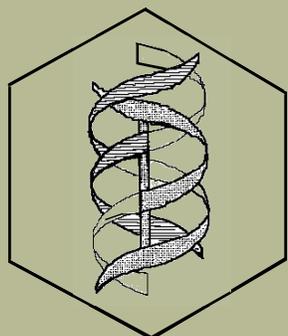


REB 2010

REVISTA DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA



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

Departamento de Bioquímica
Facultad de Medicina
UNAM



Facultad de Medicina
UNAM



Sociedad Mexicana de
Bioquímica, A.C.

EDITADO DESDE 1982 COMO BOLETÍN DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA

VOL. 29

No. 2

JUNIO 2010

COMITÉ EDITORIAL

EDITOR EN JEFE

JOSÉ VÍCTOR CALDERÓN SALINAS

Departamento de Bioquímica
Centro de Investigación y de Estudios Avanzados

EDITORES

MARCO ANTONIO JUÁREZ OROPEZA

Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

MINA KÖNIGSBERG FAINSTEIN

División de Ciencias Biológicas y de la Salud
Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa

LEONOR FERNÁNDEZ RIVERA RÍO

Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

GRACIELA MEZA RUIZ

Instituto de Fisiología Celular
Universidad Nacional Autónoma de México

ROCÍO SALCEDA SACANELLES

Instituto de Fisiología Celular
Universidad Nacional Autónoma de México

YOLANDA SALDAÑA BALMORI

Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

ANA CECILIA ZAZUETA MENDIZÁBAL

Departamento de Bioquímica
Instituto Nacional de Cardiología "Dr. Ignacio Chávez"

ALEJANDRO ZENTELLA DEHESA

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

ASISTENTE EDITORIAL

MARIVEL ROJAS GARCÍA

Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

EDITORES FUNDADORES

GUILLERMO CARVAJAL SANDOVAL

Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias
e Instituto Politécnico Nacional

JESÚS MANUEL LEÓN CÁZARES

Facultad de Ciencias Naturales
Universidad Autónoma de Querétaro

ENRIQUE PIÑA GARZA

Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

YOLANDA SALDAÑA BALMORI

Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

SERGIO SÁNCHEZ ESQUIVEL

Instituto de Investigaciones Biomédicas
Universidad Nacional Autónoma de México

CORRESPONSALES

ROCÍO SALCEDA SACANELLES

Coordinadora
Instituto de Fisiología Celular
Universidad Nacional Autónoma de México

JORGE LUIS RICO PÉREZ

Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán
Universidad Nacional Autónoma de México

CARLOS CERVANTES VEGA

Instituto de Investigaciones Químico Biológicas
Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

JOSÉ CARLOS GARCÍA PIÑEIRO

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

ALEJANDRO MARTÍNEZ MARTÍNEZ

Instituto de Ciencias Biomédicas
Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, Chihuahua

MYRNA SABANERO LÓPEZ

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

SERGIO SÁNCHEZ-ARMÁSS ACUÑA

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

MARTHA ANGÉLICA QUINTANAR ESCORZA

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

MARÍA MALDONADO VEGA

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

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

REVISTA DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA (REB), publicación trimestral. La presentación y disposición en conjunto y de cada página de la Revista de Educación Bioquímica son propiedad del editor. Derechos reservados © Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, A.C. Queda estrictamente prohibida la reproducción parcial o total por cualquier sistema o método mecánico o electrónico sin autorización por escrito del editor. Certificados de: Licitud de Título: 12000; Licitud de Contenido: 8397, expediente No. 1/432"2"/15792; Reserva al título en Derechos de Autor No. 04-2002-030616225500-102. (ISSN: 1665-1995); Reserva de título en Derechos de Autor para publicación electrónica No. 04-2005-092612014100-203 (ISSN: 187-3690). Diseño: Celia Virginia Sánchez Meza; UNAM-Departamento de Bioquímica y Facultad de Medicina. Distribución electrónica: Programa Universitario de Investigación en Salud (PUIS), UNAM (<http://computo.sid.unam.mx/Bioquimica> o bien <http://www.puis.unam.mx>). Correspondencia: Comité Editorial, Apartado Postal 70-281, Coyoacán, C. P. 04510, México, D. F. Correo electrónico: reb@bq.unam.mx.

