protein mRNAs. *Plant Cell Physiol.* 52:1719–1733.
26. Schepetilnikov, M., Kobayashi, K., Geldreich, A., Caranta, C., Robaglia, C., Keller, M., and Ryabova, L.A. (2011). Viral factor TAV recruits TOR/S6K1 signalling to activate reinitiation after long ORF translation. *EMBO J.* 30:1343–1356.
27. Dinkova, T.D., Cruz, H.R.D.L., García-Flores, C., Aguilar, R., Jiménez-García, L.F., and Jiménez, E.S.D. (2007). Dissecting the TOR–S6K signal transduction pathway in maize seedlings: relevance on cell growth regulation. *Physiologia Plantarum* 130:1–10.
28. Schepetilnikov, M., Dimitrova, M., Mancera-Martínez, E., Geldreich, A., Keller, M., and Ryabova, L.A. (2013). TOR and S6K1 promote translation reinitiation of uORF-containing mRNAs via phosphorylation of eIF3h. *EMBO J.* 32:1087–1102.
29. von Arnim, A.G., Jia, Q., and Vaughn, J.N. (2014). Regulation of plant translation by upstream open reading frames. *Plant Sci.* 214:1–12.
30. Horst, S. van der, Filipovska, T., Hanson, J., and Smeekens, S. (2020). Metabolite Control of Translation by Conserved Peptide uORFs: The Ribosome as a Metabolite Multisensor. *Plant Physiology* 182:110–122.
31. Deng, K., Dong, P., Wang, W., Feng, L., Xiong, F., Wang, K., Zhang, S., Feng, S., Wang, B., Zhang, J., et al. (2017). The TOR Pathway Is Involved in Adventitious Root Formation in Arabidopsis and Potato. *Front Plant Sci* 8.
32. Dong, P., Xiong, F., Que, Y., Wang, K., Yu, L., Li, Z., and Ren, M. (2015). Expression profiling and functional analysis reveals that TOR is a key player in regulating photosynthesis and phytohormone signaling pathways in Arabidopsis. *Front. Plant Sci.* 6: 677.
33. Xiong, Y., McCormack, M., Li, L., Hall, Q., Xiang, C., and Sheen, J. (2013). Glucose-TOR signalling reprograms the transcriptome and activates meristems. *Nature* 496:181–186.
34. Li, X., Cai, W., Liu, Y., Li, H., Fu, L., Liu, Z., Xu, L., Liu, H., Xu, T., and Xiong, Y. (2017). Differential TOR activation and cell proliferation in Arabidopsis root and shoot apices. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 114:2765–2770.
35. Caldana, C., Li, Y., Leisse, A., Zhang, Y., Bartholomaeus, L., Fernie, A.R., Willmitzer, L., and Giavalisco, P. (2013). Systemic analysis of inducible target of rapamycin mutants reveal a general metabolic switch controlling growth in Arabidopsis thaliana. *Plant J.* 73:897–909.
36. Jacinto, E., and Hall, M.N. (2003). Tor signalling in bugs, brain and brawn. *Nat Rev Mol Cell Biol* 4:117–126.
37. Rexin, D., Meyer, C., Robaglia, C., and Veit, B. (2015). TOR signalling in plants. *Biochem. J.* 470:1–14.
38. Bögre L, Henriques R, Magyar Z. (2013). TOR tour to auxin. *EMBO J.* 8:1069-1071.
39. Xiong, Y., and Sheen, J. (2015). Novel links in the plant TOR kinase signaling network. *Curr. Opin. Plant Biol.* 28:83–91.
40. Dong, Y., Silbermann, M., Speiser, A., Forieri, I., Linster, E., Poschet, G., Allboje Samami, A., Wanatabe, M., Sticht, C., Teleman, A.A., et al. (2017). Sulfur availability regulates plant growth via glucose-TOR signaling. *Nat Commun* 8:1174.
41. Schepetilnikov, M., Makarian, J., Srouf, O., Geldreich, A., Yang, Z., Chicher, J., Hammann, P., and Ryabova, L.A. (2017). GTPase ROP2 binds and promotes activation of target of rapamycin, TOR, in response to auxin. *EMBO J* 36:886–903.
42. Turck, F., Zilbermann, F., Kozma, S.C., Thomas, G., and Nagy, F. (2004). Phytohormones Participate in an S6 Kinase Signal Transduction Pathway in Arabidopsis. *Plant. Physiol.* 134: 1527–1535.
43. Wang, P., Zhao, Y., Li, Z., Hsu, C.-C., Liu, X., Fu, L., Hou, Y.-J., Du, Y., Xie, S., Zhang, C., et al. (2018). Reciprocal Regulation of the TOR Kinase and ABA Receptor Balances Plant Growth and Stress Response. *Mol. Cell* 69:100-112.
44. Bakshi, A., Moin, M., Kumar, M.U., Reddy, A.B.M., Ren, M., Datla, R., Siddiq, E.A., and Kirti, P.B. (2017). Ectopic expression of Arabidopsis Target of Rapamycin (AtTOR) improves water-use efficiency and yield potential in rice. *Sci Rep* 7:42835.

UN VISTAZO A LA MORFOLOGÍA Y DINÁMICA DE LA MITOCONDRIA Y A LOS SITIOS DE PRODUCCIÓN DE LAS ESPECIES REACTIVAS DE OXÍGENO*

Genaro Matus Ortega^{1}, Juan Pablo Pardo¹, Guadalupe Guerra Sánchez², Karina Buendía Carrillo², Maura Matus Ortega³, James González⁴, Oscar Iván Luqueño Bocardo¹, Melissa Vázquez Carrada², & Lucero Romero Aguilar^{1**}**

¹Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México. Avenida Universidad 3000, Copilco, Cd. Universitaria, Coyoacán, 04510, Ciudad de México, México.

²Departamento de Microbiología, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional. Prolongación de Carpio y, Calle Plan de Ayala s/n, Santo Tomás, Miguel Hidalgo, 11340 Ciudad de México, México.

³Laboratorio de Neurobiología Molecular y Neuroquímica de Adicciones. Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente, Tlalpan 14370, Ciudad de México, México.

⁴Departamento de Biología Celular, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. Avenida Universidad 3000, Cd. Universitaria, 04510 Coyoacán, Ciudad de México, México.

**Autor de correspondencia correo E: Ortega.genaromatus@bq.unam.mx, luceroaguilar@facmed.unam.mx

RESUMEN

Las mitocondrias son organelos celulares altamente compartimentalizados, capaces de adaptar su metabolismo a través de eventos de fisión y fusión y que les permite adoptar morfologías alargadas, interconectadas o fragmentadas. Tienen su propio genoma y se encargan de sintetizar energía en forma de ATP a través de la fosforilación oxidativa. Es probable que la mitocondria sea el mayor generador de especies reactivas de oxígeno (ROS) en la célula, por lo que es fundamental conocer la contribución de cada uno de los complejos respiratorios y de las enzimas mitocondriales (deshidrogenasas) en la producción de ROS. En esta revisión se abordan conceptos clásicos y se describen nuevas complejidades de la función, la morfología y el metabolismo mitocondrial, como la formación de las redes mitocondriales, la estructura de las crestas, la formación de los supercomplejos respiratorios, los procesos de fusión y fisión, la interacción con el retículo endoplásmico, y la producción de ROS en la cadena respiratoria y en otras enzimas de la matriz mitocondrial.

ABSTRACT

Mitochondria are cellular organelles, capable to adapt their metabolism through fission and fusion events, leading to elongated, interconnected, and fragmented morphologies. They have their own genome and are responsible for the synthesis of ATP, through oxidative phosphorylation. Mitochondria also generate reactive oxygen species (ROS) and this production occurs in the respiratory complexes and in some dehydrogenases located in the mitochondrial matrix. This review addresses the classic concepts and describes new insights into the function, morphology, and mitochondrial metabolism, such as the formation of mitochondrial networks, the cristae junction structure, the presence of respiratory supercomplexes, processes of fusion and fission and the sites of reactive oxygen production in mitochondria and by other enzymes.

PALABRAS

CLAVE:

ROS, mitocondria, MICOS, fusión, fisión, supercomplejos respiratorios, MAM

KEY WORDS:

ROS, mitochondria, MICOS, fission, fusion, respiratory supercomplexes

La descripción clásica de las mitocondrias

Las mitocondrias son organelos de origen endosimbionte, con genoma propio, que poseen dos membranas, una membrana mitocondrial externa (OMM) y una membrana mitocondrial interna (IMM) que delimita a la matriz mitocondrial. La IMM se pliega para dar lugar a las crestas y entre las dos membranas se encuentra el espacio intermembrana (1). Detallar el funcionamiento de las mitocondrias fue relevante en la segunda mitad del siglo XX, dado que es en estos organelos en donde se sintetiza más del 80% del ATP celular y es el sitio en donde se consume entre el 85 y el 92% del oxígeno molecular que le llega a las células (2). Las mitocondrias tienen flavoproteínas y citocromos que participan en los tres eventos que permiten la síntesis de ATP promovida por un gradiente de potencial electroquímico de protones ($\Delta\mu_{H^+}$), según la teoría quimiosmótica propuesta por Peter Mitchel en 1961, figura 1 (3).

Los tres eventos que dan lugar a la fosforilación oxidativa son: i.- El flujo de electrones en la cadena respiratoria de la IMM derivado de la oxidación de sustratos respiratorios como el NADH, el succinato y los ácidos grasos activados. Este proceso está acoplado al consumo de oxígeno y a un flujo de electrones que ocurre a favor de un potencial de reducción (de valores pequeños a grandes). ii.- El bombeo o translocación de protones hacia el espacio intermembrana, con lo que se genera un gradiente integrado por dos componentes: uno eléctrico, dado por la diferencia de cargas resultante del bombeo de protones a través de la IMM y un segundo componente correspondiente al gradiente químico, resultado de la acidificación del espacio intermembrana. Debido a que la IMM es impermeable a los protones, ocurre el tercer paso, que corresponde a iii.- La síntesis de ATP en el complejo V (ATP sintasa). En este paso, es el dominio membranaral (F_0) el que permite el flujo de protones de regreso hacia la matriz mitocondrial,

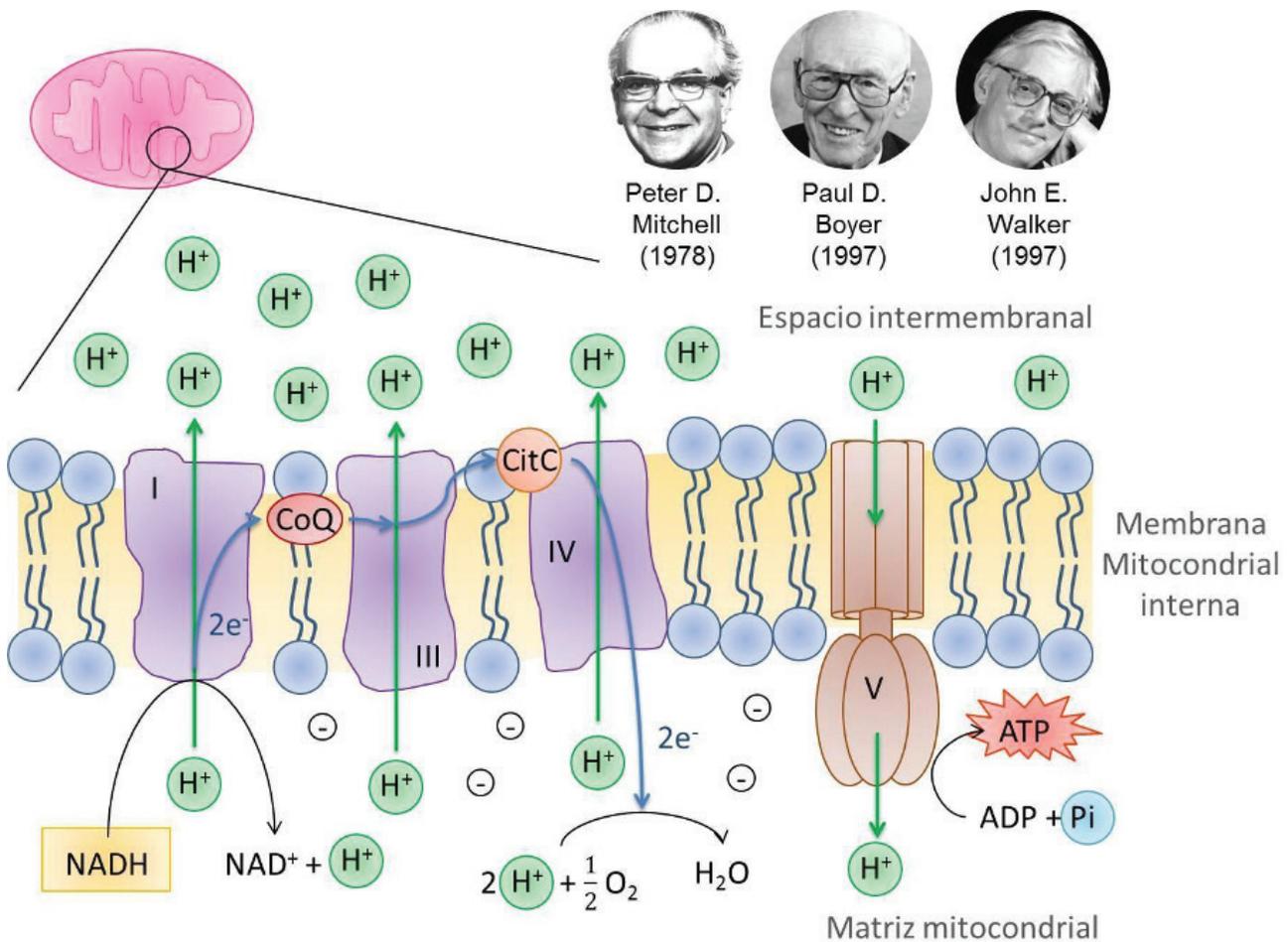


Figura 1. Cadena clásica de transporte de electrones. Se muestra la fotografía de tres científicos que contribuyeron de manera importante a dilucidar los mecanismos de la fosforilación oxidativa y la cadena clásica de transporte de los electrones, la cual está compuesta de cuatro complejos y la ATP sintasa. Modificada de la referencia (5).

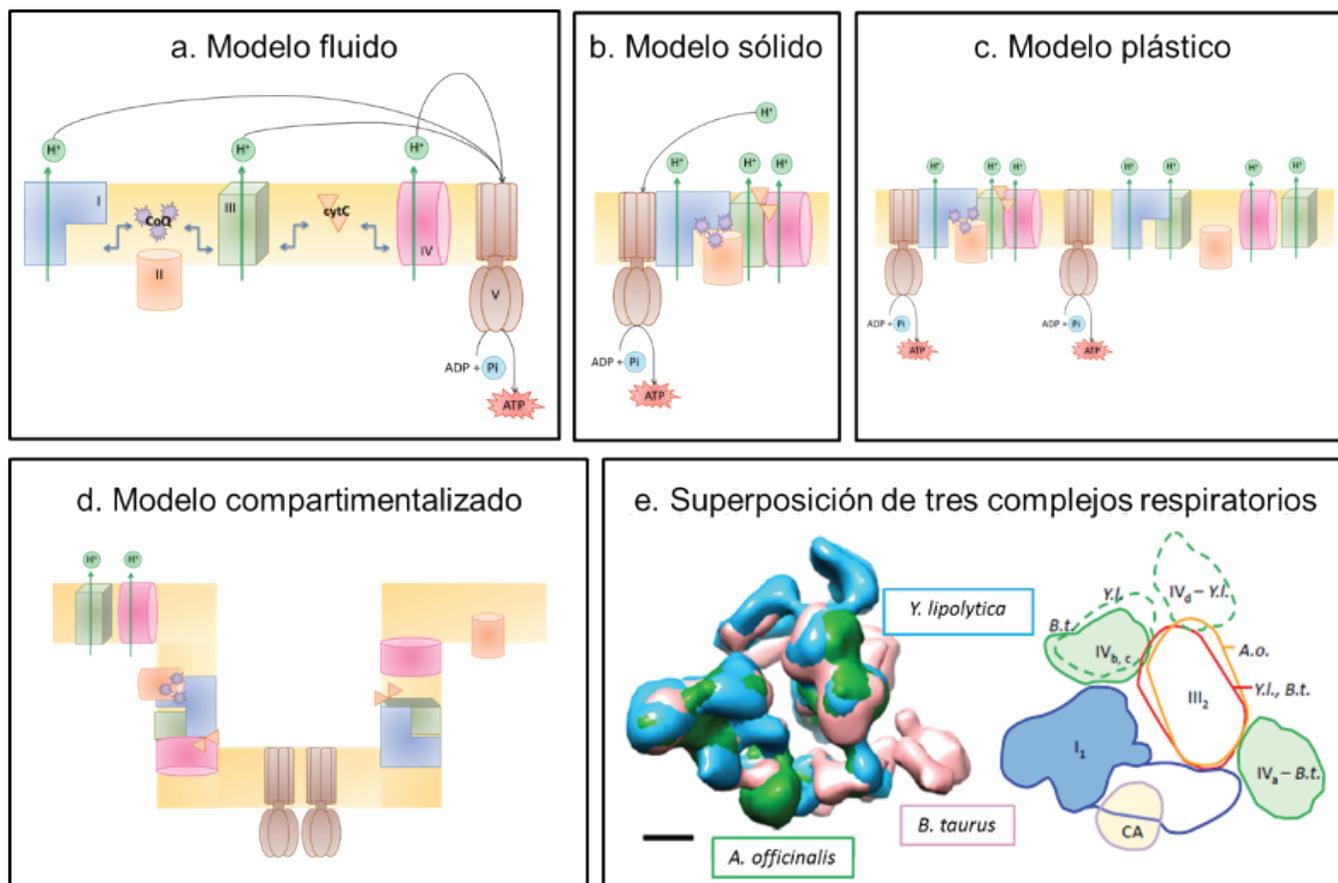


Figura 2. Modelos de los complejos respiratorios en la membrana mitocondrial interna. (a) Mosaico fluido, (b) sólido, (c) plástico y (d) compartimentalizado. (e) Superposición de las estructuras de 3 supercomplejos respiratorios provenientes de la levadura *Yarrowia lipolytica* (*Y. lipolytica*), el buey *Bos taurus* (*B. taurus*) y la planta fanerógama *Althaea officinalis* (*A. officinalis*). Panel a y b modificados de la referencia de (10). Panel c y d modificados de la referencia de (70). Panel e modificado de la referencia de (71).

proceso que se acopla con la formación de ATP en las subunidades $\alpha\beta$ del dominio soluble (F_1).

La fosforilación oxidativa incluye el transporte de electrones en la cadena de transporte de electrones (CTE) y la síntesis de ATP por la ATP sintasa. La demostración de la teoría del acoplamiento quimiosmótico derivó en la otorgación del premio Nobel a Peter Mitchel en 1978 (4). Los tres complejos respiratorios que participan como “bombas” en la generación del gradiente electroquímico de protones son los complejos I (NADH deshidrogenasa), III (quinol:citocromo c oxidorreductasa) y IV (citocromo c oxidasa), que bombean o translocan 4, 4 y 2 protones, respectivamente (5).

Los supercomplejos respiratorios

La membrana mitocondrial interna se describió originalmente como una membrana que semejaba un mosaico fluido, siguiendo el modelo de

Singer y Nicolson (6), con un contenido proteico de hasta un 75% peso/peso. En este modelo se conceptualizaba a las proteínas estructurales y transportadoras, además de los citocromos, las flavoproteínas y los translocadores implicados en la fosforilación oxidativa, como entidades móviles inmersas en una bicapa fosfolipídica enriquecida con cardiolipina, pero carente de colesterol, que permitía cierta libertad de translación y de rotación a las proteínas (Fig. 1).

Para finales de la década de 1990, y en la primera década del siglo XXI, las técnicas de geles nativos azules (7), de microscopía electrónica de transmisión (8) y aproximaciones cinéticas utilizando las herramientas de la teoría de control metabólico (9) trajo consigo tres modelos para los complejos respiratorios de la membrana mitocondrial interna (Fig. 2, panel B): i) El modelo del estado líquido, en donde los complejos respiratorios se encuentran funcionando como entidades

móviles independientes vinculados a través de la quinona y el citocromo c. ii) El modelo sólido, en el que los cuatro componentes de la fosforilación oxidativa se pueden asociar y formar supercomplejos. El modelo propone que los supercomplejos respiratorios son entidades fijas, no dinámicas, en las que cada estructura muestra una relación estequiométrica entre los diferentes complejos y con zonas de contacto bien definidas. iii) El modelo plástico, una combinación de los dos modelos anteriores, en donde existe un equilibrio dinámico entre los supercomplejos respiratorios con estequiometría determinada y los complejos respiratorios libres. iv) Adicionalmente a la formación de supercomplejos, el modelo compartimentalizado describe que los complejos/supercomplejos respiratorios y los oligómeros de la ATP sintasa se localizan en diferentes zonas de las crestas, siendo las regiones con una alta curvatura los sitios en donde se encuentran los dímeros del complejo V, mientras que en las regiones planas se encuentran los complejos/supercomplejos respiratorios (10). Los supercomplejos respiratorios son entidades dinámicas, cuya formación y abundancia depende de la cantidad de los complejos respiratorios y de las demandas energéticas de las células (11).

Los supercomplejos respiratorios se encuentran en todos los seres vivos, desde bacterias hasta eucariotas, los cuales, en términos morfológicos, son más complejos (12). Independientemente de su origen, los supercomplejos tienen una estequiometría altamente conservada, (Fig. 2 panel e). Incluso en microorganismos que carecen del complejo I, como *Saccharomyces cerevisiae* (12). En el ensamblaje de los supercomplejos participan proteínas como la coronatina insensible 1 (Coi1), factor 1 de supercomplejo respiratorio (Rcf1), factor 2 de supercomplejo respiratorio (Rcf2), y factor 1 de ensamblaje de supercomplejos (SCAF1) (13–15), y lípidos de la membrana mitocondrial interna, como la cardiolipina (16, 17).

El retículo mitocondrial

A finales de la década de 1990, por medio de técnicas de biología molecular, se fusionaron proteínas fluorescentes (como la GFP, Green Fluorescent Protein) con proteínas de ubicación mitocondrial, lo que definió a las mitocondrias como un retículo dinámico capaz de responder a diversas fuentes de carbono (Fig. 3 panel a y b), que está vinculado con el citoesqueleto celular y con las membranas del retículo endoplásmico liso (REL) (18). La presencia de los retículos mitocondriales pronto se confirmó en todas las células eucariotas, incluyendo diversas líneas de células humanas (Fig. 3 panel

C) (19). Así, la perspectiva de las mitocondrias cambió de organelos aislados y sellados de manera independiente, a entidades reticulares altamente dinámicas e interconectadas entre sí y con otros organelos celulares.

La descripción de los eventos de fisión y fusión en los retículos mitocondriales, la caracterización de los supercomplejos respiratorios, la identificación de la composición y de la complejidad de las crestas y la participación de los dímeros y oligómeros de orden superior de la F1F0 ATPasa en la formación de las crestas, así como la morfología dinámica del retículo mitocondrial según el estado energético celular, comenzó a dar una nueva perspectiva para la conceptualización de la morfología, función y estado dinámico de las mitocondrias.