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

CONTENIDO

COMITÉ EDITORIAL

EDITORIAL

LA CONFIANZA
José Victor Calderón Salinas.....27

ARTÍCULOS

EL MARCAPASO DEL CORAZÓN PUEDE SER
MODULADO POR LA ACETILCOLINA MEDI-
ANTE UNA VÍA DELIMITADA A LA MEMBRANA
José María Farías, Dieter Mascher,
María Cristina Paredes-Carbajal,
Patricia Victoria Torres-Durán y
Marco Antonio Juárez-Oropeza.....29

CITOCROMO P450 BIOMARCADOR
DE EXPOSICIÓN TERAPEÚTICO-
TOXICOLÓGICO-CARCINOGENICO
Elda Maria del Rocio Coutiño Rodríguez,
Antonio Purata y
Pedro Hernández Cruz.....39

SKIL: UN INHIBIDOR DE LA VÍA
DE LA CITOCINA TGF- β
Elisa Domínguez-Hüttinger y
Marina Macías-Silva.....53

OTRAS COMUNICACIONES

CRUCIBIOQ
ENZIMAS: LIASAS
Yolanda Saldaña Balmori.....60

FUNCIONES NOVEDOSAS DE LOS LÍPIDOS
NUCLEARES
Iliana Herrera, Eduardo Rodríguez Correa,
Alberto Vázquez Salazar y
Manuel Alejandro Semán Senderos.....63

SOLUCIÓN AL CRUCIBIOQ
ENZIMAS: LIASAS
Yolanda Saldaña Balmori.....65

AVISO A LOS MIEMBROS DE LA
ASOCIACIÓN MEXICANA DE PROFESORES
DE BIOQUÍMICA, A. C.66

CONVOCATORIA AL XVIII CONGRESO
DE LA ASOCIACIÓN MEXICANA DE
PROFESORES DE BIOQUÍMICA, A. C.67

XVIII CONGRESO DE LA ASOCIACIÓN
MEXICANA DE PROFESORES DE
BIOQUÍMICA, A. C.68

XXVIII CONGRESO NACIONAL
DE LA SOCIEDAD MEXICANA DE
BIOQUÍMICA, A. C.69

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

EDITORIAL

LA CONFIANZA

Por un lado es frecuente escuchar que el mexicano es en si mismo poco confiable, que miente y que no tiene confianza en nadie, mientras que por otro lado, y en contraste, hay discursos optimistas, oficialistas y demagógicos que indican que el mexicano es muy confiable y que confía en instituciones tales como el ejército, la iglesia o el propio gobierno.

Como no es fácil "confiar" en las encuestas y los supuestos estudios de opinión, la verdad no sabemos a ciencia cierta cual es la opinión del mexicano respecto a este punto. La desconfianza no es debida a que la metodología aplicada no sea científicamente probada, sino que es difícil pensar en instituciones y empresas dedicadas a estos estudios que no estén involucradas en intereses políticos, que no se contaminen con la posibilidad de no ser objetivos en sus resultados, es decir de no ser confiables. Pero no solo eso, también es complicado conceptualizar a ciudadanos que no contesten solamente lo políticamente correcto, aunque se trate de una encuesta anónima.

La sola expresión del párrafo anterior deja claro que eso de la confianza es muy complicado, ya que se liga y asocia a una serie de elementos, percepciones, premisas y paradigmas que no necesariamente son sólidos o verdaderos y que la experiencia previa general parece darles fuerza.

Una percepción a la ligera es que se desconfía casi permanentemente en las autoridades y el gobierno y que tal desconfianza parece permear a la sociedad en todos sus ámbitos. Sin embargo, una mirada un poco mas profunda indica que en general confiamos continuamente en toda la estructura social. Aunque muchas autoridades se empeñen en fomentar lo contrario.

Y es que queramos o no, tenemos que confiar en que el piloto del avión esta capacitado, durmió bien y no consumió alcohol, que el mecánico de la agencia automotriz realizó el cambio del filtro de aire que se nos cobró o mas aún que los frenos fueron correctamente ajustados; pero también que el cocinero y el mesero se lavaron las manos antes de preparar los alimentos y después de ir al baño. Que el dentista esterilizó el instrumental o que el médico está capacitado y actualizado; incluyendo

la confianza en que el agua del garrafón está correctamente tratada.