La interacción de la mitocondria con el retículo endoplásmico

Un aspecto novedoso en la función de la mitocondria es su relación con el retículo endoplásmico. Aunque en primera instancia se podría suponer que la formación de zonas de contacto entre estos dos organelos se debe a su gran empaquetamiento en el interior de la célula, esta interacción se produce por proteínas específicas; a este complejo formado por la unión de las dos membranas se le llama MAMs (Fig. 4) (membranas asociadas a la mitocondria) (20). Algunas de las proteínas que forman parte de las MAMs participan en el proceso de fusión mitocondrial (mitofusina 1 y 2, Mfn1/2), otras en el transporte de solutos a través de la OMM (canal aniónico dependiente de voltaje, VDAC) o en la liberación del calcio del retículo endoplásmico, como es el receptor de inositol trisfosfato (IP₃R). Las interacciones que estabilizan la unión de las dos membranas tienen diferentes implicaciones funcionales: 1) La interacción Mfn2-Mfn1/2 es importante para mantener unidos a los dos organelos y que el transporte de calcio entre el retículo endoplásmico y la mitocondria sea eficiente (21); además, a través de la ubiquitinación de Mfn2 por el sistema PINK1/parkin (PINK1, por sus siglas en inglés, PTEN-Induced Kinase 1, es una proteína cinasa de serina/treonina que fosforila a parkin, una ubiquitina ligasa) y su posterior degradación, se regula la mitofagia (22); 2) la interacción BAP3-Fis1 participa en la iniciación de la apoptosis (23, 24); 3) la interacción IP₃R-Grp75-VDAC regula la transferencia de calcio del retículo endoplásmico a la mitocondria (25) y, por tanto, la activación de tres enzimas de la matriz mitocondrial: la piruvato deshidrogenasa, la isocitrato deshidrogenasa y la α -cetoglutarato deshidrogenasa; además, esta interacción regula la apoptosis (26); 4) VAPB-

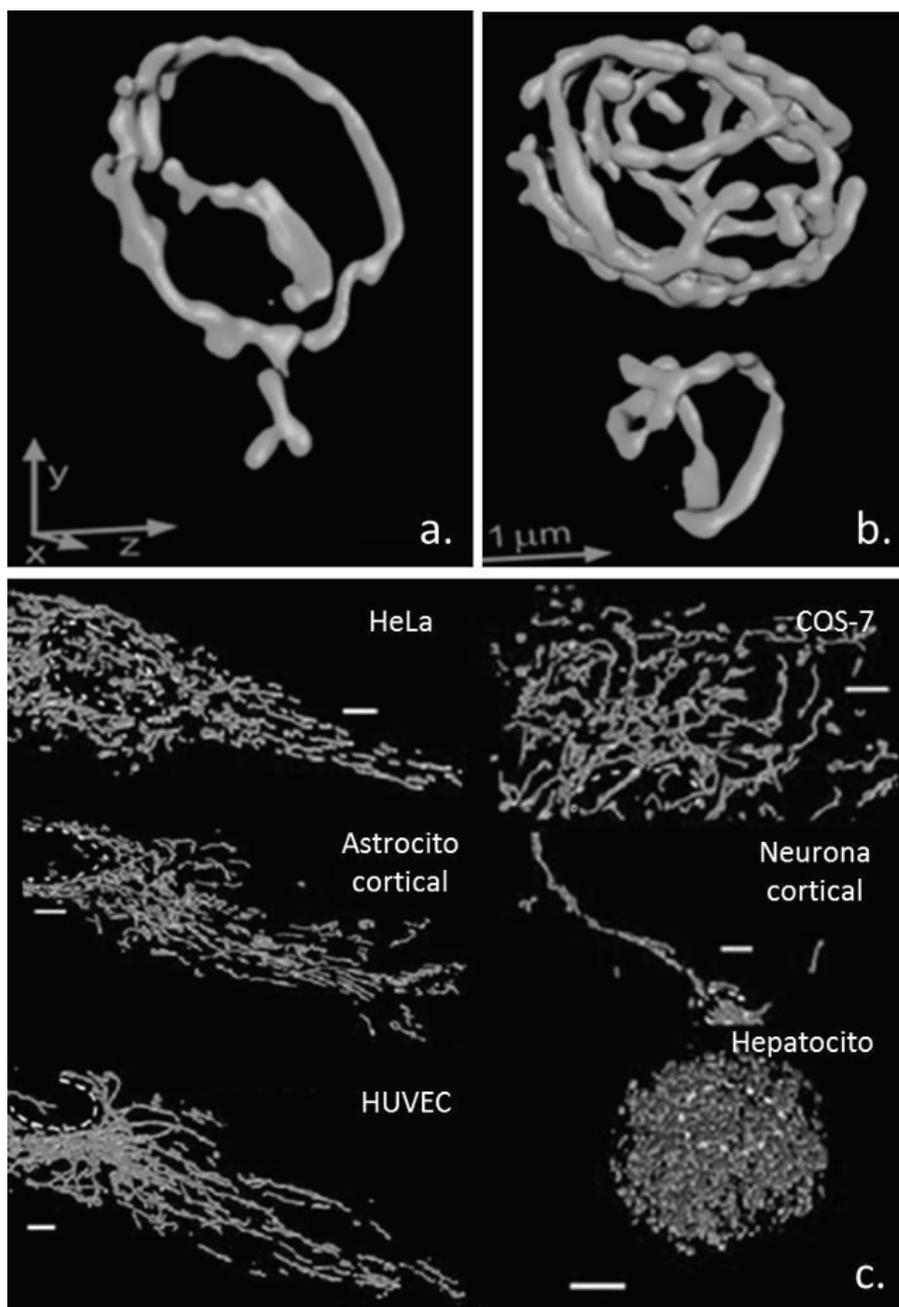


Figura 3. Retículo mitocondrial en células de *S. cerevisiae* y del ser humano. Panel a: el sustrato fermentativo glucosa produce un retículo mitocondrial escaso en *S. cerevisiae*. Panel b, un sustrato respiratorio (glicerol) aumenta en la levadura. Panel c: retículos mitocondriales en diferentes células de animales. HeLa, células de cáncer cérvico-uterino provenientes de tejido humano; COS, células de fibroblasto provenientes de riñón de simio; HUVEC: células epiteliales de la glándula pituitaria de bovino. Las barras corresponden a una longitud de un micrómetro. Figuras a y b, modificadas de la referencia (18). Figura c modificada de la referencia (19).

PTPIP51 participa en la regulación del calcio y en la apoptosis (27) y 5) la interacción ORP5/8-PTPIP51 está involucrada en la transferencia de la fosfatidilserina entre los dos organelos (Tabla 1) (28).

Fusión y fisión mitocondrial

La fusión y la fisión son dos procesos íntimamente asociados a la formación y estabilidad de la red mitocondrial (29–32). Ambos están relacionados con la síntesis de ATP, la generación de ROS, el control de calidad de las mitocondrias (32) y la biogénesis mitocondrial (33). En células de mamí-

TABLA 1

Proteínas que participan en el proceso de fusión mitocondrial.

Componentes proteicos	Función biológica
IP3R-Grp75-VDAC1	Regulación del Ca ²⁺
BAP31-Fis1	Inicio de la apoptosis
VAPB-PTPIP51	Regulación del Ca ²⁺ y apoptosis
ORP5/8-PTPIP51	Transferencia de lípidos
Mfn2-Mfn1/2	Vinculación física

Ver el pie de la figura 4 para el significado de las abreviaturas. Modificada de (72).

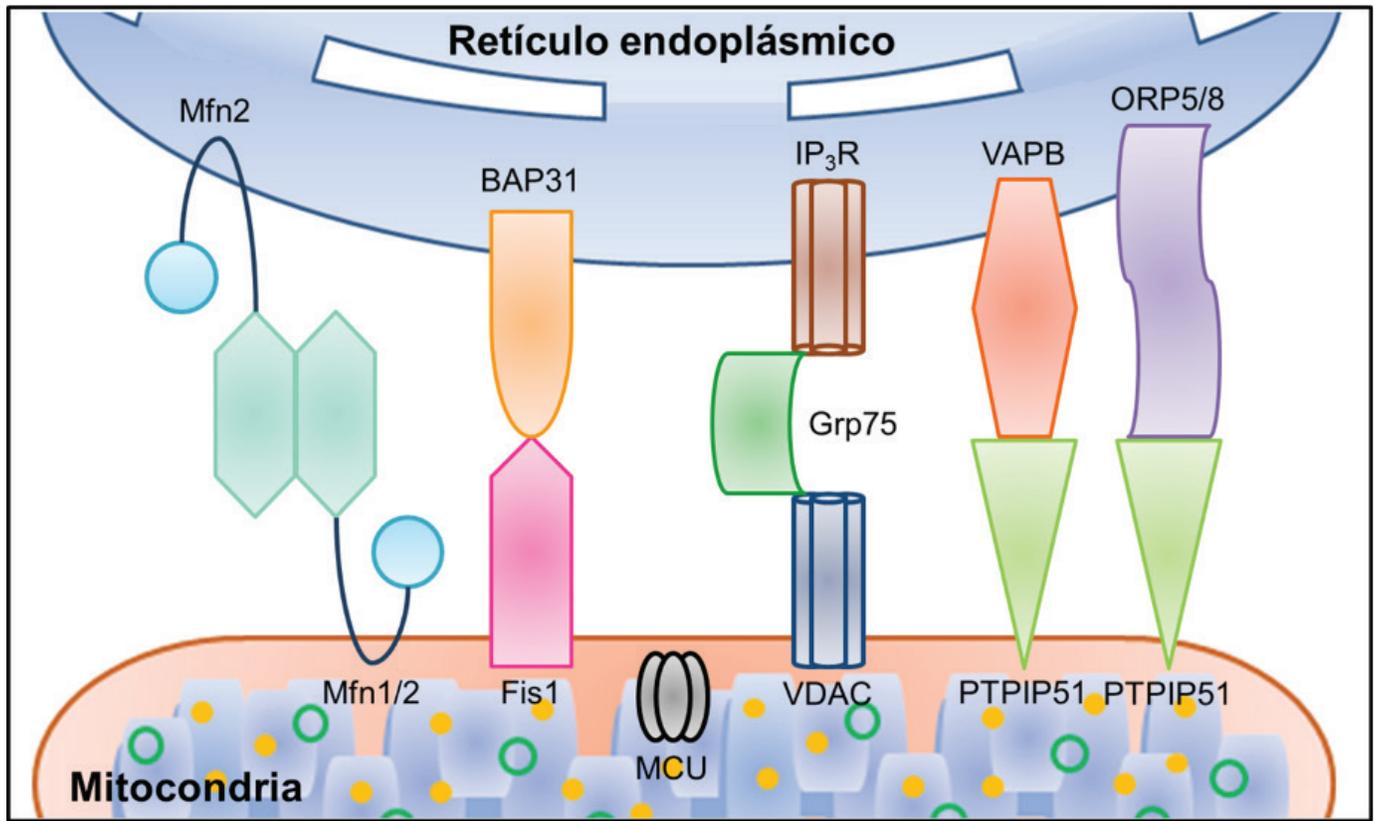


Figura 4. Composición de la interfase mitocondria-retículo endoplásmico. La mitocondria interactúa con el retículo endoplásmico a través de zonas de contacto conocidas como MAM. Fis1, proteína de fisión mitocondrial 1; Mfn2, mitofusina 1; Mfn1/2, mitofusina 1 o 2; IP₃R, receptor de inositol trifosfato; Grp75, proteína de 75 kDa regulada por glucosa; VDAC, canal de aniones dependiente de voltaje; BAP31, proteína de 31 kDa asociada al receptor de células B; VAPB, proteína B de membrana asociada a vesícula; PTPIP51, proteína de 51 kDa que interactúa con la proteína fosfatasa de fosfotirosinas; ORP5/8, proteínas 5 y 8 relacionadas con la unión del oxisterol; MCU, uniportador de calcio mitocondrial. Modificado de (20).

fero, las principales proteínas que median la fusión de las mitocondrias son la mitofusina 1 (Mfn1), la mitofusina 2 (Mfn2), la fosfolipasa D mitocondrial (mitoPLD) y la proteína de atrofia óptica 1 (OPA1). Mfn1/2 y mitoPLD se localizan en la OMM y ayudan a unir dos mitocondrias y llevar a cabo la fusión de las OMM. El dominio de GTPasa de Mfn1/2 y la actividad hidrolítica de mitoPLD sobre la cardiolipina son esenciales para la fusión de la OMM (29, 30, 32). Defectos en Mfn1/2 o en OPA1 producen mitocondrias fragmentadas que son menos eficientes en la síntesis de ATP y producen una mayor cantidad de ROS (11, 34–36). OPA1 es una proteína que se encuentra en la IMM y cuya actividad de GTPasa es esencial para la fusión de la IMM (32) (Fig. 5). Para que esta fusión se lleve a cabo en forma correcta, se debe producir la forma pequeña de OPA1 (S-OPA1) a través de un corte proteolítico sobre OPA1, catalizado por la proteasa YME1L (37). Por otro lado, la fisión mitocondrial está mediada

por la proteína de fisión mitocondrial 1 (Fis1), que se localiza en la OMM y que recluta a la proteína relacionada con la dinamina (Drp1), una proteína citosólica que tiene actividad de GTPasa y que produce un anillo de constricción en la mitocondria (30, 32) (Fig. 5). Un dato interesante es que el reclutamiento de Drp1 y la fisión mitocondrial ocurren en sitios de contacto de la mitocondria con el retículo endoplásmico (32). Otras proteínas que funcionan en el reclutamiento de Drp1 son el factor de fisión mitocondrial (MFF) y las proteínas de dinámica mitocondrial 49 y 51 (MiD49 y MiD51), que actúan también como receptores de Drp1 (30) (Fig. 5). Al contrario de las mitocondrias fragmentadas, la red de mitocondrias fusionadas es óptima para la función de este organelo, por lo que esta red, generalmente, se encuentra en células con una respiración activa. Asimismo, zonas defectuosas del retículo mitocondrial se fisionan para ser procesadas por medio de la mitofagia (31,

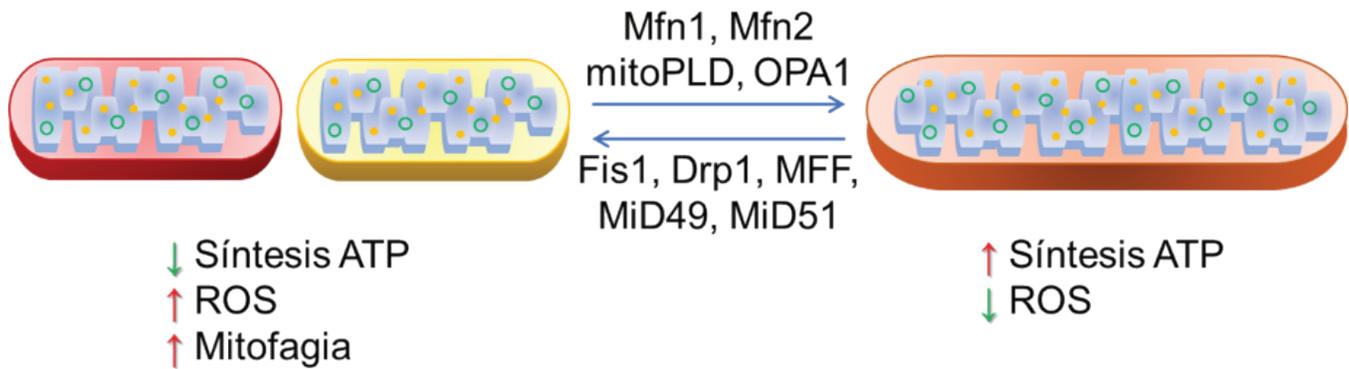


Figura 5. Fisión y fusión mitocondrial. Las proteínas que participan en la fisión mitocondrial son: Fis1, Drp1, MFF, MiD49 y 51. En la fisión la síntesis de ATP disminuye, la generación de ROS aumenta y en consecuencia la mitofagia incrementa. En la fusión participan las proteínas Mfn1/2, mitoPLD, OPA1. La fusión favorece la síntesis de ATP y disminuye la generación de ROS.

32). Sin embargo, la fisión mitocondrial también es esencial para generar mitocondrias nuevas y permitir que las células crezcan y se dividan. Los eventos de fisión y fusión son necesarios incluso en las células no proliferantes, como las neuronas, que no sobreviven sin la fisión mitocondrial (38).

Las crestas mitocondriales

El modelo actual de las crestas mitocondriales (Fig. 6) es más complicado que la propuesta original de

una simple invaginación de la IMM (39). Estructuralmente las crestas se pueden dividir en tres regiones: i) el punto en donde se origina la cresta o unión de cresta, (CJ), ii) una región de alta curvatura, y iii) una región con una superficie plana (Fig. 6). Esta última zona alberga a los componentes de la cadena respiratoria (CI-CIV), mientras que la región de alta curvatura es rica en los dímeros de la ATP sintasa (38, 39). El interior de la cresta es un sitio de almacenamiento del citocromo c, elemento redox que conecta al complejo III con el IV (38).

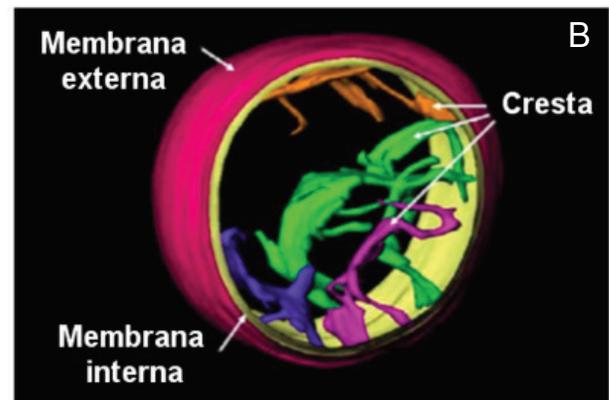
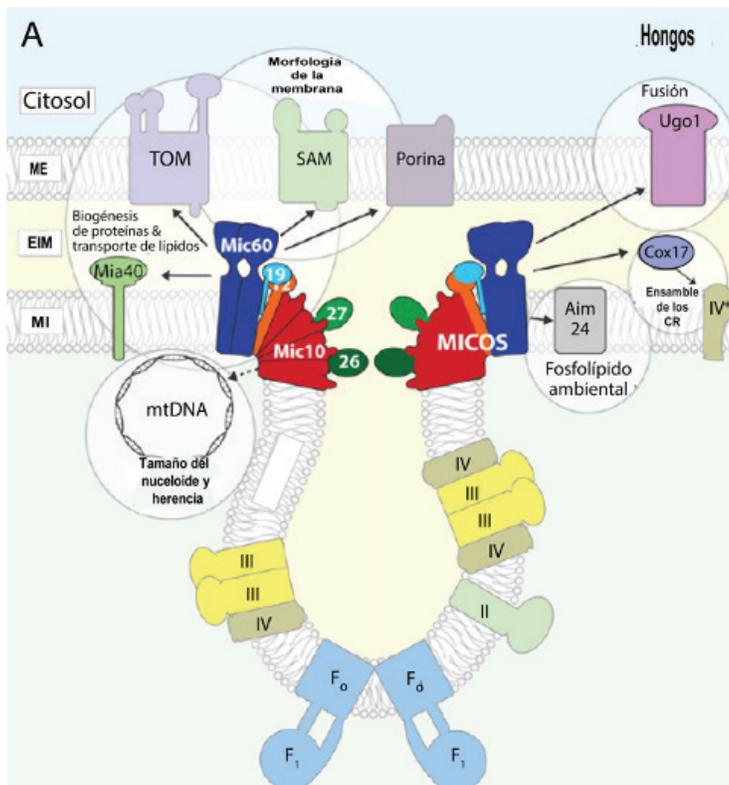


Figura 6. Componentes del complejo MICOS. A) Se muestra a MICOS y sus interacciones en hongos. MICOS se encuentra en el inicio de las crestas mitocondriales. Los complejos respiratorios I, II, III y IV se localizan en la región plana de las crestas y los dímeros de la F1F0-ATP sintasa se encuentran en las regiones de máxima curvatura de las crestas. Dentro de los círculos sombreados se muestran las posibles interacciones de MICOS. Modificado de la referencia (27). B) Tomografía crioelectrónica de la membrana mitocondrial de hígado de ratón. La mitocondria tiene un diámetro de 700 nm. Modificado de la referencia (40).

El resto de la IMM, que no forma invaginaciones, corresponde a la IBM (Inner Boundary Membrane). Las crestas están conectadas con la IBM a través de estructuras conocidas como uniones de cresta, conexiones tubulares de longitud variable (38). Las CJ tienen un diámetro de entre 12 a 40 nm.

Por otra parte, las crestas mitocondriales constantemente sufren modificaciones de tamaño, estructura y número en respuesta a su estado energético, un proceso descrito como la transición entre el estado ortodoxo y condensado (5). El ortodoxo refleja una baja concentración de ADP, se caracteriza por una matriz menos densa y el estado 4 respiratorio (bajo consumo de oxígeno). En el estado condensado la matriz mitocondrial se encuentra compactada, la concentración de ADP es alta y las mitocondrias se encuentran en el estado 3 respiratorio (alto consumo de oxígeno) (40).

En la morfología y la biogénesis de las crestas mitocondriales participan varias proteínas: OPA1, la mitofilina, y los sitios de contacto mitocondrial y el complejo organizador de las crestas mitocondriales (MICOS) (38). Además de su papel en la fusión mitocondrial, OPA1 participa en la arquitectura de la cresta y la formación de las CJ (39). La mitofilina, que actualmente se conoce como MIC60, es una proteína anclada a la IMM a través de un segmento transmembranal en la región aminoterminal (38). Se expresan dos isoformas de esta proteína, una de 88 kDa y otra de 90 kDa, es de origen citosólico y genera sitios de contacto entre la membrana externa e interna de la mitocondria. MIC60 forma parte de MICOS, un sistema hetero oligomérico que se requiere para la formación y el mantenimiento de las crestas (41).

Además de su participación en la formación de las CJ, MICOS es importante para la construcción de sitios de contacto entre la OMM y la IMM, los cuales permiten el importe de pre-proteínas hacia el espacio intermembrana y la IMM (38). Para la construcción de estos sitios de contacto, MICOS interactúa con proteínas de la OMM, como VDAC y la translocasa de membrana externa (TOM) (38).

El número de componentes del sistema MICOS identificado es de 8 y su composición entre las especies es variable. En la levadura *S. cerevisiae*, MICOS tiene 6 subunidades: Mic10, Mic12, Mic19, Mic26, Mic28 y Mic60. En las mitocondrias de humanos, MICOS está integrado por las subunidades: Mic25 (parálogo de Mic19), Mic10, Mic60, Mic28, Mic27 (parálogo de Mic26) y Mic12 (42). MICOS también interactúa con la maquinaria de clasificación y ensamblaje de proteínas con estructura de barril beta (SAM). La interacción entre MICOS

y SAM establece la conexión entre las membranas mitocondriales interna y externa y se conoce como complejo de puente intermembrana de mitocondria (MIB) (43). MICOS da lugar a dos subcomplejos:

i) MIC60: Mic60 y Mic19 forma sitios de contacto con la OMM a través de TOM y SAM (38). También participa en el mantenimiento de las CJ, para lo que es necesario un MICOS intacto. La actividad de Mic60 es independiente de los complejos de la fosforilación oxidativa y la cardiolipina. Sin embargo, en ausencia de MICOS, el CIII y el CIV no son funcionales y las crestas son aberrantes (44). Mic60 participa en la transferencia de lípidos entre la OMM y la IMM. En humanos, Mic60 promueve la acumulación de PINK1 y parkin, que trabajan juntas en el control de la calidad de las mitocondrias. La acumulación de PINK1 en la OMM de mitocondrias dañadas resulta en el reclutamiento de la proteína citosólica parkin, que se encarga de ubiquitinar a proteínas de la OMM para activar la mitofagia (45).

Mic19 se localiza en la IMM hacia el espacio intermembrana. Es una proteína de 26 kDa e interactúa con Mic60 a través de un motivo de espiral presente en el carboxilo terminal mientras que con el amino terminal interactúa con SAM. Mic19 es el puente entre Mic60 y SAM (46). La eliminación de Mic19 produce una disminución de subunidades del CIV acompañada de una respiración basal disminuida y desacoplada (44).

ii) El subcomplejo MIC10 está integrado por Mic10, Mic12, Mic26 y Mic27. Mic10 es una proteína pequeña de membrana, en forma de horquilla, que tiene dos segmentos transmembrana unidos por un bucle corto de carga positiva; ambos extremos están expuestos en el espacio intermembrana. Mic10 forma oligómeros que son la base de las CJ; también puede difundir fuera de las CJ e interactuar con los dímeros de la ATP sintasa, favoreciendo la expansión de la cresta (38,46). La mayoría de los componentes de MICOS son proteínas integrales de membrana, con excepción de Mic19 y Mic26, que son proteínas periféricas. MICOS también interactúa con Ugo1, una proteína de la OMM que participa en el proceso de fusión mitocondrial (38,42). La coordinación entre ambos subcomplejos organiza y mantiene a las crestas mitocondriales.

La regulación de la dinámica mitocondrial

El concepto de dinámica mitocondrial incluye los procesos de fisión y fusión, así como los cambios en la morfología de la cresta (31). Alteraciones

TABLA 2

Modificaciones post-traduccionales clave de las proteínas de la dinámica mitocondrial.

Proteína	Modificación	Efecto biológico
Drp1	Fosforilación (Ser585 y Ser 616) por CDK1-Ciclina B	Promueve la fisión mitocondrial en células mitóticas
	Fosforilación de Ser637 por PKA	Inhibe la fisión, disminuyendo la actividad de GTPasa de Drp1
	Fosforilación de Ser600 por CaMKI α	Activa la fisión
	Desfosforilación por calcineurina	Activa la fisión
	Sumoilación (Lys532, Lys535, Lys558, Lys568, Lys594, Lys606, Lys608) por MAPL	Regula positivamente la fisión mitocondrial
	S-Nitrosilación(Cys644)	Incrementa la dimerización de Drp1 y la fisión mitocondrial.
Fis1	Ubiquitinación por MARCH5	Fis1 para degradación proteosomal; disminuye la fisión mitocondrial
Mfn1	Ubiquitinación por parkin	Mfn1 para la degradación proteosomal; incrementa la fisión mitocondrial, activa la mitofagia.
Mfn2	Fosforilación por PINK1 (Thr111, Ser442, Tyr448)	Favorece la interacción de Mfn2 con parkin; promueve fisión y mitofagia.
	Fosforilación por PKA (Ser442)	Afecta la proliferación celular del músculo vascular.
	Ubiquitinación por parkin	Regula los niveles de Mfn2 y la fusión mitocondrial.
	Fosforilación por JNK (Ser27)	Promueve el reclutamiento de la ubiquitina ligasa HUWE1, llevando a la ubiquitinación y la degradación proteosomal de Mfn2; inhibe la fusión mitocondrial.
OPA1	Escindida por OMA1	Inhibe la fusión mitocondrial
	Escindida por YME1L	Requerida para la fusión mitocondrial
	Escindida por PARL	Requerida para generar una poza de OPA1 pequeña, soluble en el espacio intermembranal.
	Acetilación (Lys936, Lys961)	Disminuye la actividad de GTPasa de OPA1

FIS1, proteína de fisión mitocondrial 1; Mfn1, mitofusina 1; Mfn2, mitofusina 2; CDK1, cinasa 1 dependiente de ciclina; CaMKI α , proteína cinasa la dependiente de calmodulina/calcio; PKA, proteína cinasa dependiente de AMP cíclico; OPA1, proteína asociada a la atrofia óptica 1; MAPL, SUMO ligasa; Drp1, proteína 1 relacionada con la dinamina; MARCH5, ubiquitina ligasa, mitocondrial; YME1L, proteasa i-AAA mitocondrial; PARL, proteasa tipo romboide asociada a la presenilina; PINK1, proteína cinasa de serinas/treoninas; parkin, enzima 3 ubiquitina ligasa; JNK, c-Jun N-terminal cinasa. Modificada de (73).

en esta dinámica conducen a diferentes tipos de enfermedades. Por ejemplo, mutaciones en los genes *DRP1*, *MFN2* y *OPA1* se asocian con encefalopatía, enfermedad tipo 2A de Charcot-Marie-Tooth y atrofia óptica 1, respectivamente (31).

A diferencia de las mitofusinas y la OPA1, que son de localización mitocondrial, Drp1 se encuentra mayoritariamente en el citosol y se dirige a la mitocondria para producir la fisión (47). La activación o inhibición de la fisión depende del estado de fosforilación en diferentes residuos de serina de Drp1 (Tabla 2) (31, 47). Mientras que la fosforilación de la Ser585 y la Ser616 por el complejo ciclina B-CDK1 promueve la fisión mitocondrial en las células mitóticas, la

fosforilación de la Ser637 por la proteína cinasa dependiente de AMPc reduce la fisión debido a que inhibe la actividad de GTPasa de la Drp1. La desfosforilación de la Ser637 por la calcineurina (una fosfatasa que depende de calcio y calmodulina) activa la fisión. Además del proceso de fosforilación-desfosforilación, Drp1 se puede S-nitrosilar (Cis644) y sumoilar en varias lisinas, lo que aumenta la fisión (31).

OPA1 también tiene diferentes tipos de modificación postraduccionales, las cuales afectan la dinámica mitocondrial (Tabla 2) (31). La metaloendopeptidasa OMA1, la metaloproteasa dependiente de ATP (YME1L) y la proteasa de tipo romboide asociada a presenilinas (PARL) son

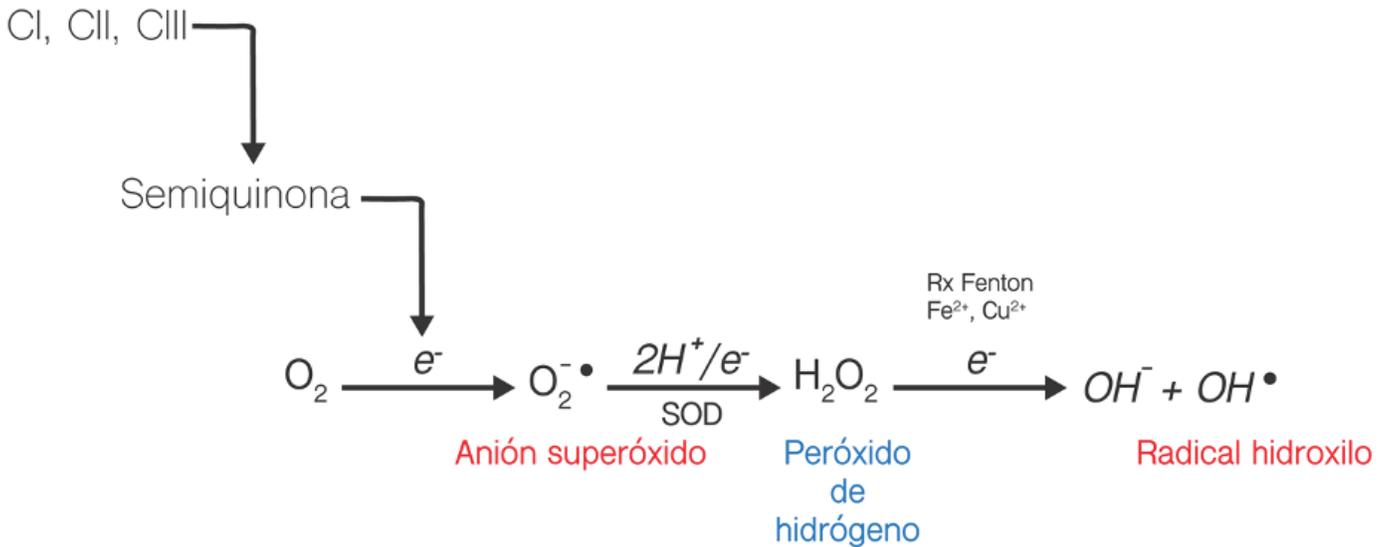


Figura 7. Formación de especies reactivas de oxígeno en la mitocondria. La semiquinona que se produce durante el ciclo catalítico de algunos de los complejos respiratorios cede su electrón al oxígeno para formar el anión superóxido. Cuando el $O_2^{\cdot -}$ se dismuta por la SOD2 se genera el H_2O_2 , que al romperse heterolíticamente al reaccionar con algún metal divalente forma al radical libre hidroxilo (OH^{\cdot}). Modificada de la referencia (5).

tres proteasas de la IMM que cortan a OPA1 en diferentes sitios y producen distintos efectos. La ruptura proteolítica por OMA1 inhibe la fusión mitocondrial (48), mientras que el corte que lleva a cabo la proteasa YME1L produce la forma pequeña de OPA1 (S-OPA1) que se requiere para la fusión mitocondrial (37). PARL produce una forma pequeña de OPA1 en el espacio intermembrana que favorece la oligomerización de OPA1 y la inhibición de la remodelación de la cresta que resulta en la liberación del citocromo c y apoptosis (49). Una modificación adicional de OPA1 es la acetilación de las lisinas 936 y 961, que produce una disminución de la actividad de GTPasa de esta proteína y, por tanto, de la fusión mitocondrial (31). Otras proteínas que se modifican postraduccionalmente son Fis1, Mfn1 y Mfn2 (Tabla 2).

Formación de especies reactivas de oxígeno en la mitocondria

La formación de ROS en las mitocondrias derivada de la fuga de electrones de la CTE hacia el oxígeno fue descrita como "un evento accidental". La fuga de electrones a partir del radical semiquinol hacia el oxígeno da como resultado la formación del radical libre anión superóxido (Fig. 7), que al ser dismutado por la superóxido dismutasa mitocondrial (SOD2), genera al peróxido de hidrógeno (H_2O_2). El H_2O_2 es relativamente inocuo para las biomoléculas como las proteínas, pero al reaccionar con metales divalentes como el Fe^{2+} forma el radical

hidroxilo (OH^{\cdot}), que es extremadamente reactivo (reacción de Fenton, Fig. 7 (2)).

Inicialmente se estimó, con mitocondrias aisladas, que la producción de anión superóxido correspondía aproximadamente al 2% del O_2 consumido (2). Sin embargo, el porcentaje de producción de ROS en la CTE en células es del 0.1 al 0.5% en condiciones de reposo (50) y de 0.01 a 0.03% en condiciones que mimetizan el ejercicio (consumo de oxígeno) (51).

Quinlan y colaboradores mostraron que la producción de ROS en las mitocondrias depende del estado de óxido-reducción de la CTE, así como del potencial redox entre el par de donadores y aceptores de electrones (51). Los principales sitios de producción de ROS en las mitocondrias se determinaron mediante el bloqueo del flujo de electrones con inhibidores de los complejos respiratorios: la rotenona para el Complejo I, la antimicina A para el complejo III y el cianuro para el complejo IV (52). El bloqueo del flujo de electrones incrementa la producción de ROS por arriba del sitio con el que interactúa el inhibidor y disminuye río abajo (52). Cuando las mitocondrias se alimentan con succinato, puede presentarse un transporte reverso de electrones hacia la NADH deshidrogenasa si el complejo III se encuentra inhibido con antimicina A (53).

Con base en el uso de inhibidores se describió el sitio de la flavina (IF) y de la ubiquinona (IQ) en el complejo I como los principales productores de ROS. El sitio IF corresponde al dominio de unión

del flavín mononucleótido (FMN), que contiene el canal de entrada de los electrones provenientes del NADH. El sitio IQ corresponde al dominio de reducción de la quinona. Otros sitios productores de ROS en la CTE son el sitio de oxidación del quinol en el complejo III (IIIQ) y el sitio de oxidación del succinato que contiene al FAD en el complejo II (IIF) (54). En estos sitios la producción de ROS sigue una cinética hiperbólica, en la que a mayor flujo de electrones en la CTE, mayor producción de ROS (53).

El estado fosforilante en las mitocondrias requiere de un voltaje de entre 100 a 140 mV, siendo 120 mV el valor en el que se alcanza la máxima síntesis de ATP (55). En ausencia de ADP y presencia de sustratos respiratorios, los valores de voltaje pueden ser mayores a los 160 mV, que resulta en un aumento en la permeabilidad de la membrana a los protones (4) y un incremento en la generación de ROS, sobre todo en los complejos respiratorios I y II (52)

Formación de especies reactivas de oxígeno fuera de la CTE

En la mitocondria existen otros sitios enzimáticos en donde las reacciones de óxido-reducción también pueden formar ROS (54). En realidad, todas las enzimas clasificadas como óxido-reductasas que catalizan reacciones con altos valores isopotenciales (reacciones que implican la transferencia de electrones entre donadores y aceptores con potenciales redox muy semejantes) pueden ser generadoras de ROS (54). Sin embargo, fuera del funcionamiento del complejo de la α -cetoglutarato deshidrogenasa (α KGDH) y del complejo de la piruvato deshidrogenasa (PDH), la contribución en la formación de ROS por otras enzimas, incluyendo al complejo de la deshidrogenasa de los alfa cetóácidos de cadena ramificada (α BCKDH), es muy poca (53). En la figura 8, se muestran todos los sitios enzimáticos isopotenciales que contribuyen en la formación de ROS.

Un punto importante es que tanto la α KGDH como la PDH se inhiben por H_2O_2 , por lo que se proponen como sitios de regulación en la producción H_2O_2 y en la señalización redox. Una inhibición de ambos complejos enzimáticos por un aumento en los niveles de H_2O_2 puede prevenir una sobreproducción de ROS (56). En términos de contribución a la formación de ROS, la jerarquía en los complejos enzimáticos que se acoplan al par redox $NAD^+/NADH$ es la siguiente: α KGDH > PDH > α BCKDH > Complejo I (sitio IF), en donde la α KGDH puede producir 8 veces más ROS que el sitio IF del complejo I (50).

¿Son las mitocondrias el principal sitio de formación de ROS?

La velocidad de producción de ROS que se observa en las mitocondrias en estado no fosforilante depende del sustrato respiratorio y ronda entre 40 a 180 picomolas·min⁻¹·mg proteína⁻¹ (57, 58), mientras que en presencia de inhibidores de la CTE, la producción de ROS tiene valores de hasta 4.5 nmol·min⁻¹·mg proteína⁻¹ en el sitio IIIQo (50, 51). La producción normal de anión superóxido/ H_2O_2 en las mitocondrias que se encuentran en estado fosforilante y en ausencia de inhibidores está en el orden de 20 a 40 picomolas·min⁻¹·mg proteína⁻¹, dependiendo del sustrato (51, 54).

Estos valores de ROS resultan bajos en comparación con las producidas por la NADPH oxidasa dependiente de calcio y las NADPH oxidasas con dos dominios de unión a calcio (DUOX) en ciertas células. Utilizando diferentes técnicas se ha determinado que en las vacuolas de los neutrófilos se produce entre 1 y 4 moles/L de anión superóxido, que rápidamente dismuta a H_2O_2 , por lo que la concentración de anión superóxido en el estado estacionario está en el orden μ M (59), y para el H_2O_2 se han calculado valores de 30 μ M (60).

Las enzimas productoras de ROS, NOX y DUOX, originalmente se describieron en los fagolisosomas de los macrófagos (61). Posteriormente se encontraron en la membrana plasmática de otras células, por lo que están ampliamente distribuidas en los tejidos de los animales, las plantas, las archeas y los hongos (61, 62). En los mamíferos, ambas enzimas (DUOX y NOX) se activan por hormonas anabólicas como la hormona del crecimiento, el factor de crecimiento endotelial, la insulina, la angiotensina II y diversas citocinas (63–65). En consecuencia, las ROS dejaron de ser percibidas únicamente como moléculas dañinas asociadas a cáncer, envejecimiento celular, desórdenes neuronales y diversas patologías (66).

Además de las oxidoreductasas de la IMM y de la matriz mitocondrial y los sistemas NOX y DUOX, hay otros sitios formadores de ROS como las oxidoreductasas de alto isopotencial, en donde las ROS son un derivado o subproducto de su reacción. Algunas de estas enzimas están involucradas en la degradación de elementos purínicos, como la xantina oxidasa, en la derivatización de catecol e indolaminas, como las monoamino y diamino oxidasas (MAO y DAO), y en la oxidación del araquidonato para la producción de los prostanoïdes, como las ciclooxigenasas 1 y 2 (COX-1 y COX-2), así como los citocromos P₄₅₀ durante su funcionamiento (62). Puesto que son muchos los sitios en donde se producen ROS, y sabiendo que para los neutrófilos

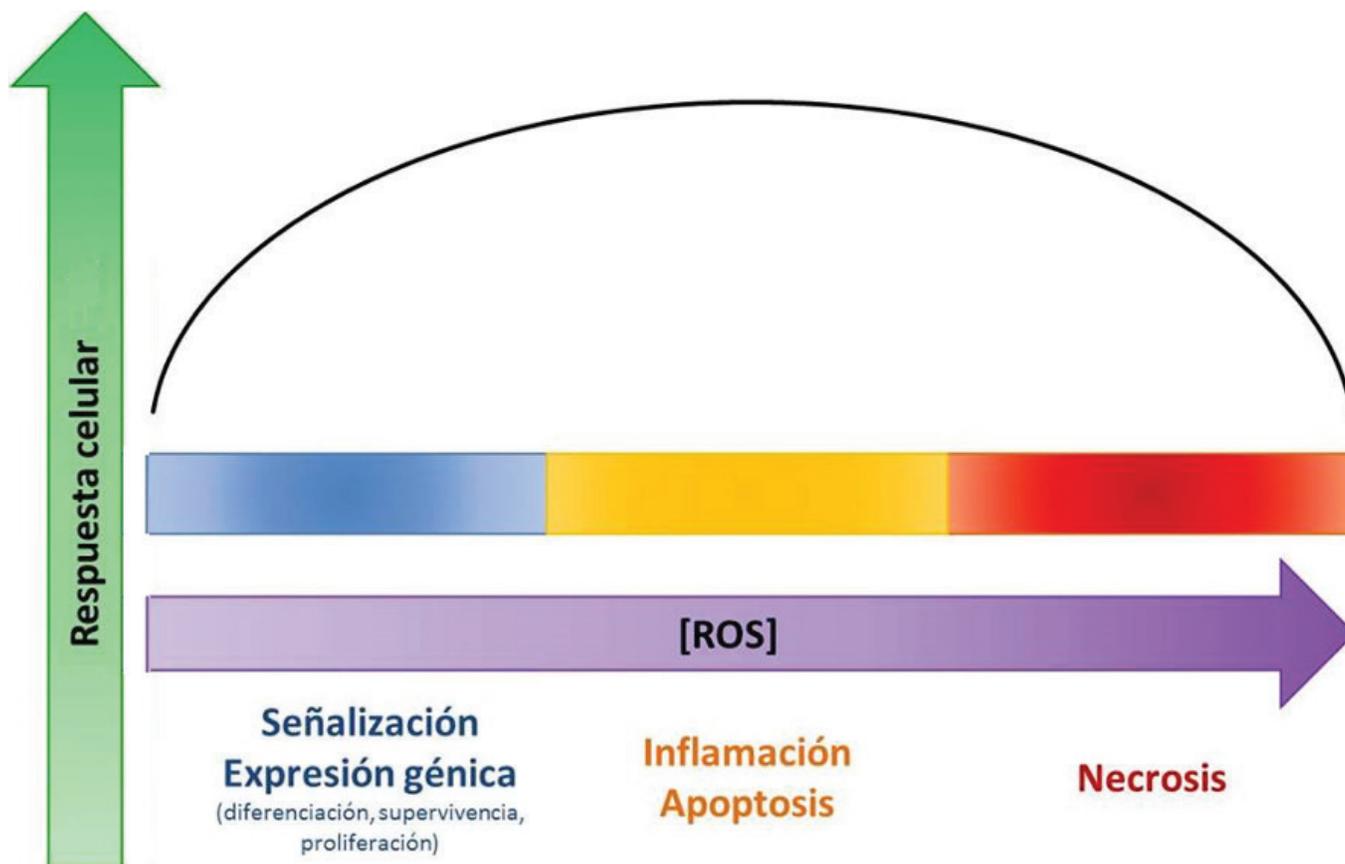


Figura 9. Respuesta hormética de las ROS en células de mamífero. Se muestra la influencia de las ROS sobre el metabolismo celular. Modificada de la referencia (69).

ha reportado que la administración excesiva de compuestos antioxidantes, lejos de ayudar en el manejo del cáncer, lo pueden empeorar (68). En general, cuando ocurren pequeños incrementos en la concentración de las ROS, también se incrementan los niveles de los sistemas antioxidantes, por lo que la mayoría de las veces, las células se encuentran en un equilibrio dinámico con respecto a las ROS. El sistema ROS/antioxidantes más bien se asemeja a un sistema hormético (Fig. 9) (69), en donde a bajas concentraciones, las ROS son necesarias para el funcionamiento celular normal, participando en actividades tan importantes como la diferenciación celular, la supervivencia y la proliferación celular (barra azul) (Fig. 9). Al incrementarse la producción de ROS se pasa a una etapa en la que los antioxidantes desempeñan un papel muy importante en procesos inflamatorios y de muerte celular programada, que ocurren de manera normal durante la diferenciación celular en organismos pluricelulares (barra amarilla), (Fig. 9). La consecuencia de un desequilibrio entre las ROS y los antioxidantes (incrementa la relación ROS/

antioxidante), es la muerte celular no apoptótica (barra roja) (Fig. 9).

Conclusión

El modelo de la estructura y función de las mitocondrias ha pasado de tener complejos respiratorios individuales, mitocondrias estáticas y estables, de 0.5 a 3 μm de longitud, crestas que se producían por la simple invaginación de la membrana mitocondrial interna, y cuya función más importante era la síntesis de ATP, a un modelo en donde las mitocondrias contienen supercomplejos respiratorios, redes mitocondriales dinámicas que se remodelan a través de procesos de fisión y fusión que requieren de la interacción con el retículo endoplásmico, con crestas mitocondriales que se originan a partir de una estructura compleja, cilíndrica (cristae junction), y con funciones como la producción de ROS que participan en procesos de señalización y apoptosis. Lo que implica que la mitocondria es un organelo altamente dinámico esencial para el correcto funcionamiento celular.

Agradecimientos

Los autores agradecen a la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación Tecnológica [PAPIIT

IN222117]; Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, CONACYT [254904-JPP] and [256520-GGS]. Instituto Politécnico Nacional- Secretaría de Investigación y Posgrado, [IPN-SIP 20190200]. 

REFERENCIAS

- Margulis L. Origin of eukaryotic cells: evidence and research implications for a theory of the origin and evolution of microbial, plant, and animal cells on the Precambrian Earth. New Haven: Yale University Press; 1970. 349 p.
- Boveris A, Oshino N, Chance B. The cellular production of hydrogen peroxide. *The Biochemical journal*. 1972 Jul;128(3):617–30.
- Mitchell P. Coupling of phosphorylation to electron and hydrogen transfer by a chemiosmotic type of mechanism. *Nature*. 1961 Jul 8;191:144–8.
- Kadenbach B, Ramzan R, Wen L, Vogt S. New extension of the Mitchell Theory for oxidative phosphorylation in mitochondria of living organisms. *Biochimica et biophysica acta*. 2010 Mar;1800(3):205–12.
- Nelson DL, Cox MM. *Lehninger principles of biochemistry*. Seventh edition. New York, NY : Houndmills, Basingstoke: W.H. Freeman and Company ; Macmillan Higher Education; 2017. 1172 p.
- Singer SJ, Nicolson GL. The structure and chemistry of mammalian cell membranes. *The American journal of pathology*. 1971 Nov;65(2):427–37.
- Schagger H, Pfeiffer K. Supercomplexes in the respiratory chains of yeast and mammalian mitochondria. *The EMBO journal*. 2000 Apr 17;19(8):1777–83.
- Schafer E, Dencher NA, Vonck J, Parcej DN. Three-dimensional structure of the respiratory chain supercomplex I₁III₂IV₁ from bovine heart mitochondria. *Biochemistry*. 2007 Nov 6;46(44):12579–85.
- Bianchi C, Genova ML, Parenti Castelli G, Lenaz G. The mitochondrial respiratory chain is partially organized in a supercomplex assembly: kinetic evidence using flux control analysis. *The Journal of biological chemistry*. 2004 Aug 27;279(35):36562–9.
- Davies KM, Blum TB, Kühlbrandt W. Conserved in situ arrangement of complex I and III₂ in mitochondrial respiratory chain supercomplexes of mammals, yeast, and plants. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2018 Mar 20;115(12): 3024–3029.
- Cogliati S, Frezza C, Soriano ME, Varanita T, Quintana-Cabrera R, Corrado M, Cipolat S, Costa V, Casarin A, Gomes LC, Perales-Clemente E, Salviati L, Fernandez-Silva P, Enriquez JA, Scorrano L. Mitochondrial cristae shape determines respiratory chain supercomplexes assembly and respiratory efficiency. *Cell*. 2013 Sep 26;155(1):160–71.
- Chaban Y, Boekema EJ, Dudkina NV. Structures of mitochondrial oxidative phosphorylation supercomplexes and mechanisms for their stabilisation. *Biochimica et biophysica acta*. 2014 Apr;1837(4):418–26.
- Strogolova V, Furness A, Robb-McGrath M, Garlich J, Stuart RA. Rcf1 and Rcf2, members of the hypoxia-induced gene 1 protein family, are critical components of the mitochondrial cytochrome bc₁-cytochrome c oxidase supercomplex. *Molecular and cellular biology*. 2012 Apr;32(8):1363–73.
- Davoudi M, Kotarsky H, Hansson E, Kallijarvi J, Fellman V. COX7A2L/SCAFI and Pre-Complex III Modify Respiratory Chain Supercomplex Formation in Different Mouse Strains with a Bcs1l Mutation. *PloS one*. 2016;11(12):e0168774.
- Singhal RK, Kruse C, Heidler J, Strecker V, Zwicker K, Düsterwald L, Westermann B, Herrmann JM, Witting I, Rapaport D. Coi1 is a novel assembly factor of the yeast complex III-complex IV supercomplex. *Molecular biology of the cell*. 2017 Aug 9; 28 (20): 2609–22.
- Acehan D, Malhotra A, Xu Y, Ren M, Stokes DL, Schlame M. Cardiolipin affects the supramolecular organization of ATP synthase in mitochondria. *Biophys J*. 2011 May 4;100(9):2184–92.
- Baker CD, Basu Ball W, Pryce EN, Gohil VM. Specific requirements of nonbilayer phospholipids in mitochondrial respiratory chain function and formation. *Mol Biol Cell*. 2016 Jul 15;27(14):2161–71.