En el caso de la ciencia, la medicina y la academia, debemos confiar en la capacitación de los profesionales, pero también en su ética y la objetividad de la evaluación, entre otros muchos actos de confianza en su actividad profesional. A su vez el profesional debe confiar en que los pacientes o sus familiares, proporcionan información veraz para el diagnóstico según la semiología (la forma de interrogar al paciente) y que los estudiantes resuelven el examen sin copiar y que los resultados del experimento son obtenidos con el protocolo experimental y no con el manejo intencionalmente incorrecto de los datos o del propio experimento.

En este sentido las actividades profesionales en general y en particular las de la actividad científica dependen fuertemente de la confianza y toda la estructura descansa en confiar que unos y otros actúan de buena voluntad y que aun teniendo errores, artefactos o experimentos fallidos, todo ello es sin dolo y mala fe. No obstante lo anterior existen ejemplos de escándalos internacionales y nacionales donde se han dado casos de deshonestidad al presentar resultados falsos o manipulados para concluir tal o cual cosa, es claro que estos casos han tomado notoriedad por la importancia de la información, las implicaciones económicas, la fama y presencia del grupo involucrado o las rencillas políticas o hasta personales de los personajes comprometidos.

En tal sentido ninguna acción está de sobra para impregnar a los alumnos de la necesidad de la honestidad y ganancia de la confianza serán suficientes para lograr profesionistas cada vez mas responsables e íntegros, nos solo en la medicina y la ciencia, sino en todas las actividades de servicio que la sociedad requiere.

La lucha contra la deshonestidad debe de ser eminentemente educativa y no restrictiva y normativa como hasta ahora se hace. Con regulaciones sociales que invaden todas las esferas y que tienen poco impacto real para evitar el engaño y la trampa, sino que hace que la corrupción, la mordida, la burocracia y las necesidad de infinitos documentos suplan y lentifiquen actos de buena fe y confianza,

lo que obliga a que el pago de unos cuantos pesos para un examen, un servicio, una inscripción, pase por muchos escritorios, con muchas copias, con varios controles y por lo menos tres supervisiones, por solo mencionar algo que no suene exagerado. Lo cual pasa aun en las máximas instituciones de enseñanza y los centros de investigación.

Claro, con la certeza de que el que se dedica a engañar, lo logrará y que el sistema de corrupción y un regimiento de "especialistas" en trámites llamados "coyotes" acudirán a sangrar a los usuarios de buena voluntad y que tienen todos sus documentos en regla.

En este mismo sentido todo se llena de papel ya que no creemos en el curriculum vitae del aspirante y se solicitan las copias notariadas o varias copias y contrastarla con el original y la cedula profesional con una carta que la autentifique o el artículo publicado con las ligas a la revista para estar seguro que no se formó con algún programa de computo. Las actas de tesis, con la tesis y firmas originales para estar seguro que no salió de la imprenta sin pasar por los filtros oficiales, entre muchos mas requisitos que se van ocurriendo para hacerle frente a la deshonestidad febril que efectivamente tienen unos cuantos y que afecta brutal e irremediablemente a todos los demás y que, por supuesto, no detiene la corrupción de los que decidieron hacerla su forma de vida.

Sin duda es necesario generar ciudadanos confiables y con confianza y una de las principales herramientas está en la educación, debemos de trabajar en ello empapando y empapándonos de

esos valores, dejando de hacer apología de que el que puede sortear las situaciones con deshonestidad es hábil y hasta listo, dejando de admirar al que pasa por la corrupción de la manera mas económica haciéndolo un héroe admirable y por otro lado, juzgar que quien pasa la burocracia honestamente es casi un tonto. En tal condición, cuántos se atreverían a denunciar la deshonestidad y ante quién se podría hacer.

Las acciones de gobierno no nos ayudan, parecen empeñados en fomentar la desconfianza y solo con afán de ser confiado pensaré que esto es debido a que no nos dan las premisas, argumentos y paradigmas correctos para entender una acción, una conclusión o una explicación. No sabemos si nos tratan como ignorantes, ellos son incapaces de dar una comunicación correcta o están mintiendo y lo hacen con impunidad y hasta cinismo, pero a ello nos enfrentamos todos los días, al grado de ya no creer ni en lo creíble.

Sin la confianza necesaria no se pueden establecer grupos de trabajo, núcleos de acción, sociedades sólidas y países que progresen. Es por ello necesario y urgente trabajar desde las bases educativas para no solo tener confianza, ser confiables, nuestra actividad profesional nos lo exige y al país le urge.

José Víctor Calderón Salinas

Editor en Jefe

Departamento de Bioquímica Cinvestav

jcalder@cinvestav.mx

EL MARCAPASO DEL CORAZÓN PUEDE SER MODULADO POR LA ACETILCOLINA MEDIANTE UNA VÍA DELIMITADA A LA MEMBRANA*

José María Farías¹, Dieter Mascher¹, María Cristina Paredes-Carbajal¹,
Patricia Victoria Torres-Durán², Marco Antonio Juárez-Oropeza²

¹Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad Universitaria, Distrito Federal, México. ² Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad Universitaria, Distrito Federal, México. Correo E: jomafa@liceaga.facmed.unam.mx

RESUMEN

La acetilcolina es un neurotransmisor liberado por el nervio vago que se une al receptor muscarínico M₂ en las células marcapaso del corazón. Esta unión ligando-receptor activa una proteína G de la cual sale el dímero beta-gamma. Este dímero se mantiene anclado a la cara interna de la membrana plasmática, ejerciendo una acción rápida, directa, delimitada a la membrana y que no requiere fosforilación sobre los canales de K⁺. Estos canales, inicialmente llamados K(Ach), hacen que sea más lenta la despolarización de la célula marcapaso y disminuya la frecuencia cardíaca. Además, la acetilcolina puede iniciar y mantener mecanismos de modulación lentos, con mensajeros intracelulares solubles, activación de cinasas y fosforilación. Se revisó también la acción adrenérgica complementaria y antagónica a la respuesta colinérgica.

ABSTRACT

Acetylcholine is a neurotransmitter released by the vagus nerve that binds to the muscarinic M₂ receptor of heart pacemaker cells. Ligand-receptor binding releases a beta-gamma dimer from the G protein. This dimer remains anchored to the inner surface of the plasma membrane, exerting a fast, direct, membrane delimited action that does not require phosphorylation of K⁺ channels. These channels, initially called K (Ach), produce a slow depolarization of the pacemaker cell, decreasing the heart rate. In addition, acetylcholine initiates and maintains slow modulation mechanisms that require soluble intracellular messengers, activation of kinases and phosphorylation. We also review the adrenergic action, complementary and antagonistic to cholinergic response.

INTRODUCCIÓN

La contracción rítmica del corazón es el sustrato básico del mecanismo de bombeo, el cual hace que la sangre circule por todo el organismo llevando nutrientes y recogiendo desechos. La contracción rítmica del corazón es un proceso automático que puede incrementarse, tanto en frecuencia como en intensidad, por la noradrenalina y/o la adrenalina. La noradrenalina es un neurotransmisor liberado por los nervios simpáticos. La adrenalina es una hormona que

juega un papel sinérgico con la noradrenalina, y proviene principalmente de la médula suprarrenal. El proceso contrario a la estimulación adrenérgica, la estimulación colinérgica, está mediada, en el corazón, por el nervio neumogástrico. Este nervio corresponde al décimo par craneal y es comúnmente llamado nervio vago. La acción del neurotransmisor acetilcolina, liberado por el nervio vago en el corazón, frena el ritmo cardíaco y debilita la fuerza de la contracción. El objetivo de este trabajo es revisar un mecanismo fisiológico particular, delimitado a la membrana plasmática,

PALABRAS

CLAVE:

Canales de potasio (K⁺), células marcapaso, efecto de la acetilcolina, modulación por proteínas G.

KEY WORDS:

G-protein modulation, pacemaker cells, potassium channels (K⁺), Acetylcholine effect.

desencadenado por la acetilcolina y llevado a cabo por uno de los componentes de las proteínas G, que realiza la transducción de la señal externa con el canal iónico.