18. Griparic L, van der Bliek AM. The many shapes of mitochondrial membranes. *Traffic*. 2001 Apr;2(4):235-44.
19. Collins TJ, Berridge MJ, Lipp P, Bootman MD. Mitochondria are morphologically and functionally heterogeneous within cells. *The EMBO journal*. 2002 Apr 2;21(7):1616-27.
20. Lee S, Min K-T. The Interface Between ER and Mitochondria: Molecular Compositions and Functions. *Mol Cells*. 2018 Dec 31;41(12):1000-7.
21. de Brito OM, Scorrano L. Mitofusin 2 tethers endoplasmic reticulum to mitochondria. *Nature*. 2008 Dec 4;456(7222):605-10.
22. McLelland G-L, Goiran T, Yi W, Dorval G, Chen CX, Lauinger ND, Kranhn AI, Valimerhr S, Rakovic A, Rouiller I, Durcan TM, Trempe JF, Fon EA. Mfn2 ubiquitination by PINK1/parkin gates the p97-dependent release of ER from mitochondria to drive mitophagy. *Elife*. 2018 20;7.
23. Iwasawa R, Mahul-Mellier A-L, Datler C, Pazarentzos E, Grimm S. Fis1 and Bap31 bridge the mitochondria-ER interface to establish a platform for apoptosis induction. *EMBO J*. 2011 Feb 2;30(3):556-68.
24. Yu T, Fox RJ, Burwell LS, Yoon Y. Regulation of mitochondrial fission and apoptosis by the mitochondrial outer membrane protein hFis1. *J Cell Sci*. 2005 Sep 15;118(Pt 18):4141-51.
25. Szabadkai G, Bianchi K, Várnai P, De Stefani D, Wieckowski MR, Cavagna D, Nagy AI, Balla T, Rizzuto R. Chaperone-mediated coupling of endoplasmic reticulum and mitochondrial Ca²⁺ channels. *J Cell Biol*. 2006 Dec 18;175(6):901-11.
26. Honrath B, Metz I, Bendridi N, Rieusset J, Culmsee C, Dolga AM. Glucose-regulated protein 75 determines ER-mitochondrial coupling and sensitivity to oxidative stress in neuronal cells. *Cell Death Discov*. 2017;3:17076.
27. Gomez-Suaga P, Paillusson S, Stoica R, Noble W, Hanger DP, Miller CCJ. The ER-Mitochondria Tethering Complex VAPB-PTPIP51 Regulates Autophagy. *Curr Biol*. 2017 Feb 6;27(3):371-85.
28. Galmes R, Houcine A, van Vliet AR, Agostinis P, Jackson CL, Giordano F. ORP5/ORP8 localize to endoplasmic reticulum-mitochondria contacts and are involved in mitochondrial function. *EMBO Rep*. 2016;17(6):800-10.
29. Scott I, Youle RJ. Mitochondrial fission and fusion. *Essays in biochemistry*. 2010;47:85-98.
30. Tilokani L, Nagashima S, Paupe V, Prudent J. Mitochondrial dynamics: overview of molecular mechanisms. *Essays in biochemistry*. 2018 Jul 20;62(3):341-60.
31. Giacomello M, Pyakurel A, Glytsou C, Scorrano L. The cell biology of mitochondrial membrane dynamics. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2020;21(4):204-24.
32. Sabouny R, Shutt TE. Reciprocal Regulation of Mitochondrial Fission and Fusion. *Trends in biochemical sciences*. 2020 Jul;45(7):564-77.
33. Fu W, Liu Y, Yin H. Mitochondrial Dynamics: Biogenesis, Fission, Fusion, and Mitophagy in the Regulation of Stem Cell Behaviors. *Stem Cells Int*. 2019;2019:9757201.
34. Chen H, Detmer SA, Ewald AJ, Griffin EE, Fraser SE, Chan DC. Mitofusins Mfn1 and Mfn2 coordinately regulate mitochondrial fusion and are essential for embryonic development. *J Cell Biol*. 2003 Jan 20;160(2):189-200.
35. Griparic L, van der Wel NN, Orozco IJ, Peters PJ, van der Bliek AM. Loss of the intermembrane space protein Mgm1/OPA1 induces swelling and localized constrictions along the lengths of mitochondria. *J Biol Chem*. 2004 Apr 30;279(18):18792-8.
36. Hung CH-L, Cheng SS-Y, Cheung Y-T, Wuwongse S, Zhang NQ, Ho Y-S, Lee SM, Chang RC. A reciprocal relationship between reactive oxygen species and mitochondrial dynamics in neurodegeneration. *Redox Biol*. 2018;14:7-19.
37. Song Z, Chen H, Fiket M, Alexander C, Chan DC. OPA1 processing controls mitochondrial fusion and is regulated by mRNA splicing, membrane potential, and Yme1L. *J Cell Biol*. 2007 Aug 27;178(5):749-55.
38. Rampelt H, Zerbes RM, van der Laan M, Pfanner N. Role of the mitochondrial contact site and cristae organizing system in membrane architecture and dynamics. *Biochimica et biophysica acta Molecular cell research*. 2017 Apr;1864(4):737-46.
39. Zick M, Rabl R, Reichert AS. Cristae formation-linking ultrastructure and function of mitochondria. *Biochimica et biophysica acta*. 2009 Jan;1793(1):5-19.
40. Mannella CA. Structure and dynamics of the mitochondrial inner membrane cristae. *Biochimica et biophysica acta*. 2006 Jun;1763(5-6):542-8.
41. Gieffers C, Koriath F, Heimann P, Ungermann C, Frey J. Mitofilin is a transmembrane protein of the inner mitochondrial membrane expressed as two isoforms. *Experimental cell research*. 1997 May 1;232(2):395-9.

42. Muñoz-Gómez SA, Slamovits CH, Dacks JB, Baier KA, Spencer KD, Wideman JG. Ancient homology of the mitochondrial contact site and cristae organizing system points to an endosymbiotic origin of mitochondrial cristae. *Current biology : CB*. 2015 Jun 1;25(11):1489–95.
43. Kozjak-Pavlovic V. The MICOS complex of human mitochondria. *Cell and tissue research*. 2017 Jan;367(1):83–93.
44. Cogliati S, Enriquez JA, Scorrano L. Mitochondrial Cristae: Where Beauty Meets Functionality. *Trends in biochemical sciences*. 2016 Mar;41(3):261–73.
45. Pickrell AM, Youle RJ. The roles of PINK1, parkin, and mitochondrial fidelity in Parkinson's disease. *Neuron*. 2015 Jan 21;85(2):257–73.
46. Quintana-Cabrera R, Mehrotra A, Rigoni G, Soriano ME. Who and how in the regulation of mitochondrial cristae shape and function. *Biochemical and biophysical research communications*. 2018 May 27;500(1):94–101.
47. Kanamaru Y, Sekine S, Ichijo H, Takeda K. The phosphorylation-dependent regulation of mitochondrial proteins in stress responses. *J Signal Transduct*. 2012;2012:931215.
48. Head B, Griparic L, Amiri M, Gandre-Babbe S, van der Blik AM. Inducible proteolytic inactivation of OPA1 mediated by the OMA1 protease in mammalian cells. *J Cell Biol*. 2009 Dec 28;187(7):959–66.
49. Cipolat S, Rudka T, Hartmann D, Costa V, Serneels L, Craessaerts K, Metzger K, Frezza C, Annaert W, D'Adamio L, Derks C, Dejaegere T, Pellegrini L, D'Hoese R, Scorrano L, De Strooper B. Mitochondrial rhomboid PARL regulates cytochrome c release during apoptosis via OPA1-dependent cristae remodeling. *Cell*. 2006 Jul 14;126(1):163–75.
50. Goncalves RL, Quinlan CL, Perevoshchikova IV, Hey-Mogensen M, Brand MD. Sites of superoxide and hydrogen peroxide production by muscle mitochondria assessed ex vivo under conditions mimicking rest and exercise. *The Journal of biological chemistry*. 2015 Jan 2;290(1):209–27.
51. Quinlan CL, Orr AL, Perevoshchikova IV, Treberg JR, Ackrell BA, Brand MD. Mitochondrial complex II can generate reactive oxygen species at high rates in both the forward and reverse reactions. *The Journal of biological chemistry*. 2012 Aug 3;287(32):27255–64.
52. Quinlan CL, Perevoshchikova IV, Hey-Mogensen M, Orr AL, Brand MD. Sites of reactive oxygen species generation by mitochondria oxidizing different substrates. *Redox biology*. 2013;1:304–12.
53. Mailloux RJ. Teaching the fundamentals of electron transfer reactions in mitochondria and the production and detection of reactive oxygen species. *Redox biology*. 2015;4:381–98.
54. Brand MD. Mitochondrial generation of superoxide and hydrogen peroxide as the source of mitochondrial redox signaling. *Free radical biology & medicine*. 2016 Nov;100:14–31.
55. Ramzan R, Staniek K, Kadenbach B, Vogt S. Mitochondrial respiration and membrane potential are regulated by the allosteric ATP-inhibition of cytochrome c oxidase. *Biochimica et biophysica acta*. 2010 Sep;1797(9):1672–80.
56. Nulton-Persson AC, Starke DW, Mieyal JJ, Szweda LI. Reversible inactivation of alpha-ketoglutarate dehydrogenase in response to alterations in the mitochondrial glutathione status. *Biochemistry*. 2003 Apr 15;42(14):4235–42.
57. Adjeitey CN, Mailloux RJ, Dekemp RA, Harper ME. Mitochondrial uncoupling in skeletal muscle by UCP1 augments energy expenditure and glutathione content while mitigating ROS production. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2013 Aug 1;305(3):E405–15.
58. Quinlan CL, Goncalves RL, Hey-Mogensen M, Yadava N, Bunik VI, Brand MD. The 2-oxoacid dehydrogenase complexes in mitochondria can produce superoxide/hydrogen peroxide at much higher rates than complex I. *The Journal of biological chemistry*. 2014 Mar 21;289(12):8312–25.
59. Segal AW. How neutrophils kill microbes. *Annual review of immunology*. 2005;23:197–223.
60. Klebanoff SJ, Kettle AJ, Rosen H, Winterbourn CC, Nauseef WM. Myeloperoxidase: a front-line defender against phagocytosed microorganisms. *Journal of leukocyte biology*. 2013 Feb;93(2):185–98.
61. Dröge W. Free Radicals in the Physiological Control of Cell Function. *Physiological Reviews*. 2002 Jan 1;82(1):47–95.
62. Lambeth JD, Neish AS. Nox enzymes and new thinking on reactive oxygen: a double-edged sword revisited. *Annual review of pathology*. 2014;9:119–45.
63. Griendling KK, Minieri CA, Ollerenshaw JD, Alexander RW. Angiotensin II stimulates NADH and NADPH oxidase activity in cultured vascular smooth muscle cells. *Circulation research*. 1994 Jun;74(6):1141–8.

64. Sundaresan M, Yu ZX, Ferrans VJ, Irani K, Finkel T. Requirement for generation of H₂O₂ for platelet-derived growth factor signal transduction. *Science*. 1995 Oct 13;270(5234):296–9.
65. Bae YS, Kang SW, Seo MS, Baines IC, Tekle E, Chock PB, Rhee SG. Epidermal growth factor (EGF)-induced generation of hydrogen peroxide. Role in EGF receptor-mediated tyrosine phosphorylation. *J Biol Chem*. 1997 Jan 3;272(1):217–21.
66. Birben E, Sahiner UM, Sackesen C, Erzurum S, Kalayci O. Oxidative stress and antioxidant defense. *World Allergy Organ J*. 2012 Jan;5(1):9–19.
67. Zorov DB, Juhaszova M, Sollott SJ. Mitochondrial reactive oxygen species (ROS) and ROS-induced ROS release. *Physiological reviews*. 2014 Jul;94(3):909–50.
68. Le Gal K, Ibrahim MX, Wiel C, Sayin VI, Akula MK, Karlsson C, Dalin MG, Akyürek LM, Lindahl P, Nilsson J, Bergo MO. Antioxidants can increase melanoma metastasis in mice. *Science translational medicine*. 2015 Oct 7;7(308):308re8.
69. Diebold L, Chandel NS. Mitochondrial ROS regulation of proliferating cells. *Free radical biology & medicine*. 2016 Nov;100:86–93.

LA FUNCIÓN DE LA O- β -N ACETILGLUCOSAMINA (O-GlcNAc) EN LOS PROCESOS DE ENFERMEDAD*

Gabriela Fuentes-García¹, Cristina Patlán-Castañeda¹,
Tony Lefebvre² y Martha Robles-Flores^{1,3}

¹Departamento de Bioquímica. Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México. CDMX, México.

²UMR CNRS 8576, Université de Lille. Lille, France. ³Autor de correspondencia: rmartha@unam.mx

RESUMEN

La O-GlcNAcilación es una glicosilación no-canónica que consta de la unión del motivo O-GlcNAc en las serinas y treoninas de diversas proteínas. Ya que la producción de O-GlcNAc depende del flujo de glucosa, aminoácidos, ácidos grasos y nucleótidos, se ha postulado como un sensor del estatus nutricional de la célula. Sin embargo, la literatura que describe su papel en la regulación de diversos procesos celulares ha incrementado de forma importante desde su descubrimiento. Por lo que ahora, no solo es considerado como un sensor nutricional, sino como una modificación postraduccional que interacciona con otras como la fosforilación, metilación, ubiquitinación para mantener la homeostasis celular. Asimismo, se ha descrito ampliamente que el desequilibrio en los niveles de O-GlcNAc se ha asociado con diversas patologías. Debido a lo anterior, el objetivo de esta revisión es describir algunos de las principales funciones que desempeña la O-GlcNAcilación durante diversas patologías y procesos celulares.

ABSTRACT

O-GlcNAcylation is a non-canonical glycosylation that consists of a linkage of O-GlcNAc motif to Serine and Threonine residues of different proteins. Since O-GlcNAc depends on the flux of glucose, amino acids, fatty acids, and nucleotides, it has been postulated as a nutrient status sensor within the cell. However, literature describing its role in the regulation of several cellular processes has greatly increased since the discovery of O-GlcNAc. Now, O-GlcNAc is not only considered as a nutritional sensor, but as a posttranslational modification (PTM) which interacts with other PTMs, such as phosphorylation, methylation, ubiquitylation to maintain cellular homeostasis. Likewise, it has been widely described that a disturbance in the levels of O-GlcNAc is associated with several pathologies. Thus, the present review is aimed to summarize some of the main roles of O-GlcNAcylation during different pathologies and cellular processes.

Introducción

La O-GlcNAcilación es una modificación postraduccional (PTM, post-translational modification, por sus siglas en inglés) que consta de la unión entre el grupo hidroxilo de la serina o treonina de proteínas citoplasmáticas, nucleares y mitocondriales y la N-acetil-glucosamina (GlcNAc) a

través de un enlace β -glucosídico (1). O-GlcNAc proviene del sustrato Uridina-Difosfato-GlcNAc (UDP-GlcNAc) que es el producto final del flujo de nutrientes a través de la vía biosintética de las hexosaminas (HBP, Hexosamine Biosynthetic Pathway), la cual integra el metabolismo de glucosa, aminoácidos, ácidos grasos y nucleótidos. Solo existen dos enzimas responsables de

PALABRAS

CLAVE:

O-GlcNAc, modificación postraduccional, cáncer, diabetes, falla cardiaca.

KEY WORDS:

O-GlcNAc, post-translational modification, cancer, diabetes, cardiac failure.

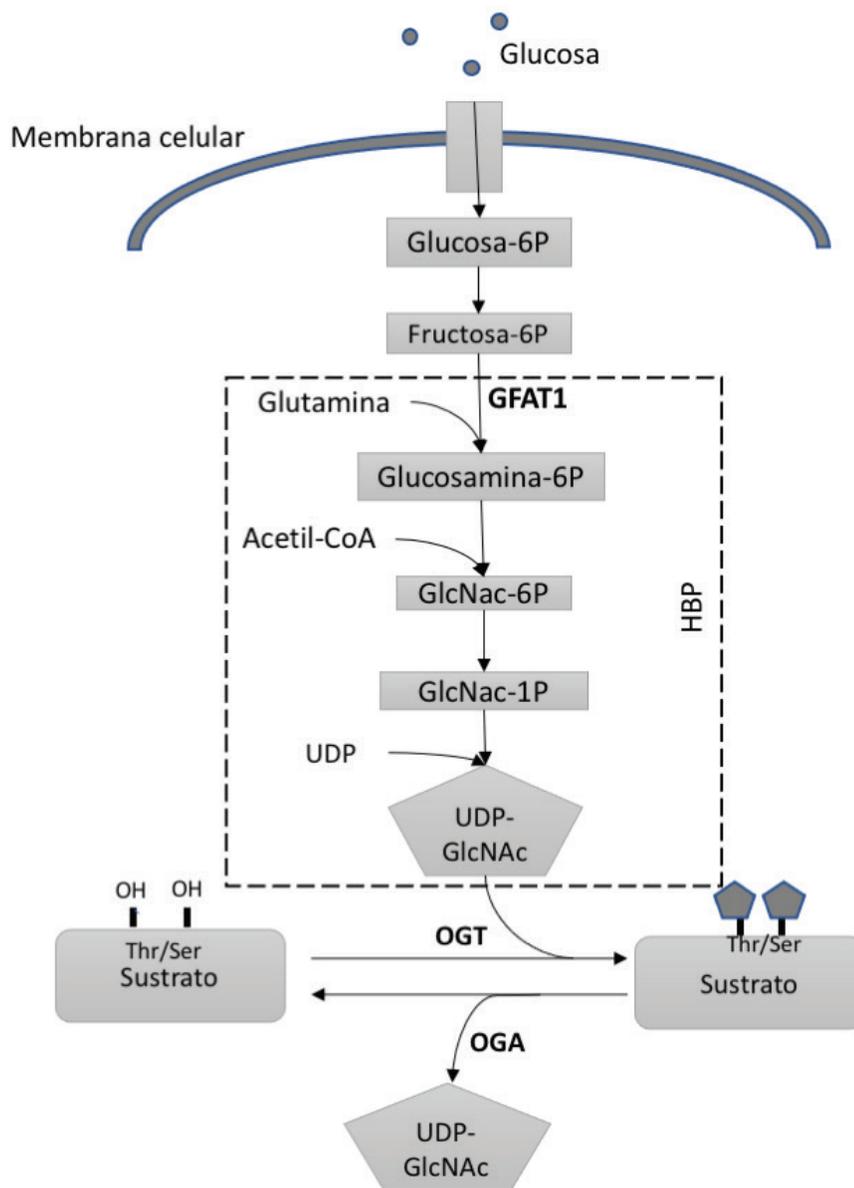


Figura 1. El flujo de nutrientes a través de la vía Biosintética de las Hexosaminas (HBP) regula la O-GlcNAc. La glucosa entra a la célula desde el medio extracelular por las proteínas transportadoras de glucosa (GLUT, Glucose Transporter). Mientras que la mayoría de la glucosa que ingresa a la célula se usa para la glucólisis y la síntesis de glucógeno, aproximadamente de 2-5% de la glucosa se destina a HBP. GFAT1 (Glutamine-Fructose-6-Phosphate Amidotransferase 1) cataliza el paso limitante de HBP, el cual convierte a la fructosa-6-fosfato en glucosamina-6-fosfato. Una subsecuente acetilación y uridilación produce el sustrato para la O-GlcNAc, Uridina-Difosfato-GlcNAc. O-GlcNAc Transferasa (OGT) y O-GlcNAcase (OGA) catalizan la adición y remoción de O-GlcNAc, respectivamente.

catalizar la adición y la remoción de O-GlcNAc: O-GlcNAc Transferasa (OGT), la cual cataliza la transferencia del GlcNAc desde el sustrato donador UDP-GlcNAc a los grupos hidroxilo de residuos de Ser y Thr de proteínas blanco; y O-GlcNAcase (OGA), que cataliza la hidrólisis de la modificación (2). Ya que la producción de O-GlcNAc requiere de diversos nutrientes derivados de otras vías metabólicas, se ha propuesto que la O-GlcNAc es un sensor metabólico y nutricional (Fig. 1). Sin embargo, evidencia creciente indica que interviene en la regulación de procesos celulares como la transcripción de genes, la traducción de proteínas, algunas vías de señalización, el metabolismo, la apoptosis; entre otros. A diferencia de las glucosilaciones

canónicas, la glucosilación mediante O-GlcNAc es muy dinámica y frecuentemente es trascendente en respuesta a diversas señales ambientales y fisiológicas. Incluso, se ha reportado que interacciona con otras PTMs, como la fosforilación, la ubiquitinación, la acetilación y la metilación (3). Gracias al desarrollo de diversas tecnologías que han permitido identificar la O-GlcNAc de proteínas específicas, se ha descrito que el número de proteínas modificadas en células humanas ha incrementado de algunos cientos a cerca de 4000, y la lista sigue en aumento (4). En este artículo se resumen algunas de las funciones que desempeña la O-GlcNAc en diferentes procesos biológicos, como la regulación de la función de diversas proteínas, y se describe el

papel que juega en algunas patologías como el cáncer y la enfermedad de Alzheimer.

O-GlcNAc y su interacción con proteínas nucleares

Entre las proteínas que son modificadas por O-GlcNAc, cerca del 25% de ellas son factores de transcripción o proteínas que están involucradas en la regulación de la expresión génica (5). La O-GlcNAcilación de estas proteínas puede determinar su localización subcelular, su interacción con otras proteínas, la fosforilación por proteínas cinasas para determinar su actividad, o incluso determinar su capacidad de unión a DNA en respuesta a ciertos estímulos fisiológicos (6). Desde hace décadas se mostró que la RNA polimerasa II (Pol II) se modifica por O-GlcNAc (7). El dominio C-Terminal (CTD) de RNA-Pol II se fosforila y es O-GlcNAcificado recíprocamente en las Ser2 y Ser5; la RNA-Pol II que está O-GlcNAcificada está enriquecida en sitios de inicio de la transcripción lo que permite el ensamblaje del complejo de pre-iniciación, mientras que la remoción de O-GlcNAc del CTD promueve la fosforilación necesaria durante el inicio de la transcripción y la elongación (8, 9). Se ha propuesto que, en genes activamente transcritos, la acción secuencial de OGT y OGA es esencial para reciclar a la RNA-Pol II de regreso al complejo de pre-iniciación después de cada ronda de transcripción y se ha sugerido que en el núcleo ambas enzimas pueden formar un complejo que interactúe de forma eficiente con sus proteínas blanco (3). También, existe evidencia que sugiere que la O-GlcNAcilación está involucrada con vías de reparación del DNA. Se ha mostrado que la enzima Topoisomerasa I (Topo I) se une a OGT y es O-GlcNAcificada. Se observó que al incrementar los niveles de O-GlcNAc, se incrementa también la actividad de Topo I (10). Asimismo, se ha descrito que OGT se repositona en los sitios de daño en el DNA y regula de manera negativa la fosforilación (inducida por el rompimiento de la doble cadena del DNA) de la histona H2AX y de la proteína MDC1 (Mediator of DNA Damage Checkpoint) limitando así la expansión de los eventos de fosforilación del sitio inicial del daño al DNA (11). Por otro lado, se observó que la O-GlcNAcilación de CRTC2, FOXO1 y PGC1 modula la expresión de genes involucrados en la gluconeogénesis en hepatocitos (12, 13, 14). Además, afecta la translocación, la unión al DNA y la estabilidad del factor de transcripción NF κ B a través de la O-GlcNAcilación de la subunidad p65. Esto disminuye la unión del inhibidor I κ B α e incrementa la translocación y la actividad trans-

cripcional mientras que la O-GlcNAcilación de c-REL es esencial para la unión al DNA (15, 16).

Aproximadamente el 50% de OGT en el núcleo existe en complejo con HCF1, por lo que OGT se ha relacionado con varias modificaciones en las histonas (17). Se ha demostrado que el complejo OGT-HCF1 (Host Cell Factor 1) interactúa con la proteína 1 asociada a BRCA1 (BAP1), un componente del complejo PR-DUB que desubiquitila la histona H2A (18). Asimismo, OGT se requiere para la trimetilación de la histona H3 en la Lys27, probablemente porque estabiliza la metiltransferasa de histonas EZH2 y mantiene la integridad del complejo represivo PCR2 (19, 20). También, se demostró que la O-GlcNAcilación de H2B facilita su mono-ubiquitinación, proceso que se ha asociado con la transcripción activa de genes (21). Más aún, OGT se asocia con el complejo co-represor deacetilasa de histonas SIN3A y se ha propuesto que la O-GlcNAcilación de los factores de transcripción y de RNA-Pol II actúen en paralelo con la deacetilación de las histonas para promover el silenciamiento de genes (22). De forma similar, se ha demostrado que OGT existe en complejo con las proteínas TET (Ten-eleven translocation methylcytosine dioxygenase, por sus siglas en inglés), las cuales regulan la desmetilación del DNA a través de la oxidación sucesiva de 5-metil-citocina. Algunos estudios indican que las proteínas TET facilitan el reclutamiento de OGT a la cromatina para incrementar la O-GlcNAcilación de las histonas, mientras que otros sugieren que OGT puede modificar directamente a las proteínas TET y modular su estabilidad o localización nuclear (23, 24). TET1 se une a OGT y es O-GlcNAcificada, promoviendo el transporte nuclear de TET1 y la inhibición de la formación de 5-hidroximetilcitosina (25). TET2 y TET3 también se unen a OGT y se O-GlcNAcifican lo que a su vez facilita la O-GlcNAcilación de H2B (26). Por lo que, a nivel del núcleo, OGT podría estar regulando programas epigenéticos de las histonas al modular su acetilación, ubiquitinación y metilación, pero la relación que existe entre las enzimas que modifican a las histonas y OGT, aún necesita ser dilucidada (Fig. 2).

O-GlcNAc y los sistemas de protección celular

Las células y los tejidos responden a los daños fisiológicos y ambientales a través de la reprogramación en la transcripción, traducción, metabolismo y señalización para reparar el daño para sobrevivir, o si es necesario, promover la muerte celular programada. De forma colectiva, esta reprogramación celular también es conocida como respuesta celular al estrés y se caracteriza por la inducción de chape-

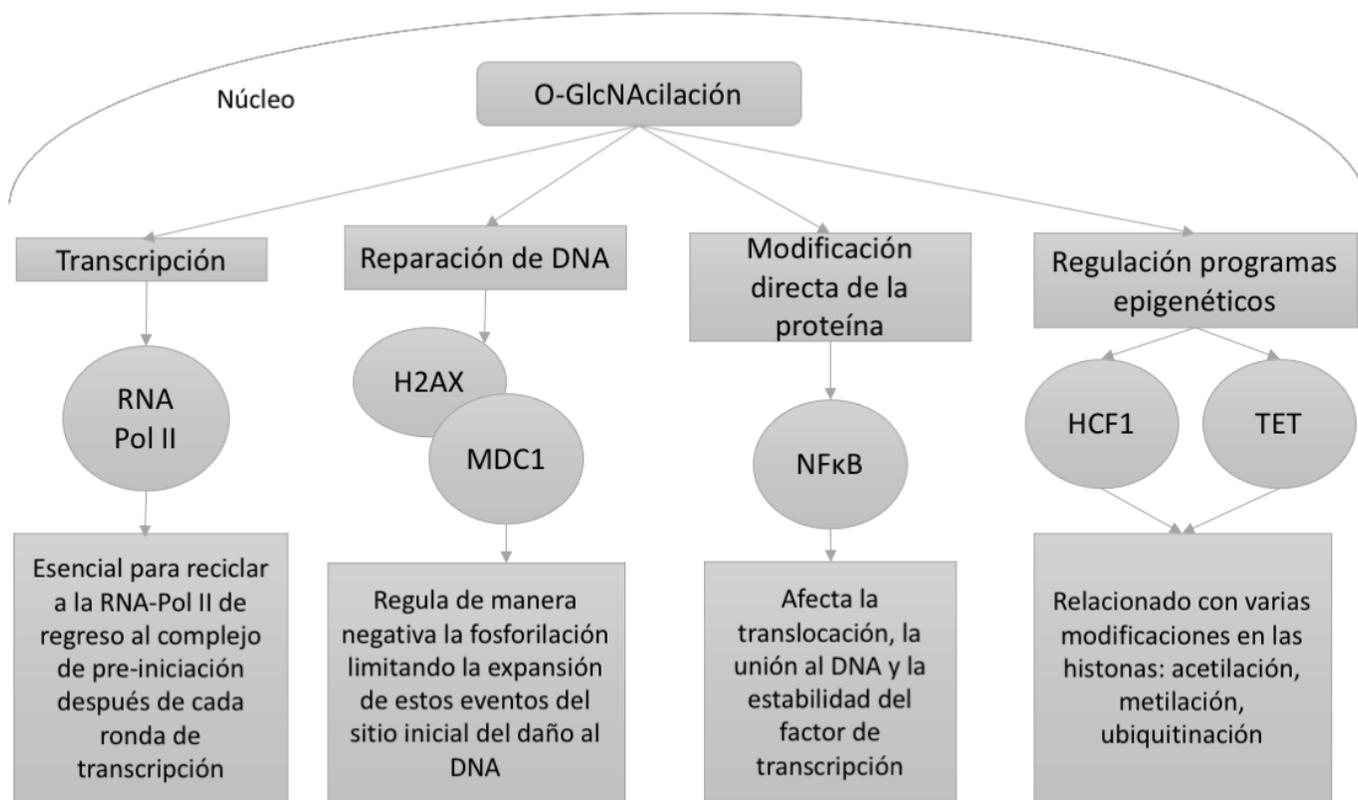


Figura 2. La O-GlcNAc en el núcleo afecta diversos procesos esenciales para la célula. OGT y OGA interactúan con diversas proteínas y su papel es fundamental en dichos procesos, además se ha descrito su interacción con otras modificaciones post-traduccionales.

ronas, conocidas como proteínas de choque térmico HSP (Heat Shock Protein) (27, 28, 29). En mamíferos, esta respuesta es mediada por 6 grupos de proteínas muy relacionadas: HSP100, HSP90, HSP70, HSP60, HSP40 y las pequeñas HSPs, que están reguladas transcripcionalmente por HSF1 (Heat Shock Transcription Factor 1) (30). Se ha observado que la elevación inducida por estrés de los niveles de O-GlcNAc cumple con una función protectora contra el daño celular a través del incremento en los niveles de HSPs, incluyendo HSP70 y HSP90 (31). En fibroblastos de embrión de ratón, al disminuir los niveles de O-GlcNAc, se observó una disminución en la expresión de HSP70 y HSP40 (32). Asimismo, en ratones y en cardiomiocitos de rata aislados, el incremento del flujo de la vía HBP a través de tratamiento con glutamina para elevar O-GlcNAc promovió la expresión de HSF1 y HSP70 (33). Además de estar involucrada con la expresión de las HSPs, se reveló que HSP70 y HSP90 están O-GlcNAcadas (34, 35); HSP70 mostró una actividad de reconocimiento y unión hacia motivos específicos de O-GlcNAc, de manera similar a las lectinas (36), mientras que la inhibi-

ción de HSP90 desestabiliza a OGT y reduce los niveles de O-GlcNAc (37). Debido a lo anterior, se ha sugerido que la O-GlcNAc reduce el estrés celular a través de diversos mecanismos: inducción transcripcional de las HSPs, estabilización proteica a través de la O-GlcNAc directa y reclutamiento de las HSP a blancos específicos modificados por O-GlcNAc a través de la actividad similar a lectina en el caso de HSP70 (38). Por otro lado, también se ha demostrado que O-GlcNAc mitiga el estrés del retículo endoplásmico (RE) a través de la formación de gránulos de estrés y cuerpos de procesamiento, los cuales regulan la traducción de mRNA y su degradación (39). OGT y HSP son esenciales para el ensamblaje correcto inducido por estrés de dichos gránulos y algunas proteínas O-GlcNAcadas, como RACK1, GAPDH y subunidades ribosomales, son reclutadas de forma subsecuente en ellos (40).

O-GlcNAc y la resistencia a la insulina

Ya que se ha implicado a la O-GlcNAc en la patogénesis de la resistencia a la insulina, el efecto

de la estimulación por insulina en la señalización de O-GlcNac está ampliamente estudiado (15). La sobreexpresión de OGT en tejido muscular y adiposo promueve resistencia a la insulina e hiper-leptinemia (41), así como la inhibición de OGA por PUGNac (O-(2-acetamido-2-desoxi-D-glucopiranosilideno) amino-N-fenilcarbamato,) también promueve la resistencia a la insulina en cultivo celular (42, 43, 44). Se ha demostrado que la señalización por insulina regula a OGT a través de diversos mecanismos, como la modulación de su expresión, su localización subcelular y su actividad enzimática. Además de regular de forma positiva la expresión de OGT a través de la vía dependiente de PI3K (Fosfoinositido 3-Cinasa), la estimulación por insulina promueve la translocación de OGT del núcleo al citoplasma y después a la membrana plasmática en balsas lipídicas donde es activada a través de su fosforilación por el receptor de insulina (45). También, se ha mostrado que la elevación de los niveles de O-GlcNacilación (a través de PUGNac) en adipocitos en cultivo bloquea la fosforilación de AKT estimulada por insulina (42). De manera contraria, la sobreexpresión de OGA en células de hepatoblastoma HepG2 provocó una disminución en la O-GlcNacilación de AKT, aumentando su fosforilación y su actividad (46). Anteriormente, los sitios de O-GlcNacilación en AKT ya habían sido identificados en Thr308 y Ser473, los cuales también son sitios cruciales para su fosforilación y activación, por lo que se ha sugerido que la O-GlcNacilación y la fosforilación de AKT compiten directamente (47). Así mismo, se ha descrito que después de una estimulación prolongada de insulina, PIP₃ (Fosfatidil inositol 3, 4, 5 trisfosfato) recluta a OGT (la cual posee un motivo de unión a PIP₃) a la membrana plasmática donde O-GlcNacila e inhibe a varios componentes de la vía de señalización de la insulina, lo cual gradualmente atenúa la cascada de señalización (15). Finalmente, se ha reportado que un polimorfismo de un solo nucleótido en el gen que codifica OGA, MGEA5 (Meningioma Expressed Antigen 5, por sus siglas en inglés) se ha asociado con un riesgo incrementado de desarrollar diabetes mellitus tipo 2 en una población México-Americana (48).

O-GlcNac y cáncer

Las células cancerosas se caracterizan por presentar un metabolismo basado en glucólisis, y no en fosforilación oxidativa, como principal fuente de energía aún en presencia de oxígeno, fenómeno conocido como efecto Warburg. Este cambio en el metabolismo celular es impulsado por la hipoxia presente dentro del tumor y por mutaciones en

oncogenes y supresores tumorales (49). Estas mutaciones promueven una regulación positiva de las enzimas glucolíticas y transportadores de glucosa, lo que a su vez incrementa la ingesta de glucosa en estas células (50). La abundancia de glucosa en el citoplasma no solo contribuye al incremento de glucólisis, sino que también incrementa el flujo de algunas ramas de la vía, incluyendo la vía de las pentosas fosfato y la de biosíntesis de hexosamina (Hexosamine Biosynthetic Pathway, por sus siglas en inglés). De hecho, ciertos oncogenes como *Kras* regulan de forma positiva no solo los niveles de los transportadores de glucosa, sino también de otras enzimas como GFAT1 (glutamina-fructosa-6-fosfato amidotransferasa 1), que es la enzima limitante en la vía HBP (51). Asimismo, las células cancerosas son adictas a glutamina ya que la consumen a tasas elevadas *in vivo* en comparación con las células no transformadas, por lo que la requieren en altas concentraciones para sobrevivir y proliferar (52). Los oncogenes también regulan de forma positiva la ingesta de glutamina; por ejemplo, c-Myc promueve la expresión elevada de los transportadores de glutamina (54). La glutamina es el sustrato donador en la conversión de fructosa-6-fosfato a glucosamina-6-fosfato mediante GFAT en la vía HBP. Por lo que el incremento en la ingesta de glucosa debido al efecto Warburg, así como el incremento de la ingesta de glutamina, cooperan para provocar un incremento en el flujo de HBP, contribuyendo finalmente a un incremento en las concentraciones de UDP-GlcNac (55), sustrato donador de la OGT. Confirmando lo anterior, se han observado niveles de O-GlcNacilación aberrante con una tendencia al incremento, fenómeno conocido como hiper-O-GlcNacilación en diferentes tipos de cáncer: en cáncer de mama (56, 57), de próstata (58), de pulmón (59), colo-rectal (59, 60), de hígado (61), y en leucemia linfocítica crónica (62). Existe evidencia creciente que ha mostrado una relación entre los niveles de O-GlcNac y diversas características distintivas del cáncer, como angiogénesis y metástasis; además, muchos supresores tumorales y oncogenes conocidos por ser iniciadores clave del fenotipo maligno canceroso, están regulados por O-GlcNac (p53, NFκB, c-Myc, HIF-1 y AKT) (63). En el hígado se ha descrito que la hexocinasa IV (o también conocido como glucocinasa, GK) es modificada dinámicamente por O-GlcNac incrementando su estabilidad, lo que a su vez incrementa la ingesta de glucosa (64). Así mismo, se ha sugerido que la O-GlcNacilación de PKM2 incrementa su propia expresión, ya que posee una señal inducible de localización nuclear, su elevada expresión incrementa los niveles de producción de piruvato y ATP mediante glicólisis,

lo cual es típico de las células cancerosas (65, 66). Por otro lado, existe evidencia que indica que la angiogénesis tumoral puede mantenerse en parte debido a O-GlcNAc ya que al reducir los niveles de O-GlcNAc en la línea celular cancerosa de próstata PC-3ML por knock-down de OGT se inhibe tanto la expresión de VEGF como la angiogénesis *in vitro*. Mas aún, la reducción de la hiper-O-GlcNAcilación en la misma línea PC-3ML y en las células cancerosas HEPG2, suprime la expresión de las metaloproteasas MMP-2 y MMP-9 (67, 61). De forma interesante, se ha demostrado que al incrementar los niveles de O-GlcNAc se promueve la migración/invasión de células cancerosas de mama y próstata mientras que disminuir los niveles por knock-down de OGT, inhibe la invasión tumoral y metástasis (56, 57). Uno de los mecanismos que contribuye al desarrollo de metástasis es la transición epitelio-mesénquima (EMT) (68, 69). Este proceso promueve la pérdida de marcadores epiteliales como E-cadherina y la ganancia de marcadores mesenquimales como vimentina y N-cadherina (70). Se ha demostrado que reducir los niveles de hiper-O-GlcNAcilación en cáncer incrementa la expresión de E-cadherina y disminuye la expresión de vimentina mientras que elevarlos disminuye la expresión de E-cadherina en células de cáncer y mama (57, 55, 71). Además, se ha descrito que la O-GlcNAcilación de E-cadherina en su dominio citoplasmático durante el estrés de RE bloquea su transporte a membrana celular, inhibiendo la adhesión celular (72); mientras que la O-GlcNAcilación directa de Snail (el factor transcripcional que se une al promotor de E-cadherina) en la Ser112 lo estabiliza causando la represión de la expresión de E-Cadherina, potencialmente originando migración/metástasis (71). La O-GlcNAcilación de Myc se lleva a cabo en Thr58, un residuo que se encuentra en el dominio de transactivación de la proteína y esta modificación promueve un incremento en la capacidad de transformación y de formación de tumor en células de linfoma (73). También se ha descrito que c-Myc se encuentra modificado por O-GlcNAc y probablemente esté estabilizado, resultando en un mal pronóstico y recurrencia en muestras clínicas de pacientes con cáncer de próstata (74). En células de Leucemia linfocítica crónica, los niveles de O-GlcNAcilación se encuentran elevados y se ha sugerido que esto contribuye a la patogénesis de la enfermedad. Comparado con las células B circulantes normales, en las células de leucemia hay un incremento en la O-GlcNAcilación de p53, de AKT y de c-Myc (62). El mismo fenómeno fue observado en las células pre-B de leucemia linfocítica aguda (75). También se ha reportado en ambos tipos de leucemia que la

O-GlcNAcilación específica de STAT5 en Thr92 promueve la fosforilación de tirosinas y la proliferación neoplásica de las células mieloides (76).

O-GlcNAc y la función cardíaca

Durante la falla cardíaca existen cambios metabólicos que promueven la utilización de diferentes sustratos y la reversión a un perfil metabólico fetal; el corazón suprime la oxidación de ácidos grasos y aumenta su dependencia a la oxidación de carbohidratos (77, 78). Lo anterior, resulta en un incremento del flujo de la glucosa que entra a la vía HBP, lo cual deriva en un incremento en los niveles de O-GlcNAc en cardiomiocitos. Se observó que en modelos de sobre carga de presión por hipertrofia, las concentraciones de UDP-GlcNAc están incrementadas y los niveles de O-GlcNAc y GFAT incrementan en hipertrofia cardíaca relacionada con la edad (79, 80). Además, durante la hipertrofia de cardiomiocitos se observó una activación de NFAT dependiente de O-GlcNAc; la O-GlcNAcilación de NFAT promueve hipertrofia, mientras que la inhibición de O-GlcNAc la reduce (81). Así mismo, se reportó un incremento en los niveles de O-GlcNAcilación y en la expresión de OGT durante la falla cardíaca en ratones; en este modelo de infarto inducido por falla cardíaca, la expresión de OGT es elevada mientras que la de OGA está disminuida (82). Además, se observó que la hiperglicemia induce un incremento en la O-GlcNAcilación de proteínas mitocondriales en cardiomiocitos, lo cual se asoció con una disfunción mitocondrial, movilización de calcio y disminución en los depósitos de ATP. También, se mostró que varias proteínas mitocondriales como NDUFA9 del complejo I, las subunidades 1 y 2 del complejo III y la subunidad I codificada por DNA mitocondrial del complejo IV (COX I) se encuentran O-GlcNAciladas (83). O-GlcNAc no solo afecta a la función mitocondrial, sino también a la función contráctil cardíaca a través de la alteración de los depósitos de calcio. Al tratar cardiomiocitos con altas concentración de glucosa, glucosamina o PUGNAc, se promovió un retraso en la liberación de calcio; la sobreexpresión de OGT exacerba este efecto, mientras que la sobreexpresión de OGA lo abate (84; 85, 86). Mas aún, durante el desarrollo de diabetes, la O-GlcNAcilación en la Ser16 de PLN (Phospholamban, por sus siglas en inglés, fosfoproteína asociada al RE que regula el transporte de calcio en las células musculares cardíacas) está incrementada. Esto reduce su fosforilación y su asociación con SERCA2a, promoviendo una disminución en la actividad de la bomba y afectando a los depósitos de calcio (87, 88). Debido a lo anterior, se ha propuesto

que el incremento de O-GlcNAcilación durante la hiperglicemia puede ser parte de patología del fallo cardiaco, ya sea a nivel mitocondrial, o por la alteración en los depósitos de calcio (89). Sin embargo, también se ha observado que la O-GlcNAcilación confiere protección subsecuente a daños letales; por ejemplo, en respuesta al daño al miocardio por isquemia/perfusión, el cual se caracteriza por un aumento en los niveles de calcio, estrés oxidativo y estrés de RE, los niveles de O-GlcNAcilación se encuentran aumentados. Además, los niveles de O-GlcNAc disminuyen durante hipoxia y después incrementan en la re-oxigenación de corazones sometidos a isquemia simulada. Se observó el mismo efecto en cardiomiocitos de ratas neonatales, en donde esta elevación en la O-GlcNAcilación redujo la muerte celular (90-96). Algunos de estos efectos protectores se originan en la mitocondria donde O-GlcNAc es necesario para mantener el potencial de membrana mitocondrial y prevenir la formación de poro mitocondrial de transición. Uno de los mecanismos por los que estos efectos pueden ocurrir es mediante la O-GlcNAcilación directa y la regulación de los canales aniónicos dependientes de voltaje, que regulan el flujo de calcio a través de la mitocondria (94,96). Además, aumentar los niveles de O-GlcNAc promueve la supervivencia de las células troncales cardiacas, mientras que una reducción de los niveles a través de la inhibición farmacológica o una delección genética las sensibiliza al daño causado por hipoxia (97). De forma similar, el incremento de los niveles de O-GlcNAc, también protege a los cardiomiocitos de la muerte celular en respuesta al estrés del RE. Esta protección se asoció con la disminución en la expresión de las proteínas involucradas en la respuesta desadaptativa, que incluyen a las chaperonas de plegamiento enzimático GRp74, GRp90 y a CHOP (CCAAT/enhancer-Binding Protein Homologous Protein) (98).

O-GlcNAc y la función neural

La O-GlcNAcilación se encuentra de forma permanente en el cerebro, pero su significado en la regulación de las funciones neuronales aún necesita ser dilucidada. Sin embargo, se ha observado que mantener los niveles de O-GlcNAc a un nivel adecuado es vital para prevenir las funciones neuronales aberrantes (99). Esta posibilidad se evidencia por el hecho de que el incremento o la disminución en los niveles de O-GlcNAc conlleva a un déficit en el aprendizaje dependiente del hipocampo (100, 101, 102), lo cual no es sorprendente dado que el hipotálamo es una de las regiones del cerebro con los niveles más altos de expresión de OGT y OGA

en el cuerpo. Otra región con alta expresión de OGT y OGA es la amígdala, un área central que se involucra con el miedo y la ansiedad, sin embargo, la función fisiológica de la O-GlcNAcilación en la amígdala no está bien comprendida (102, 103). Algunos estudios han reportado que O-GlcNAc regula la maduración y el desarrollo neuronal. En cultivos primarios de neuronas corticales, el silenciamiento de OGT conlleva a una reducción significativa del número de sinapsis y al incremento de la proporción de espinas inmaduras (104). De forma notable, la delección específica de OGA en el cerebro de ratones, promueve un desarrollo retardado del cerebro y un desequilibrio entre la proliferación y la diferenciación neuronal. Igualmente, la habilidad de diferenciación de las células troncales embrionarias derivadas de estos ratones se vio dramáticamente suprimida (105). Mas aún, O-GlcNAcilación del factor de transcripción CREB (Cyclic AMP-Response Element Binding Protein) podría regular el crecimiento neuronal. Esta proteína es O-GlcNAcilada en la Ser40 en respuesta a la actividad neuronal, y se mostró que su glicosilación suprime la transcripción mediada por CREB. Cuando el residuo Ser40 es mutado por alanina, las neuronas desarrollan axones y dendritas muy largas. El silenciamiento de OGT facilita el crecimiento de los axones en el cultivo de neuronas corticales, mientras que la sobreexpresión de OGT suprime su crecimiento, indicando que la O-GlcNAcilación de CREB inhibe el crecimiento neuronal (106). Por otro lado, las neuronas AgRP (Agouti-Related Protein, por sus siglas en inglés) en el hipotálamo controlan la ingesta de comida y se ha observado que la privación de alimentos incrementa la expresión de OGT y los niveles de O-GlcNAc en estas neuronas (107). La delección específica de OGT reduce la tasa de los potenciales de acción en las neuronas AgRP, indicando que la disminución de O-GlcNAc suprime la excitabilidad intrínseca neuronal; este cambio es mediado por la O-GlcNAcilación directa de los canales de potasio dependientes de voltaje (Kcnq3) y el silenciamiento de OGT causa una reducción en las corrientes de potasio (108). Por otro lado, OGT y OGA están presentes en las sinapsis neuronales y OGT está particularmente enriquecida en la zona de densidad postsináptica de sinapsis excitatorias en comparación con OGA (104). Muchas de las proteínas de sinapsis están O-GlcNAciladas, lo cual ha sugerido que un cambio en los niveles podría modular la fuerza de transmisión sináptica o la posible liberación de neurotransmisores en las terminales presinápticas (109, 110). Por otro lado, el papel de la O-GlcNAcilación también se ha descrito ampliamente en algunas patologías del sistema nervioso. Tau es una proteína asociada a

microtúbulos abundante en neuronas, la cual se une y estabiliza microtúbulos (111). Se han reportado diversos sitios de fosforilación de tau (112, 113) y su fosforilación juega un papel determinante en la regulación de sus funciones fisiológicas, incluyendo su dinámica con los microtúbulos, el transporte en axones, la transmisión sináptica y la estabilización del DNA (114-118). Cuando está hiper-fosforilada, tau pierde su afinidad por los microtúbulos y la proteína que se libera forma agregados conocidos como ovillos neurofibrilares, los cuales, son considerados como la verdadera razón de la neurotoxicidad asociada a tau y el desarrollo de déficits cognitivos (113). De forma interesante, la elevación de los niveles de O-GlcNAcilación de tau, por inhibición de OGA, conlleva a una disminución dramática de la fosforilación de tau y suprime su agregación, mientras que la inhibición de OGT desencadena el efecto opuesto (119). La característica principal de la enfermedad de Alzheimer es la formación de placas extracelulares compuestas por la proteína β -amiloide y ovillos neurofibrilares intracelulares compuestos por tau hiper-fosforilada (120-121). β -amiloide también está O-GlcNAcilada y se observó que elevar los niveles de O-GlcNAc incrementa el procesamiento no-amiloide de la proteína por lo que se reduce la producción de β -amiloide (122-123). Asimismo, α -sinucleína es otro ejemplo de un agregado proteico tóxico y está enriquecido en las terminales sinápticas del cerebro. Su agregación se asocia con la enfermedad de Parkinson (124). De forma similar a tau, la O-GlcNAcilación de α -sinucleína inhibe la formación de agregados tóxicos lo cual afianza la función protectora de la O-GlcNAcilación en la prevención de agregados proteicos (125). Estos resultados sugieren el efecto protector de la O-GlcNAcilación en enfermedades neurodegenerativas, y este efecto también se apoya en algunos otros hallazgos, por ejemplo, al silenciar OGT en neuronas corticales de ratones, se promueve la neurodegeneración junto a una reducción en el tamaño del cerebro. Estos ratones también mostraron niveles elevados de β -amiloide y altos niveles de fosforilación de tau. Más aún, en muestras de tejido cerebral *post-mortem* de pacientes humanos con la enfermedad de Alzheimer, los niveles de OGT están reducidos significativamente (121), lo cual indica una unión cercana entre la O-GlcNAcilación aberrante y la etiología de la enfermedad de Alzheimer.

O-GlcNAc y las células troncales

En la literatura se ha reportado que el estado nutricional y el microambiente median las señales que determinan los cambios que regulan la

capacidad de auto-renovación y la diferenciación en las células troncales. Se ha observado que las células troncales embrionarias (ESC) (126), las células troncales hematopoyéticas (HSC) (127), las células troncales mesenquimales (MSC) (128) y las células troncales hepáticas (129) basan su metabolismo en la glucólisis como su principal fuente de energía. Además, está bien establecido que las células troncales que se originan en nichos hipóxicos tienden a tener una actividad glucolítica incrementada como resultado de una ingesta incrementada de glucosa en condiciones anaerobias (130). Más aún, se ha demostrado que la estimulación de la glucólisis a través de la hipoxia en células troncales pluripotentes (131), la inhibición de la respiración mitocondrial (132) o la suplementación con insulina (133) promueven la troncalidad mientras que la inhibición de la glucólisis impide la proliferación y precipita la muerte celular (134). Además de la glucosa, la glutamina también es ingerida activamente por las células troncales embrionarias (135) y como ya se mencionó anteriormente, esto promueve un aumento en el flujo a la vía HBP, un aumento en la concentración de UDP-GlcNAc y el subsecuente incremento de los niveles de O-GlcNAc. Ya que la actividad de OGT es dependiente del flujo de nutrientes y que a su vez el metabolismo influye en la capacidad de auto-renovación característica de las células troncales, se ha hipotetizado que OGT es un determinante clave entre los genes de auto-renovación y su interconexión con el estatus metabólico de la célula (136). Se ha demostrado que la completa pérdida de OGT resulta en la letalidad de las ESC, por lo que la función de O-GlcNAc es crítica para el mantenimiento de la capacidad de autorenovación y la pluripotencia (137). Además, se mostró que bloquear O-GlcNAc lleva a la inhibición de la capacidad de auto-renovación de ESC mientras que incrementar los niveles inhibe la diferenciación (138). Los factores de transcripción conocidos como "factores de Yamanaka" (Sox2, OCT4, Myc y KLF4) son considerados como las proteínas críticas que regulan la troncalidad y la capacidad de auto-renovación (139), y todos estos factores están modificados por O-GlcNAc, lo cual influye en su actividad. Además de regular transcripcionalmente a la capacidad de auto-renovación y a la diferenciación de las células troncales, O-GlcNAc también regula la troncalidad a un nivel epigenético. Un aumento en la O-GlcNAcilación promueve la regulación positiva de genes que normalmente están silenciados en ESC, apoyando el rol emergente de esta modificación postraduccional en la regulación de las modificaciones de las histonas y la metilación del DNA (140).

O-GlcNAc y la regulación del sistema inmune

En años recientes se ha demostrado que la O-GlcNAcilación puede tener efectos importantes en el sistema inmune, comprometiendo las respuestas inmunológicas o llevando a una hipersensibilidad e inflamación sostenida (141-143). Esta modificación se ha reportado en diversas células del sistema inmune, como macrófagos, células NK, células T y células B. Se ha mostrado que la O-GlcNAcilación disminuye durante la citotoxicidad de las células NK y se ha sugerido que está involucrada en la traducción de señales de células NK (144). En macrófagos, a través de su interacción con mSin3a, OGT es capaz de interferir con la activación dependiente de LPS de NF κ B y la expresión de iNOS (inducible Nitric Oxide Synthase) (145). Además, una delección específica de OGT promovió una señalización elevada de NF κ B y producción de citocinas proinflamatorias, seguido de la estimulación de varios antagonistas de TLR (Toll Like Receptor). Estos hallazgos sugieren que la O-GlcNAcilación podría desempeñar un papel anti-inflamatorio en macrófagos (146). Sin embargo, también se ha mostrado que la inhibición experimental de O-GlcNAc promueve la disminución de una respuesta inflamatoria inducida por LPS en macrófagos (147). Adicionalmente, se mostró que la O-GlcNAcilación de STAT3 en Thr717 regula de forma negativa su fosforilación y la expresión de genes dependientes de STAT3; por lo que el efecto de la O-GlcNAcilación de STAT3 podría incrementar la señalización inflamatoria (148). Debido a lo anterior, el papel de la O-GlcNAcilación en las células mieloides es complejo, ya que puede tener efectos reguladores tanto positivos como negativos en la inflamación que dependen de diversos factores como la disponibilidad de glucosa, el microambiente en el que se presente la inflamación o de la proteína modificada (NF κ B o STAT) (149). También se ha mostrado que la elevación de la O-GlcNAcilación al tratar a neutrófilos con glucosamina o PUGNAc, incrementa la migración tanto basal como inducida por el péptido quimiotáctico formilado Met-Leu-Phe (fMLP) de neutrófilos. Lo anterior sugiere que los neutrófilos tienen vías de activación dependientes de O-GlcNAc, sin embargo, las proteínas exactas que son afectadas por esta modificación aún se desconocen (150). De todas las células del sistema inmune, la relación entre la O-GlcNAcilación y las células T ha sido la más estudiada y parece que juega un papel esencial en la biología de los linfocitos T. Se ha observado que la modificación por O-GlcNAc es esencial para la supervivencia de las células T ya que la delección condicional de OGT induce apoptosis masiva y disminución del número de células en el timo y en la periferia (151). También

se ha demostrado que la O-GlcNAcilación de proteínas clave en la señalización como NFAT (Nuclear Factor of Activated T Cells) y de NF κ B tiene efectos importantes en el comportamiento, el destino y la función de las células. La activación de TCR (T cell Receptor) induce la O-GlcNAcilación de NFATc1 en el citoplasma y promueve su translocación al núcleo. Más aún, la delección de OGT disminuye la producción de IL-2, la expresión del marcador de activación CD69 y la actividad de NF κ B ya que p65 está O-GlcNAcilada (152). La O-GlcNAcilación de c-Rel promueve su unión a la región CD28R, lo cual lleva a la expresión de moléculas proinflamatorias como IL-2, INF- γ (Interferón gama) y GM-CSF (Granulocyte-Macrophage Colony Stimulation Factor) (153). Sin embargo, también se ha demostrado que esta modificación puede proteger a las células T de la muerte celular mediante vías alternas. La O-GlcNAcilación de DFF45 (DNA Fragmentation Factor 45) confiere resistencia al corte proteolítico de caspasas durante la apoptosis inducida por daño al DNA (154). Se han identificado alrededor de 214 proteínas O-GlcNAciladas inducidas por TCR en las células T, las cuales están asociadas con el metabolismo de RNA y se ha descrito que la función de OGT es esencial para la función efectora de las células T (155). También se ha descrito que la pérdida de la O-GlcNAcilación bloquea la capacidad de auto-renovación, la expansión clonal y la transformación maligna de las células T mientras que la O-GlcNAcilación se incrementa en las células T activadas (156). Más aún, la sobreexpresión de miR-15b bloquea la diferenciación de las células Th17 a través del bloqueo en la expresión de OGT, el bloqueo de NF κ B y la expresión de ROR- γ (Retineic-acid-receptor-related orphan nuclear receptor gamma) dependiente de NF κ B (157). En comparación con las células T, el papel de O-GlcNAc en las células B se ha estudiado poco y se han hecho muchas especulaciones, pero se ha descrito que la delección de OGT en células pre-B conlleva a la expresión del receptor de células B (BCR) ineficiente, a la señalización por BAFF (B Cell Activation Factor) y al incremento en la apoptosis de células B maduras. Además, se encontró que la O-GlcNAcilación en la Ser19 de la cinasa Lyn es esencial para su interacción con la cinasa Syk en la señalización apropiada de BCR. Así mismo, la O-GlcNAcilación de las células B se requiere para el desarrollo de memoria y la producción de anticuerpos (158). De manera similar a lo observado en las células T, en células B NF κ B y NFAT también están O-GlcNAcilados y esto incrementa su actividad transcripcional, por lo que se ha sugerido que la O-GlcNAcilación promueva la activación de células B (152).

Conclusiones

Como ya se ha mencionado anteriormente, O-GlcNAc afecta diversos procesos celulares y su papel en diversas patologías ha sido ampliamente estudiado. Mientras que se ha relacionado a O-GlcNAc con un efecto citoprotector (como en los modelos de daño al miocardio), la elevación crónica de la O-GlcNAcilación también se ha asociado con el desarrollo de hipertensión, falla cardíaca y diabetes tipo II. Los mecanismos moleculares subyacentes de la transición entre la protección y la patología aún no están bien definidos, pero se ha propuesto que una elevación aguda puede ser protectora mientras que la elevación crónica es tóxica, aunque no siempre sea el caso (159). Debido a su importancia en el mantenimiento de la homeostasis celular, la O-GlcNAcilación ya

es considerada como parte de las modificaciones postraduccionales que permiten a la célula responder propiamente a señales a través del control dinámico y directo de la función proteica (3). Asimismo, muchos autores han postulado a la O-GlcNAcilación como blanco terapéutico, incluso algunos inhibidores farmacológicos de OGA, como thiametG, han sido usados para suprimir los agregados proteicos en los modelos de patologías relacionadas a Tau; se ha observado que son bio-disponibles por vía oral y aparentemente no son tóxicos (160). Sin embargo, en cualquier caso, la regulación de la O-GlcNAcilación es un proceso mucho más complejo de lo que antes se imaginaba y muchos de los procesos en los que se involucra y su papel en los mecanismos de regulación de los procesos celulares aún dista mucho de ser haber sido descrito completamente (Figura 3).

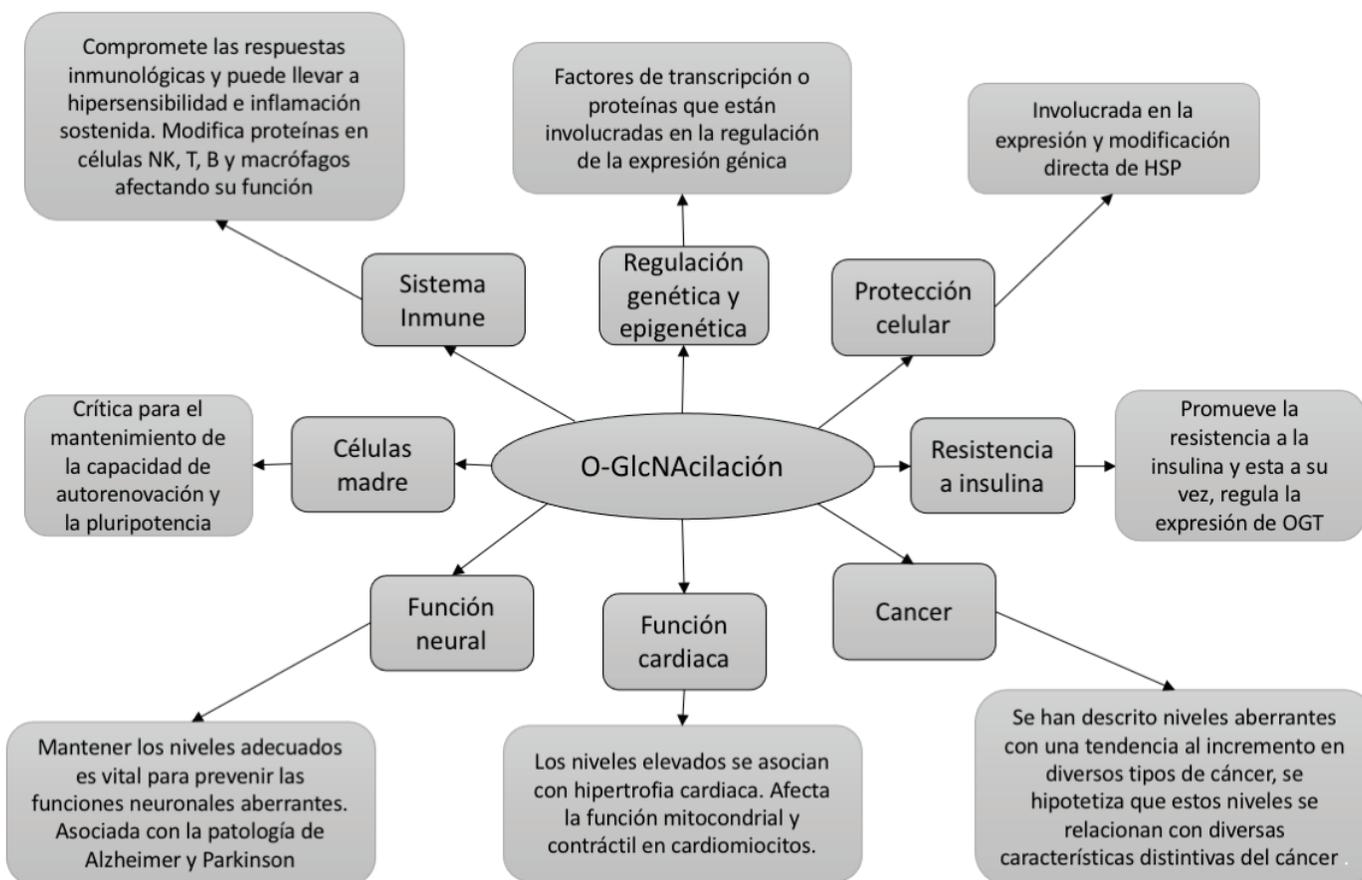


Figura 3. La O-GlcNAcilación influye distintos procesos celulares. Anteriormente, la O-GlcNAcilación solo era considerada como un sensor nutricional que refleja el estado nutricional de las células. Sin embargo, desde su descubrimiento se ha descrito su papel fundamental en diversos procesos que van desde la regulación genética en el núcleo, hasta su efecto sobre el sistema inmune. Los roles de O-GlcNAc siguen siendo descritos a través de diversas líneas de investigación para poder entender esta modificación que es la unión del estado nutricional y su regulación sobre la homeostasis celular.

REFERENCIAS

1. Hart GW, Slawson C, Ramirez-Correa G, Lagerlof O (2011) Cross talk between O-GlcNAcylation and phosphorylation: roles in signaling, transcription, and chronic disease. *Annu Rev Biochem* 80:825–858.
2. Hart GW, Housley MP, Slawson C (2007) Cycling of O-linked- β -N-acetylglucosamine on nucleocytoplasmic proteins. *Nature* 446:1017–1022.
3. Yang X, Qian K (2017) Protein O-GlcNAcylation: emerging mechanisms and functions. *Nat Rev Mol Cell Biol* 18:452–465.
4. Ma J, Hart W (2014) O-GlcNAc profiling: from proteins to proteomes. *Clin Proteomics* 11:8.
5. Comer FI, Hart GW (1999) O-GlcNAc and the control of gene expression. *Biochim Biophys Acta* 1:161–171.
6. Ozcan S, Andrali SS, Cantrell JE (2010) Modulation of transcription factor function by O-GlcNAc modification. *Biochim Biophys Acta* 5-6:353–364.
7. Kelly WG, Dahmus ME, Hart GW (1993) RNA polymerase II is a glycoprotein. Modification of the COOH-terminal domain by O-GlcNAc. *J Biol Chem* 268:10416–10424.
8. Lewis BA, Burlingame AL, Myers SA (2016) Human RNA polymerase II promoter recruitment in vitro is regulated by OGT. *J Biol Chem* 291:14056–14061.
9. Lewis BA, Hanover JA (2014) O-GlcNAc and the epigenetic regulation of gene expression. *J Biol Chem* 289:34440–34448.
10. Noach N, Segev Y, Levi I, Segal S, Priel E (2007) Modification of topoisomerase I activity by glucose and by O-GlcNAcylation of the enzyme protein. *Glycobiology* 17:1357–1364.
11. Chen Q, Yu X (2016) OGT restrains the expansion of DNA damage signaling. *Nucleic Acids Res* 44:9266–9278.
12. Ruan HB, Han X, Li MD, Wu J, Yates II JR, Yang X (2012) O-GlcNAc transferase/host cell factor C1 complex regulates gluconeogenesis by modulating PGC-1 α stability. *Cell Metab* 16:226–237.
13. Dentin R, Hedrick S, Xie J, Yates III J, Montminy M (2008) Hepatic glucose sensing via the CREB coactivator CRTC2. *Science* 319:1402–1405.
14. Housley MP, Rodgers JT, Udeshi ND, Kelly TJ, Shabanowitz J, Hunt DF, Puigserver P, Hart GW (2008) O-GlcNAc regulates FoxO activation in response to glucose. *J Biol Chem* 283:16283–16292.
15. Yang WH, Park SY, Nam HW, Kin DH, Kang JG, Kang ES, Kin YS, Lee HC, Kim KS, Cho JW (2008) NF κ B activation is associated with its O-GlcNAcylation state under hyperglycemic conditions. *Proc Natl Acad Sci USA* 105:17345–17350.
16. Ramakrishnan P, Clark PM, Mason DE, Peters EC, Hsieh-Wilson LC Baltimore D (2013) Activation of the transcriptional function of the NF- κ B protein c-Rel by O-GlcNAc glycosylation. *Sci Signal* 290:ra75.
17. Daou S, Mashtalir N, Hammond-Martel I, Pak H, Yu H, Sui G, Vogel JL, Kristie TM, Affar EB (2011) Crosstalk between O-GlcNAcylation and proteolytic cleavage regulates the host cell factor-1 maturation pathway. *Proc Natl Acad Sci USA* 108:2747–2752.
18. Scheuermann JC, Gaytan-de-Ayala-Alonso A, Oktaba K, Ly-Hartig N, McGinty RK, Fraterman S, Wilm M, Muir TW, Müller J (2010) Histone H2A deubiquitinase activity of the Polycomb repressive complex PR-DUB. *Nature* 465:243–247.
19. Chu CS, Lo PW, Yeh YH, Hsu PH, Peng SH, Teng YC, Kang ML, Wonf CH, Juan LJ (2014) O-GlcNAcylation regulates EZH2 protein stability and function. *Proc Natl Acad Sci USA* 111:1355–1360.
20. Gambetta MC, Oktaba K, Muller J (2009) Essential role of the glycosyltransferase *sxc/Ogt* in polycomb repression. *Science* 325:93–96.
21. Fujiki R, Hashiba W, Sekine H, Yokoyama A, Chikanishi T, Ito S, Imai Y, Kim J, He HH, Igarashi K, Kanno J, Ohtake F, Kitagawa H, Roeder RG, Brown M, Kato S (2011) GlcNAcylation of histone H2B facilitates its monoubiquitination. *Nature* 480:557–560.
22. Yang X, Zhang F, Kudlow JE (2002) Recruitment of O-GlcNAc transferase to promoters by corepressor mSin3A: coupling protein O-GlcNAcylation to transcriptional repression. *Cell* 110:69–80.
23. Shi FT, Kin H, Lu W, He Q, Liu D, Goodell MA, Wan M, Songyang Z (2013) Ten-eleven translocation 1 (Tet1) is regulated by O-linked N-acetylglucosamine transferase (Ogt) for target gene repression in mouse embryonic stem cells. *J Biol Chem* 288:20776–20784.
24. Vella P, Scelfo A, Jammula S, Chiaccheira F, Williams K, Cuomo A, Roberto A, Christensen J, Bonaldi T, Helin K, Pasini D (2013) Tet proteins connect the O-linked N-acetylglucosamine transferase Ogt to chromatin in embryonic stem cells. *Mol Cell* 49:645–656.
25. Zhang Q, Liu X, Gao W, Li P, Hou J, Li J, Wong J (2014) Differential regulation of the ten-eleven

- translocation (TET) family of dioxygenases by O-linked -N-acetylglucosamine transferase (OGT). *J Biol Chem* 289:5986–5996.
26. Chen Q, Chen Y, Bian C, Fujiki R, Yu X (2013) TET2 promotes histone O-GlcNAcylation during gene transcription. *Nature* 493:561–564.
 27. Nollen EAA, Morimoto RI (2002) Chaperoning signaling pathways: molecular chaperones as stress-sensing 'heat shock' proteins. *J Cell Sci* 14:2809–2816.
 28. Morimoto RI (2012) The heat shock response: systems biology of proteotoxic stress in aging and disease. *Cold Spring Harbor Symp Quant Biol* 76:91–99.
 29. Akerfelt M, Morimoto RI, Sistonen L (2010) Heat shock factors: integrators of cell stress, development, and lifespan. *Nat Rev Mol Cell Biol* 11:545–555.
 30. Dai C, Dai S, Cao J (2012) Proteotoxic stress of cancer: implication of the heat-shock response in oncogenesis. *J Cell Physiol* 227:2982–2987.
 31. Zachara NE, O'Donnell N, Cheung WD, Mercer JJ, Marth JD, Hart GW (2004) Dynamic O-GlcNAc modification of nucleocytoplasmic proteins in response to stress. A survival response of mammalian cells. *J Biol Chem* 279:30133–30142.
 32. Kazemi Z., Chang H., Haserodt S., Mcken C., Zachara N.E. (2010). O-Linked -N-acetylglucosamine (O-GlcNAc) regulates stress-induced heat shock protein expression in a GSK-3-dependent manner. *J. Biol. Chem.* 285, 39096–39107.
 33. Gong J, Jing L (2011) Glutamine induces heat shock protein 70 expression via O-GlcNAc modification and subsequent increased expression and transcriptional activity of heat shock factor-1. *Minerva Anestesiol* 77:488–495.
 34. Walgren JL, Vincent TS, Schey KL, Buse MG (2003) High glucose and insulin promote O-GlcNAc modification of proteins, including beta-tubulin. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 284: E424–E434.
 35. Frank LA, Sutton-McDowall ML, Brown HM, Russell DL, Gilchrist RB, Thompson JG (2014) Hyperglycaemic conditions perturb mouse oocyte in vitro developmental competence via -O-linked glycosylation of heat shock protein 90. *Hum Reprod* 29:1292–1303.
 36. Guinez C, Lemoine J, Michalski JC, Lefebvre T (2004) 70-kDa heat shock protein presents an adjustable lectinic activity towards O-linked N-acetylglucosamine. *Biochem Biophys Res Commun* 319:21–26.
 37. Zhang F, Snead CM, Catravas JD (2012) Hsp90 regulates Olinked-N-acetylglucosamine transferase: a novel mechanism of modulation of protein O-linked -N-acetylglucosamine modification in endothelial cells. *Am J Physiol Cell Physiol* 302: C1786–C1796.
 38. Ma Z, Vosseller K (2014) Cancer metabolism and elevated O-GlcNAc in oncogenic signaling. *J Biol Chem* 50:34457–34465.
 39. Kedersha N, Anderson P (2007) Mammalian stress granules and processing bodies. *Meth Enzymol* 431:61–81.
 40. Ohn T, Kedersha N, Hickman T, Tisdale S, Anderson P (2008) A functional RNAi screen links O-GlcNAc modification of ribosomal proteins to stress granule and processing body assembly. *Nat Cell Biol* 10:1224–1231.
 41. McClain DA, Lubas WA, Cooksey RC, Hazel M, Parker GJ, Love DC, Handover JA (2002) Altered glycan-dependent signaling induces insulin resistance and hyperleptinemia. *Proc Natl Acad Sci USA* 99:10695–10699.
 42. Vosseller K, Wells L, Lane MD, Hart GW (2002) Elevated nucleocytoplasmic glycosylation by O-GlcNAc results in insulin resistance associated with defects in Akt activation in 3T3-L1 adipocytes. *Proc Natl Acad Sci USA* 99:5313–5318.
 43. Arias E.B., Kim J., Cartee G.D. (2004). Prolonged incubation in PUGNAc results in increased protein O-linked glycosylation and insulin resistance in rat skeletal muscle. *Diabetes* 53,921–930.
 44. Park SY, Ryu J, Lee W (2005) O-GlcNAc modification on IRS-1 and Akt2 by PUGNAc inhibits their phosphorylation and induces insulin resistance in rat primary adipocytes. *Exp Mol Med* 37:220–229.
 45. Perez-Cervera Y, Dehennaut V, Aquino-Gil M, Guedri K, Solorzano-Mata CJ, Olivier-Van Stichelen S, Foulquier F, Lefebvre T (2013) Insulin signaling controls the expression of O-GlcNAc transferase and its interaction with lipid microdomains. *FASEB J* 27:3478–3486.
 46. Soesanto YA, Luo B, Jones D, Taylor R, Gabrielsen JS, Parker G, McClain DA (2008) Regulation of Akt signaling by O-GlcNAc in euglycemia. *Am. J. Physiol. Endocrinol Metab* 295: E974–E980.
 47. Shi J, Gu J, Dai C, Gu J, Jin C, Sun J, Iqbal K, Liu F, Gong CX (2015) O-GlcNAcylation regulates ischemia-induced neuronal apoptosis through AKT signaling. *Sci Rep* 5:14500.
 48. Lehman DM, Fu DJ, Freeman AB, Hunt KJ, Leach RJ, Johnson-Pais T, Hamlington J, Dyer TD, Arya R, Abboud H, Göring HHH, Duggirala R, Blangero J, Konrad RJ, Stern MP (2005) A single nucleotide polymorphism in MGEA5 encoding O-GlcNAc-selective N-acetyl-β-D glucosaminidase is associated with type 2

- diabetes in Mexican Americans. *Diabetes* 54:1214–1221.
49. DeBerardinis RJ, Lum JJ, Hatzivassiliou G, Thompson CB. (2008). The biology of cancer: metabolic reprogramming fuels cell growth and proliferation. *Cell Metab.* 7(1):11–20
 50. Osthus RC, Shim H, Kim S, Li Q, Reddy R, Mukherjee M, Xu Y, Wonsey D, Lee LA, Dang CV (2000) Deregulation of glucose transporter 1 and glycolytic gene expression by c-Myc. *J Biol Chem* 29:21797–21800.
 51. Ying H, Kimmelman AC, Lyssiotis CA, Hua A, Chu GC, Fletcher-Sanankone E, Locasale JW, Son J, Zhang H, Coloff JL, Yan H, Wang W, Chen S, Viale A, Zheng H, Paik J, Lim C, Guimaraes AR, Martin ES, Chang J, Hezel AF, Perry SR, Hu J, Gan B, Xiao Y, Asara JM, Weissleder R, Wang YA, Chin L, Cantley LC, DePinho RA (2012) Oncogenic Kras maintains pancreatic tumors through regulation of anabolic glucose metabolism. *Cell* 3:656–70.
 52. Yuneva M, Zamboni N, Oefner P, Sachidanandam R, Lazebnik Y (2007) Deficiency in glutamine but not glucose induces MYC-dependent apoptosis in human cells. *J Cell Biol* 178:93–105.
 53. Wise D.R., DeBerardinis R.J., Mancuso A., Sayed N., Zhang X.Y., Pfeiffer H.K., Nissim I., Daikhin E., Yudkoff M., McMahon S.B., Thompson C.B. (2008). Myc regulates a transcriptional program that stimulates mitochondrial glutaminolysis and leads to glutamine addiction. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 105, 18782–18787.
 54. Wise DR, DeBerardinis RJ, Mancuso A, Sayed N, Zhang XY, Pfeiffer HK, Nissim I, Daikhin E, Yudkoff M, McMahon SB, Thompson CB (2008) Myc regulates a transcriptional program that stimulates mitochondrial glutaminolysis and leads to glutamine addiction. *Proc Natl Acad Sci USA* 105:18782–18787.
 55. Ma Z, Vocadlo DJ, Vosseller K (2013) Hyper-O-GlcNAcylation is anti-apoptotic and maintains constitutive NF- κ B activity in pancreatic cancer cells. *J Biol Chem* 21:15121–15130.
 56. Caldwell SA, Jackson SR, Shahriari KS, Lynch TP, Sethi G, Walker S, Vosseller K, Reginato MJ (2010) Nutrient sensor O-GlcNAc transferase regulates breast cancer tumorigenesis through targeting of the oncogenic transcription factor FoxM1. *Oncogene* 29:2831–2842.
 57. Gu Y, Mi W, Ge Y, Liu H, Fan Q, Han C, Yang J, Han F, Lu X, Yu W (2010) GlcNAcylation plays an essential role in breast cancer metastasis. *Cancer Res* 70:6344–6351.
 58. Lynch TP, Ferrer CM, Jackson SR, Shahriari KS, Vosseller K, Reginato MJ (2012) Critical role of O-linked -N-acetylglucosamine transferase in prostate cancer invasion, angiogenesis, and metastasis. *J Biol Chem* 287:11070 –11081.
 59. Mi W, Gu Y, Han C, Liu H, Fan Q, Zhang X, Cong Q, Yu W (2011) O-GlcNAcylation is a novel regulator of lung and colon cancer malignancy. *Biochim Biophys Acta* 1812:514 –519.
 60. Yehezkel G, Cohen L, Kliger A, Manor E, and Khalaila I (2012) O-linked -N-acetylglucosaminylation (O-GlcNAcylation) in primary and metastatic colorectal cancer clones and effect of N-acetyl--D-glucosaminidase silencing on cell phenotype and transcriptome. *J Biol Chem* 287:28755–28769.
 61. Zhu Q, Zhou L, Yang Z, Lai M, Xie H, Wu L, Xing C, Zhang F, Zheng S (2012) O-GlcNAcylation plays a role in tumor recurrence of hepatocellular carcinoma following liver transplantation. *Med Oncol* 29:985–993.
 62. Shi Y, Tomic, J, Wen F, Shaha S, Bahlo A, Harrison R, Dennis JW, Williams R, Gross BJ, Walker S, Zuccolo J, Deans JP, Hart GW, Spaner DE (2010) Aberrant O-GlcNAcylation characterizes chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia* 24:1588–1598.
 63. Handover JA, Weiping C, Bond MR (2017) O-GlcNAc in cancer: An oncometabolism-fueled vicious cycle. *J Bioenerg Biomembr* 3:155–173.
 64. Baldini SF, Steenackers A, Olivier-Van Stichelen S, Mir AM, Mortuaire M, Lefebvre T, Guinez C (2016) Glucokinase expression is regulated by glucose through O-GlcNAc glycosylation. *Biochem Biophys Res Commun* 478:942–948.
 65. Yu X, Li S (2017) Non-metabolic functions of glycolytic enzymes in tumorigenesis. *Oncogene* 36:2629–2636.
 66. Chaiyawat P, Chokchaichamnankit D, Lirdprapamongkol K, Srisomsap C, Svasti J, Champattanachai V (2015) Alteration of OGlcNAcylation affects serine phosphorylation and regulates gene expression and activity of pyruvate kinase M2 in colorectal cancer cells. *Oncol Rep* 34:1933–1942.
 67. Lynch TP, Ferrer CM, Jackson SR, Shahriari KS, Vosseller K, Reginato MJ (2012) Critical role of O-linked -N-acetylglucosamine transferase in prostate cancer invasion, angiogenesis, and metastasis. *J Biol Chem* 287:11070 –11081.
 68. Thiery JP, Acloque H, Huang RY, Nieto MA (2009) Epithelial-mesenchymal transitions in development and disease. *Cell* 139:871– 890.
 69. Thiery JP, Sleeman JP (2006) Complex networks orchestrate epithelial-mesenchymal transitions. *Nat Rev Mol Cell Biol* 7:131–142.
 70. Valastyan S, Weinberg RA (2011) Tumor metastasis: molecular insights and evolving paradigms. *Cell* 147:275–292.

71. Park SY, Kim HS, Kim NH, Ji S, Cha SY, Kang JG, Ota I, Shimada K, Konishi N, Nam HW, Hong SW, Yang WH, Roth J, Yook JI, Cho JW (2010) Snail1 is stabilized by O-GlcNAc modification in hyperglycaemic condition. *EMBO J* 29:3787–3796.
72. Zhu W, Leber B, Andrews DW (2001) Cytoplasmic O-glycosylation prevents cell surface transport of E-cadherin during apoptosis. *EMBO J* 20:5999-6007.
73. Chou TY, Hart GW, Dang CV (1995) C-Myc is glycosylated at threonine 58, a known phosphorylation site and a mutational hot spot in lymphomas. *J Biol Chem* 270:18961–18965.
74. Itkonen HM, Minner S, Guldvik IJ, Sandmann MJ, Tsourlakis MC, Berge V, Svindland A, Schlomm T, Mills IG (2013) O-GlcNAc transferase integrates metabolic pathways to regulate the stability of c-MYC in human prostate cancer cells. *Cancer Res* 73:5277–5287.
75. Zhang B, Zhou P, Li X, Shi Q, Li D, Ju X (2017) Bitterness in sugar: O-GlcNAcylation aggravates pre-B acute lymphocytic leukemia through glycolysis via the PI3K/Akt/c-Myc pathway. *Am J Cancer Res* 7:1337–1349.
76. Freund P, Kerenyi MA, Hager M, Wagner T, Wingelhofer B, Pham HTT, Elabd M, Han X, Valent P, Gouilleux F, Sexl V, Kramer OH, Groner B, Moriggl R (2017) O-GlcNAcylation of STAT5 controls tyrosine phosphorylation and oncogenic transcription in STAT5-dependent malignancies. *Leukemia* 31:2132–2142.
77. Allard, M. F., Schonekess, B. O., Henning, S. L., English, D. R., & Lopaschuk, G. D. (1994) Contribution of oxidative metabolism and glycolysis to ATP production in hypertrophied hearts. *Am J Physiol* 267, H742–H750.
78. Chatham, J. C., & Young, M. E. (2012). Metabolic remodeling in the hypertrophic heart: fuel for thought. *Circ Res* 111,666–668.
79. Young ME, Yan J, Razeghi P, Cooksey RC, Guthrie P H, Stepkowski SM, McClain DA, Tian R, Taegtmeier H (2007) Proposed regulation of gene expression by glucose in rodent heart. *Gene Regul Syst Biol* 1:251–262.
80. Fulop N, Feng W, Xing D, He K, Not LG, Brocks CA, Marchase RB, Miller AP, Chatham JC (2008) Aging leads to increased levels of protein o-linked n-acetylglucosamine in heart, aorta, brain, and skeletal muscle in Brown-Norway rats. *Biogerontology* 9:139–151.
81. Facundo HT, Brainard RE, Watson LJ, Ngoh GA, Hamid T, Prabhu SD, Jones SP (2012) O-GlcNAc signaling is essential for NFAT-mediated transcriptional reprogramming during cardiomyocyte hypertrophy. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 302:H2122-H2130.
82. Watson LJ, Facundo HT, Ngoh GA, Ameen M, Brainard RE, Lemma KM, Long BW, Prabhu SD, Xuan YT, Jones SP (2010) O-linked beta-N-acetylglucosamine transferase is indispensable in the failing heart. *Proc Natl Acad Sci USA* 107:17797–17802.
83. Hu Y, Suarez J, Fricovsky E, Wang H, Scott BT, Trauger SA, Han W, Hu Y, Oyeleye MO, Dillmann WH (2009) Increased enzymatic OGlcNAcylation of mitochondrial proteins impairs mitochondrial function in cardiac myocytes exposed to high glucose. *J Biol Chem* 284:547-555.
84. Clark RJ, McDonough PM, Swanson E, Trost SU, Suzuki M, Fukuda M, Dillmann WH (2003) Diabetes and the accompanying hyperglycemia impairs cardiomyocyte calcium cycling through increased nuclear O-GlcNAcylation. *J Biol Chem* 278:44230–44237.
85. Hu Y, Belke D, Suarez J, Swanson E, Clark R, Hoshijima M, Dillmann WH (2005) Adenovirus-mediated overexpression of O-GlcNAcase improves contractile function in the diabetic heart. *Circ Res* 96:1006–1013.
86. Ngoh GA, Facundo HT, Hamid T, Dillmann W, Zachara NE, Jones SP (2009) Unique hexosaminidase reduces metabolic survival signal and sensitizes cardiac myocytes to hypoxia/reoxygenation injury. *Circ Res* 104:41–49.
87. Mattiazii A, Kranias G (2014) The role of CaMKII regulation of phospholamban activity in heart disease. *Front Pharmacol* 27; 5:5.
88. Yokoe S, Asahi M, Takeda T, Otsu K, Taniguchi N, Miyoshi E, Suzuki K (2010) Inhibition of phospholamban phosphorylation by O-GlcNAcylation: implications for diabetic cardiomyopathy. *Glycobiology* 20:1217–1226.
89. Dassanayaka S, Jones SP (2014) O-GlcNAc and the cardiovascular system. *Pharmacology & Therapeutics* 142:62–71.
90. Liu J, Pang Y, Chang T, Bounelis P, Chatham JC, Marchase RB (2006) Increased hexosamine biosynthesis and protein O-GlcNAc levels associated with myocardial protection against calcium paradox and ischemia. *J Mol Cell Cardiol* 40:303–312.
91. Champattanachai V, Marchase RB, Chatham JC (2007) Glucosamine protects neonatal cardiomyocytes from ischemia-reperfusion injury via increased protein associated O-GlcNAc. *Am J Physiol Cell Physiol* 292:C178–C187.
92. Fulop N, Zhang Z, Marchase RB, Chatham JC (2007) Glucosamine cardioprotection in perfused rat hearts associated with increased o-linked n-acetylglucosamine protein

- modification and altered p38 activation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 292:H2227–H2236.
93. Champattanachai V, Marchase RB, Chatham JC (2008) Glucosamine protects neonatal cardiomyocytes from ischemia–reperfusion injury via increased protein O-GlcNAc and increased mitochondrial Bcl-2. *Am J Physiol Cell Physiol* 294:C1509–C1520.
 94. Ngoh GA, Watson LJ, Facundo HT, Dillmann W, Jones SP (2008) Non-canonical glycosyltransferase modulates post-hypoxic cardiac myocyte death and mitochondrial permeability transition. *J Mol Cell Cardiol* 45:313–325.
 95. Jensen RV, Johnsen J, Kristiansen SB, Zachara NE, Botker HE (2013) Ischemic preconditioning increases myocardial O-GlcNAc glycosylation. *Scand Cardiovasc J* 47:168–174.
 96. Jones SP, Zachara NE, Ngoh GA, Hill BG, Teshima Y, Bhatnagar A, Hart GW, Marban E (2008) Cardioprotection by n-acetylglucosamine linkage to cellular proteins. *Circulation* 117:1172–1182.
 97. Zafir A, Readnower R, Long BW, McCracken J, Aird A, Alvarez A, Cummins TD, Li Q, Hill BG, Bhatnagar A, Prabhu SD, Bolli R, Jones SP (2013) Protein O-GlcNAcylation is a novel cytoprotective signal in cardiac stem cells. *Stem Cells* 31:765–775.
 98. Ngoh GA, Hamid T, Prabhu SD, Jones SP (2009) O-GlcNAc signaling attenuates ER stress-induced cardiomyocyte death. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 297:H1711–H1719.
 99. Hwangh, Rhim H (2018) Functional significance of O-GlcNAc neuronal modification in regulating properties. *Pharmacological Research* 129:295–307.
 100. Taylor EW, Wang K, Nelson AR, Puckett R, Bredemann TM, Fraser KB, Clinton SM, Marchase RB, Chatham JC, McMahon ALL (2014) O-GlcNAcylation of receptor GluA2 is associated depression with a novel form of long-term at hippocampal synapses. *J Neurosci.* 1:10–21.
 101. Yang YR, Song S, Hwang H, Lee JH, Jung SJ, Kim SJ, Yoon S, Hur JH, Park JI, Nam CD, Seo YK, Kim JH, Rhim H, Suh PG (2017) Memory and synaptic plasticity are impaired by dysregulated hippocampal O-GlcNAcylation. *Sci. Rep* 7:44921.
 102. Wang AC, Jensen eH, Rexach JE, Vinters HV, Hsieh-Wilson LC (2016) Loss of O-GlcNAc glycosylation in forebrain excitatory neurons induces neurodegeneration. *Proc Nat Acad Sc USA* 52:15120–15125.
 103. Liu Y, Li X, Yu Y, Shi J, Liang Z, Run X, Li Y, Dai CL, Grundke-Iqbal I, Iqbal KF, Liu F, Gong CX (2012) Developmental regulation of protein O-GlcNAcylation, O-GlcNAc transferase and O-GlcNAcase in mammalian brain. *PLoS One* 8: e43724.
 104. Lagerlof O, Hart GW, Haganir RL (2017) Excitatory O-GlcNAc transferase regulates excitatory synapse maturity. *Proc Natl Acad Sci USA* 7:1684–1689.
 105. Olivier-Van Stichelen S, Wang P, Comly M, Love DC, Hanover JA (2017) Nutrient-driven O-linked N-Acetylglucosamine (O-GlcNAc) cycling impacts neurodevelopmental timing and metabolism. *J Biol Chem* 15:6076–6085.
 106. Rexach JE, Clark PM, Mason DE, Neve RL, Peters EC, Hsieh-Wilson LC (2012) Dynamic O-GlcNAc modification regulates CREB-mediated gene expression and memory formation. *Nat Chem Biol* 3:253–261.
 107. Atasoy D, Betley JN, Su HH, Sternson SM (2012) Deconstruction of a neural circuit for hunger. *Nature* 7410:172–177.
 108. Ruan HB, Dietrich MO, Liu ZW, Zimmer MR, Li MD, Singh JP, Zhang K, Wu J, Horvath TL, Yang X (2014) O-GlcNAc transferase enables AgRP Neurons to suppress browning of white fat. *Cell* 2: 306–317.
 109. Khidekel N, Ficarro SB, Peters EC, Hsieh-Wilson LC (2004) Exploring the O-GlcNAc proteome: direct identification of O-GlcNAc-modified proteins from the brain. *Proc Nat. Acad Sci USA* 36:13132–13137.
 110. Trinidad JC, Barkan DT, Gullledge BF, Thalhammer A, Sali A, Schoepfer R, Burlingame AL (2012) Global identification and characterization of both O-GlcNAcylation and phosphorylation at the murine synapse. *Mol Cel. Proteomics* 8:215–229.
 111. Avila J, Lucas JJ, Perez M, Hernandez F (2004) Role of tau protein in both physiological and pathological conditions. *Physiol Rev* 2:361–384.
 112. Hanger DP, Noble W (2011) Functional implications of glycogen synthase kinase-3-mediated tau phosphorylation. *Int J Alzheimers Dis* 2011:352805.
 113. Noble W, Hanger DP, Miller CC, Lovestone S (2013) The importance of tau phosphorylation for neurodegenerative diseases. *Front Neurol* 4:83.
 114. Dixit R, Ross JL, Goldmanv YE, Holzbaur EL (2008) Differential regulation of dynein and kinesin motor proteins by tau. *Science* 5866:1086–1089.
 115. Cho JH, Johnson GV (2003) Glycogen synthase kinase 3beta phosphorylates tau at both primed and unprimed sites. Differential impact on microtubule binding. *J Biol Chem* 1:187–193.

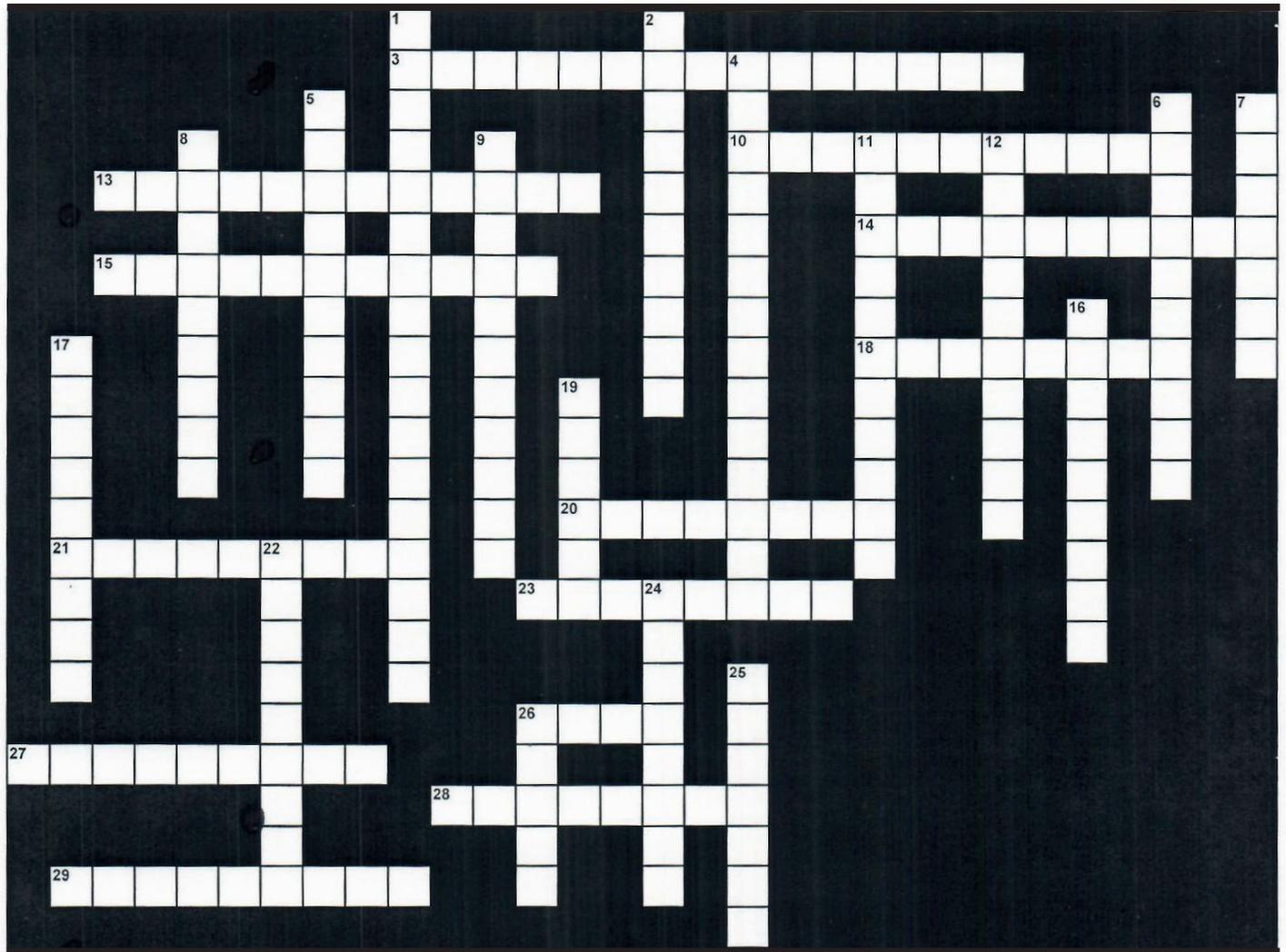
116. Sultan A, Nessler F, Violet M, Begard S, Loyens A, Talahari S, Mansuroglu Z, Marzin D, Sergeant N, Humez S, Colin M, Bonnefoy E, Buee L, Galas MC (2011) Nuclear tau, a key player in neuronal DNA protection. *J Biol Chem* 6:4566–4575.
117. Mondragon-Rodriguez S, Trillaud-Doppia E, Dudillot A, Bourgeois C, Lauzon M, Leclerc N, Boehm J (2012) Interaction of endogenous tau protein with synaptic proteins is regulated by tauphosphorylation, N-methyl-D-aspartate receptor-dependent. *J Biol Chem* 38:32040–32053.
118. Kimura T, Whitcomb DJ, Jo J, Regan P, Piers T, Heo S, Brown C, Hashikawa T, Murayama M, Seok M, Sotiropoulos I, Kim E, Collingridge GL, Takashima A, Cho K (2014) Microtubule-associated protein tau is essential for long-term depression in the hippocampus. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 1633:20130144.
119. Lim S, Haque MM, Nam G, Ryoo N, Rhim H, Kim YK (2015) Monitoring of intracellular tau aggregation regulated by OGA/OGT inhibitors. *Int. J. Mol. Sci.* 6 (9) (2015) 20212–20224.
120. LaFerla FM, Green KN, Oddo S (2007) Intracellular amyloid-beta in Alzheimer's disease. *Nat Rev Neurosci* 7:499–509.
121. Wang Y, Mandelkow E (2016) Tau in Physiology and pathology. *Nat Rev Neurosci* 1: 5–21.
122. Griffith LS, Mathes M, Schmitz B (1995) Beta-amyloid precursor protein is modified with O-linked N-acetylglucosamine. *J Neurosci Res* 2:270–278.
123. Jacobsen KT, Iverfeldt K (2011) O-GlcNAcylation increases non-amyloidogenic processing of the amyloid-beta precursor protein (APP). *Biochem Biophys Res Commun* 3:882–886.
124. Maries E, Dass B, Collier TJ, Kordower JH, Steece-Collier K (2003) The role of alpha-synuclein in Parkinson's disease: insights from animal models. *Nat Rev Neurosci* 9: 727–738.
125. Marotta NP, Lin YH, Lewis YE, Ambroso MR, Zaro BW, Roth MT, Arnold DB, Langen R, Pratt MR (2015) O-GlcNAc modification blocks the aggregation and toxicity of the protein alpha-synuclein associated with Parkinson's disease. *Nat Chem* 11:913–920.
126. Folmes CD, Dzeja PP, Nelson TJ, Terzic A (2012) Metabolic plasticity in stem cell homeostasis and differentiation. *Cell Stem Cell* 5:596–606.
127. Zhang H, Badur MG, Divakaruni AS, Parker SJ, Jager C, Hiller K, Murphy AN, Metallo CM (2016) Distinct metabolic states can support self-renewal and Lipogenesis in human pluripotent stem cells under different culture conditions. *Cell Rep* 16:1536–1547.
128. Chen CT, Shih YR, Kuo TK, Lee OK, Wei YH (2008) Coordinated changes of mitochondrial biogenesis and antioxidant enzymes during osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells. *Stem Cells* 4:960–968.
129. Turner WS, Seagle C, Galanko JA, Favorov O, Prestwich GD, Macdonald JM, Reid LM (2008) Nuclear magnetic resonance metabolomic footprinting of human hepatic stem cells and hepatoblasts cultured in hyaluronan-matrix hydrogels. *Stem Cells* 6:1547–1555.
130. Simsek T, Kocabas F, Zheng J, Deberardinis RJ, Mahmoud AI, Olson EN, Schneider JW, Zang CC, Sadek H (2010) The distinct metabolic profile of hematopoietic stem cells reflects their location in a hypoxic niche. *Cell Stem Cell* 3:380–390.
131. Mohyeldin A, Garzon-Muvdi T, Quinones-Hinojosa A (2010) Oxygen in stem cell biology: a critical component of the stem cell niche. *Cell Stem Cell* 2:150–161.
132. Varum S, Momcilovic O, Castro C, Ben-Yehudah A, Ramalho-Santos J, Navara CS (2009) Enhancement of human embryonic stem cell pluripotency through inhibition of the mitochondrial respiratory chain. *Stem Cell Res* 2–3:142–156
133. Chen G, Gulbranson DR, Hou Z, Bolin JM, Ruotti V, Probasco MD, Smuga-Otto K, Howden SE, Diol NR, Popson NE, Wagner R, Lee GO, Antonsiewics-Bourget J, Teng JMC, Thomson JA (2011) Chemically defined conditions for human iPSC derivation and culture. *Nat Methods* 5:424–429.
134. Kondoh H, Leonart ME, Nakashima Y, Yokode M, Tanaka M, Bernard D, Gil J, Beach D (2007) A high glycolytic flux supports the proliferative potential of murine embryonic stem cells. *Antioxid Redox Signal* 3:293–299.
135. Marsboom G, Zhang GF, Pohl-Avila N, Zhang Y, Yuan Y, Kang H, Hao B, Brunengraber H, Malik AB, Rehman J (2016) Glutamine metabolism regulates the pluripotency transcription factor OCT4. *Cell Rep* 2:323–332.
136. Sharma NS, Saluja AK, Banerjee S (2018) Nutrient-sensing and self-renewal: O-GlcNAc in a new role. *J Bioenerg Biomembr* 50: 205–211.
137. Shafi R, Iyer SPN, Ellies LG, O'Donnell N, Marek KW, Chui D, Hart GW, Marth JD (2000) The O-GlcNAc transferase gene resides on the X chromosome and is essential for embryonic stem cell viability and mouse ontogeny. *PNAS* 11:5735–5739.
138. Jang H, Kim TW, Yoon S, Choi SY, Kang TW, Kim SY, Kwon YW, Cho EJ, Youn HD (2012) O-GlcNAc regulates pluripotency and reprogramming by

- directly acting on core components of the pluripotency network. *Cell Stem Cell* 11:62–74.
139. Takahashi K, Yamanaka S (2006) Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell* 126:663–76.
 140. Speakman CM, Domke TC, Wongpaiboonwattana W, Sanders K, Mudaliar M, van Aalten DM, Barton GJ, Stavridis MP (2014) Elevated O-GlcNAc levels activate epigenetically repressed genes and delay mouse ESC differentiation without affecting naive to primed cell transition. *Stem Cells* 32(10):2605–2615.
 141. Pathak S, Borodkin VS, Albarbarawi O, Campbell DG, Ibrahim A, van Aalten DM (2012) O-GlcNAcylation of TAB1 modulates TAK1-mediated cytokine release. *EMBO J* 31:1394–1404.
 142. Chikanishi T, Fujiki R, Hashiba W, Sekine H, Yokoyama A, Kato S (2010) Glucose induced expression of MIP-1 genes requires O-GlcNAc transferase in monocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 394:865–870.
 143. Dias WB, Cheung WD, Wang Z, Hart GW (2009) Regulation of calcium/calmodulin dependent kinase IV by O-GlcNAc modification. *J Biol Chem* 284:21327–21337.
 144. Yao AY, Tang HY, Wang Y, Feng MF, Zhou RL (2004) Inhibition of the activating signals in NK92 cells by recombinant GST-sHLA-G1a chain. *Cell Res* 14:155–160.
 145. Hwang SY, Hwang JS, Kim SY, Han IO (2013) O-GlcNAc transferase inhibits LPS-mediated expression of inducible nitric oxide synthase through an increased interaction with mSin3A in RAW264.7 cells. *Am J Physiol Cell Physiol* 305:C601–C608.
 146. Li X, Gong W, Li L, Wen H (2017) Downregulation of the O-GlcNAc signaling promotes activation of the innate immune response in microbial sepsis. *J Immunol* 70:78.
 147. Ryu IH, Do SI (2011) Denitrosylation of S-nitrosylated OGT is triggered in LPS-stimulated innate immune response. *Biochem Biophys Res Commun* 408:52–57.
 148. Li X, Zhang Z, Li L, Gong W, Lazenby AJ, Swanson BJ, Herring LE, Asara JM, Singer JD, Wen H (2017) Myeloid-derived cullin 3 promotes STAT3 phosphorylation by inhibiting OGT expression and protects against intestinal inflammation. *J Exp Med* 214:1093–1109.
 149. de Jesus T, Shukla S, Ramakrishnan P (2018) Too sweet to resist: Control of immune cell function by O-GlcNAcylation. *Cellular Immunology* 333:85–92.
 150. Kneass ZT, Marchase RB (2005) Protein O-GlcNAc modulates motility-associated signaling intermediates in neutrophils. *J Biol Chem* 280:14579–14585.
 151. O'Donnell N, Zachara NE, Hart GW, Marth JD (2004) Ogt-dependent X-chromosome-linked protein glycosylation is a requisite modification in somatic cell function and embryo viability. *Mol Cell Biol* 24:1680–1690.
 152. Golks A, Tran TT, Goetschy JF, Guerini D (2007) Requirement for O-linked N-acetylglucosaminyltransferase in lymphocytes activation. *EMBO J* 26:4368–4379.
 153. Ramakrishnan P, Clark PM, Mason DE, Peters EC, Hsieh-Wilson LC, Baltimore D (2013) Activation of the transcriptional function of the NF-kappaB protein c-Rel by O-GlcNAc glycosylation. *Sci Signal* 6:ra75.
 154. Johnson B, Opimba M, Bernier J (2014) Implications of the O-GlcNAc modification in the regulation of nuclear apoptosis in T cells. *Biochim Biophys Acta* 1840:191–198.
 155. Lund PJ, Elias JE, Davis MM (2016) Global analysis of O-GlcNAc glycoproteins in activated human T cells. *J Immunol* 197:3086–3098.
 156. Swamy M, Pathak S, Grzes KM, Damerow S, Sinclair LV, van Aalten DM, Cantrell DA (2016) Glucose and glutamine fuel protein O-GlcNAcylation to control T cell self-renewal and malignancy. *Nat Immunol* 17:712–720.
 157. Liu R, Ma X, Chen L, Yang Y, Zeng Y, Gao J, Jiang W, Zhang F, Li D, Han B, Han R, Qiu R, Huang W, Wang Y, Hao J (2017) MicroRNA-15b suppresses Th17 differentiation and is associated with pathogenesis of multiple sclerosis by targeting O-GlcNAc transferase. *J Immunol* 198:2626–2639.
 158. Wu JL, Chiang MF, Hsu PH, Tsai DY, Hung KH, Wang YH, Angata T, Lin KI (2017) O-GlcNAcylation is required for B cell homeostasis and antibody responses. *Nat Commun* 8:1854.
 159. Martinez MR, Dias TB, Natov PS, Zachara NE (2017) Stress-induced O-GlcNAcylation: an adaptive process of injured cells. *Biochemical Society Transactions* 45:237–249
 160. Yuzwa SA, Shan X, Macauley MS, Clark T, Skorobogatko Y, Vosseller K, Voadlo DJ (2012) Increasing O-GlcNAc slows neurodegeneration and stabilizes tau against aggregation. *Nat Chem Biol* 8:393–399.

CRUCIBIOQ[®] METABOLISMO DEL NITRÓGENO

Yolanda Saldaña Balmori

Correo E: balmori@bq.unam.mx



HORIZONTALES

3 Grupo de enzimas que tienen la función de ser exopeptidasas que actúan en una cadena polipeptídica eliminando al aminoácido ubicado en el extremo N-terminal.

10 La cantidad de ellos en el interior de las células se debe a los producidos por la hidrólisis de las proteínas de la dieta y a los obtenidos por la degradación de las proteínas intracelulares ya que el recambio de ellas es constante debido a su vida media.

13 Este zimógeno se libera a la forma activa por la acción de la enteropeptidasa secre-

- tada por las células del borde en cepillo del intestino delgado; la enzima activa cataliza a la vez la acción de tres zimógenos más el quimotripsinógeno, la proelastasa y las procarboxipeptidasas.
- 14** Las proteínas en la célula mantienen un equilibrio entre su síntesis y degradación, este proceso recibe el nombre de recambio proteico, en la degradación participan diversas enzimas, entre otras las _____ que son proteolíticas lisosomales.
- 15** Siete aminoácidos están incluidos en este grupo por la capacidad que tienen al degradarse de formar acetyl-CoA o acetacetato ellos son: isoleucina, treonina, fenilalanina, triptófano, tirosina, leucina y lisina, pero sólo los dos últimos son exclusivos de este grupo ya que los primeros cinco pueden además sintetizar glucosa.
- 18** Aminoácido que no participa en la composición de las proteínas, es un metabolito del ciclo de la urea, se obtiene cuando la arginina por medio de la arginasa libera a la urea, mientras que esta molécula con la participación del carbamoil fosfato da lugar a la citrulina.
- 20** Metabolito tóxico para el sistema nervioso central que se genera por el catabolismo de los aminoácidos, la mayor parte de lo que se produce reacciona en el sitio de formación con el α -cetoglutarato para formar glutamato o glutamina; en el hígado la carbamoil fosfato sintetasa lo fija para iniciar el ciclo de la urea.
- 21** El producto de la aminación reductora del α -cetoglutarato es el glutamato cuando se encuentra un exceso el NH_4^+ que es tóxico; en el cerebro por la acción de la sintasa específica, con la presencia de ATP se incorpora otro NH_4^+ para dar lugar a la _____ que posteriormente es transportada al hígado donde se producen los desechos nitrogenados.
- 23** Son moléculas que utiliza el organismo para transmitir información entre las células, en el grupo de las de naturaleza peptídica queda incluidas la insulina, la somatostatina la calcitonina y el glucagón, entre otras.
- 26** Metabolito que se produce en el hígado y es el principal producto nitrogenado que se excreta por la orina, el organismo lo utiliza para eliminar el amoniaco que es tóxico, particularmente para el cerebro y el sistema nervioso central.
- 27** Una vez que son digeridas en el estómago e intestino delgado, se liberan los aminoácidos que se absorben por el epitelio intestinal, pasan a la circulación y son incorporados por las células para la síntesis de proteínas celulares, ante la degradación de los mismos, pueden formar parte de una gran cantidad de compuestos, entre otros, del grupo hemo de los citocromos y hemoglobina, de hormonas y neurotransmisores.
- 28** Es una endopeptidasa que actúa del mismo modo que la quimotripsina y la elastasa, ésta hidroliza las uniones peptídicas donde participan la arginina y la lisina.
- 29** Son las enzimas encargadas de romper a las proteínas en el estómago y en el intestino, algunas de ellas son secretadas como zimógenos que son las formas inactivas, dado que las formas activas pueden digerirse las unas a las otras.

VERTICALES

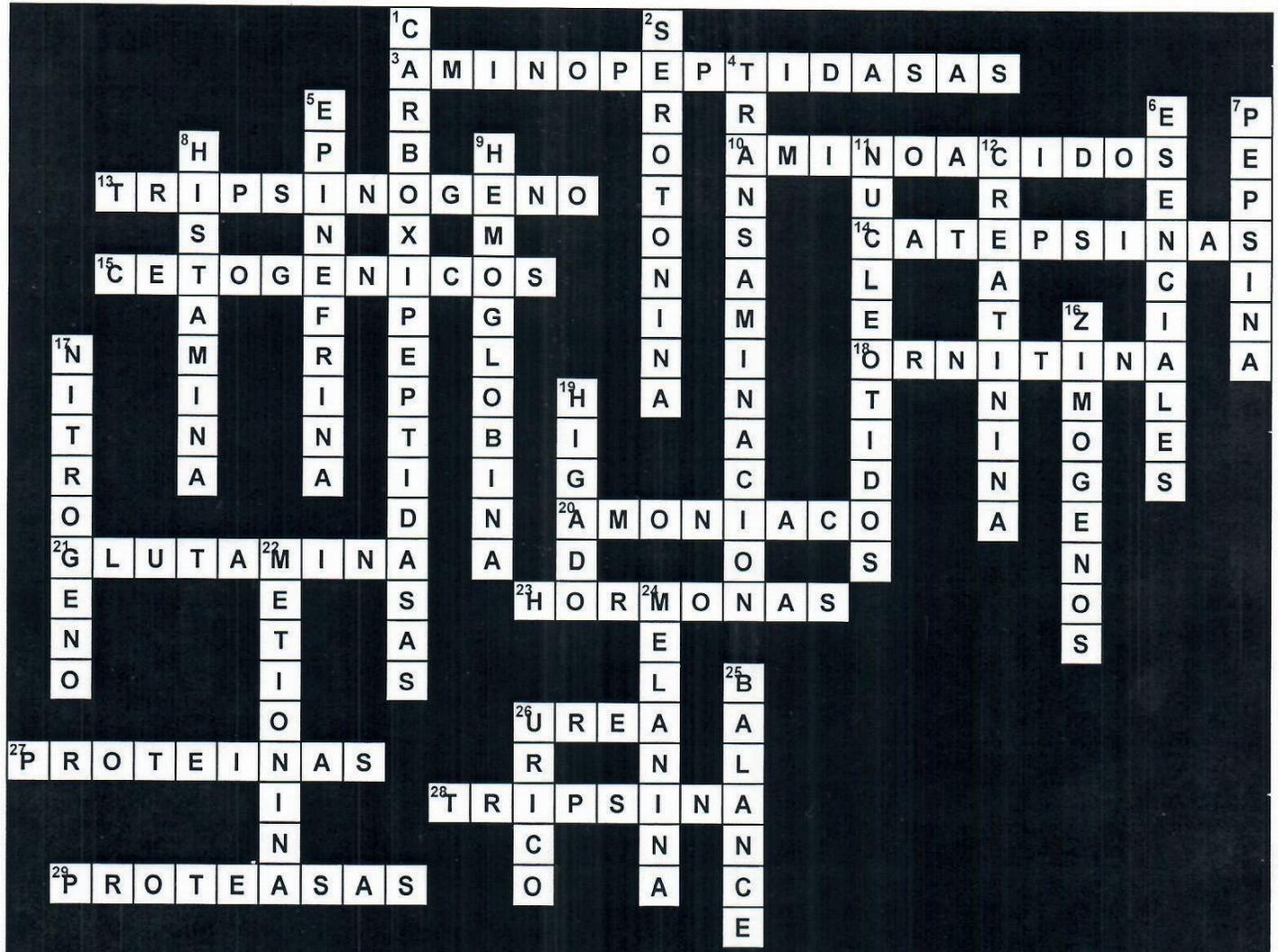
- 1** Estas exopeptidasas escinden la unión peptídica de los aminoácidos del extremo carboxilo de la cadena peptídica, la forma A libera a los aminoácidos hidrófobos y la forma B a los aminoácidos básicos.
- 2** El triptófano mediante una hidroxilación da lugar al 5-hidroxitriptofano y posteriormente por la descarboxilasa específica se obtiene este metabolito el que tiene la función de ser neurotransmisor, tiene la capacidad de regular el sueño, los estados de ánimo, las emociones y entre otras funciones los cambio en su concentración están relacionados con algunos desequilibrios mentales.
- 4** Un ejemplo de este proceso es cuando el aspartato le transfiere el grupo amino al α -cetoglutarato para convertirse en oxaloacetato y glutamato, este último con el grupo amino transferido.
- 5** Se produce en las glándulas suprarrenales junto con su precursor más inmediato, constituyendo las catecolaminas que tienen la función de actuar como neurotransmisores en el sistema nervioso; en situaciones de estrés aumenta su producción para estar preparada para la defensa; su acción está mediada por receptores adrenérgicos.

- 6** Los aminoácidos pertenecientes a este grupo son los que el organismo no puede sintetizar y por lo tanto es necesario ingerirlos en la dieta, algunos de ellos son: metionina, treonina y fenilalanina.
- 7** El precursor de esta enzima proteolítica es secretado por las células principales del estómago, mientras que las células parietales gástricas secretan HCl, este ácido altera la configuración del precursor, induciendo un corte del mismo para producir la forma activa, que tiene la capacidad de romper uniones peptídicas donde el grupo carboxilo proviene de los aminoácidos fenilalanina, tirosina, ácido aspártico y ácido glutámico.
- 8** Neurotransmisor proveniente de la descarboxilación de un aminoácido esencial, se produce en el cerebro por mastocitos y ciertas fibras neurales, tiene múltiples funciones entre otras, se desplaza al sitio donde hay una sustancia extraña y produce inflamación, forma parte del sistema inmune, regula el ciclo sueño-vigilia, controla los niveles de estrés.
- 9** Esta es una proteína con un alto valor de recambio, se produce en los reticulocitos. Su degradación a aminoácidos la realizan las células fagocíticas que eliminan constantemente a los eritrocitos maduros de la circulación ya que la vida media de estas células es de 120 días.
- 11** Estos compuestos están constituidos por una base nitrogenada, un azúcar y de uno a tres grupos fosfato; en el metabolismo participan en tres tipos de reacciones: como transductores de energía, como participantes de los ácidos nucleicos y como coenzimas de las deshidrogenasas.
- 12** La síntesis de creatina se inicia en el riñón donde se combinan glicina y arginina para dar lugar a guanidinoacetato, esta molécula se mueve al hígado donde la S-adenosilmetionina dona el grupo metilo, una vez formada, se desplaza por la circulación a cerebro, corazón y músculo esquelético donde en presencia de ATP forma el compuesto de alta energía que es un reserva de la misma, y al desfosforilarse se cicliza, formando la _____ que es excretada en la orina como un indicador de la función excretora renal.
- 16** El fibrinógeno y la protrombina son _____ que participan en la coagulación sanguínea, pasan a la forma activa cuando unas proteasas se activan por su unión a la lesión en la pared de un vaso sanguíneo, permitiendo con ello la formación del coágulo.
- 17** Este elemento es fundamental para todos los seres vivos, se encuentra en una gran variedad de biomoléculas, dentro de las más importantes están: aminoácidos, porfirinas, varios lípidos, proteínas, ácidos nucleicos y nucleótidos.
- 19** Órgano que participa principalmente en el metabolismo de los aminoácidos ya que convierte la mayor parte de los esqueletos de carbono en intermediarios del ciclo de los ácidos tricarboxílicos, en él se sintetiza la urea, las proteínas plasmáticas y los aminoácidos no esenciales.
- 22** Aminoácido esencial cuyas funciones metabólicas principales son: 1º ser constituyente de las proteínas, 2º transferir grupos metilo a aceptores adecuados mediante la reacción de transmetilación y 3º uno de sus productos de degradación, la homocisteína en presencia de serina da lugar a la cistationina, que es el precursor directo de otro aminoácido, la cisteína.
- 24** Polímero pigmentado que se obtiene después de varias reacciones a partir de la tirosina; se sintetiza en la capa basal de la epidermis y es responsable de la pigmentación de la piel, también se encuentra presente en la retina, en la sustancia *nigra* del cerebro y en la médula suprarrenal.
- 25** El término de _____ nitrogenado se aplica cuando la cantidad de nitrógeno que excreta un individuo en la orina es igual a la que consume en su dieta proteínica; se considera al mismo como negativo cuando la cantidad que excreta es mayor que la consumida y positivo cuando la ingesta es mayor que la excretada.
- 26** El catabolismo de los nucleótidos AMP, GMP y XMP por diferentes vías dan lugar a hipoxantina, guanina y xantosina, posteriormente convergen en xantina y mediante la oxidasa específica se origina el ácido _____ el cual se excreta por la orina; cuando hay alteración en su producción o disminución en su excreción puede acumularse en forma de cristales que se depositan en las articulaciones y son responsables de dolor, e inflamación.

SOLUCIÓN AL CRUCIBIOQ[®] METABOLISMO DEL NITRÓGENO

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 por orden numérico de aparición en el texto al final del trabajo y deben incluirse en el formato "Vancouver".

Autor/es. Título del artículo. Abreviatura internacional de la revista. Año; volumen (número): página inicial-final del artículo de acuerdo con el siguiente ejemplo: Dawes J. Rowley J. Enhancing the customer experience: contributions from information technology, J Business Res. 2005; 36(5):350-7. Los libros deben citarse de la siguiente forma: Libro completo: Autor/es. Título del libro. Edición. Lugar de publicación: Editorial; año. Por ejemplo: Bell J. Doing your research project 5th. ed. Maidenhead: Open University Press; 2005. Capítulo de libro: Autor/es del capítulo. Título del capítulo. En: Director/Coordinador/Editor del libro. Título del libro. Edición. Lugar de publicación: Editorial; año. Página inicial-final del capítulo. Por ejemplo: Franklin AW. Management of the problem. En: Smith SM, editor. The maltreatment of children. Lancaster: MTP; 2002. p. 83-85.

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.