COMPONENTES DEL SISTEMA TRANSDUCTOR

Históricamente, las proteínas G recibieron el nombre de proteínas N, debido a su capacidad de unir nucleótidos; después de conocer que específicamente unían nucleótidos de guanina, se cambió la nomenclatura a proteínas G. Más tarde se identificaron varias proteínas G, mismas que en la actualidad han constituido una superfamilia. Esta familia comprende dos grandes grupos, las monoméricas y las heterotriméricas. Las monoméricas no están asociadas a la membrana y se encuentran en el citoplasma o en el núcleo. Puesto que las proteínas G heterotriméricas son las que participan en la transducción de señales acopladas a receptor y la formación de segundos mensajeros, se describirán brevemente estas proteínas. Las proteínas G heterotriméricas están formadas por las subunidades α , β y γ ($G_{\alpha\beta\gamma}$), de las que se conocen múltiples isoformas; no obstante, es en la subunidad α en donde reside la actividad de GTPasa. Las subunidades α y γ pueden mantenerse ancladas a la cara interna de la membrana plasmática debido a modificaciones post-traduccionales, a saber: α se acila con ácido mirístico o con ácido palmítico, mientras que γ se derivatiza con farnesilo o geranilgeranilo. Existen diferentes familias de proteínas G heterotriméricas que se clasifican con base en la subunidad α , misma que define el tipo de efector, o segundo mensajero que regulan. Con base en lo anterior, existen las proteínas G_{α_s} , $G_{\alpha_i/o}$, G_{α_q} , G_{α_T} , $G_{\alpha_{olf}}$, $G_{\alpha_{gust}}$, entre otras (Tablas 1 y 2). Cuando la proteína $G_{\alpha\beta\gamma}$ se activa por la interacción con el complejo ligando-receptor, G_{α} une al GTP y se separa del dímero $G_{\beta\gamma}$. En algunos sistemas transductores, el efector es G_{α} , mientras que en otros es el dímero $G_{\beta\gamma}$. La subunidad G_{α} hidroliza al GTP, mantiene al GDP unido y entonces se reasocia con el dímero $G_{\beta\gamma}$ para regenerar el heterotrímero inactivo $G_{\alpha\beta\gamma}$, reiniciando el ciclo.

Básicamente, este sistema transductor de señales consta de tres componentes:

1. El receptor de la membrana plasmática con siete segmentos transmembranales llamado receptor 7TM, serpentín o receptor metabotrópico, o más recientemente llamado, receptor asociado a proteínas G (GPCR, G protein coupled receptor);
2. Una enzima de membrana plasmática que genera intracelularmente el segundo mensajero, y finalmente,
3. Una proteína G heterotrimérica que se disocia del receptor GPCR ocupado y activa a la

enzima o proteína efectora que formará el segundo mensajero. Existen componentes adicionales que participan en la regulación del sistema transductor, tales como el factor intercambiador del nucleótido de guanina (GEF, por sus siglas en inglés), que facilita el intercambio de GDP por GTP en la proteína $G_{\alpha\beta\gamma}$, por lo cual la activa. La proteína aceleradora de la actividad GTPasa (GAP, por sus siglas en inglés) favorece la hidrólisis del enlace fosfodiéster del GTP a GDP, por lo cual inactiva a la proteína G. A estos reguladores también se les conoce como RGS (por las siglas en Inglés, regulator of G-protein signaling), mismas que se añaden a una lista creciente de reguladores identificados.

Los receptores GPCRs comprenden una multitud de proteínas, y se reconocen gran variedad de ligandos, tales como los neurotransmisores, las feromonas, las hormonas, los odorivectores y una gran variedad de péptidos y proteínas. Los GPCRs se clasifican en seis grupos de acuerdo con su homología funcional y estructural:

1. Receptores semejantes a rodopsina (clase A o clase 1),
2. Receptores de la familia de la secretina (clase B o clase 2),
3. Receptor metabotrópico del glutamato y de las feromonas (clase C o clase 3),
4. Receptores fúngicos de las feromonas (clase D o clase 4),
5. Receptores del AMPc (clase E o clase 5)
- y 6. Receptores de la familia Frizzled/Smoothed (clase F o clase 6) (1).

En los vertebrados solamente se han encontrado las tres primeras clases, la familia A es el grupo más grande, que comprende al receptor para la luz (rodopsina), para la adrenalina (receptores adrenérgicos), para otras moléculas pequeñas (aminas biogénicas, quimiocinas, prostanoides, neuropéptidos, canabinoides y opioides), para la dopamina, la serotonina, la acetilcolina (muscarínicos, odorivectores, péptidos, tales como la bradicinina, la angiotensina, la somatostatina y hormonas glicoprotéicas como la FSH, la LH, y la TSH, que en total suman más de 670 miembros en el ser humano (2). Los receptores de la clase B comprenden aproximadamente 25 miembros, que incluyen a la familia de las hormonas peptídicas gastrointestinales tales como la secretina, el glucagón, el péptido intestinal vasoactivo (VIP), además, la hormona liberadora de la hormona del crecimiento (ghrelina), la hormona liberadora de la cortico-tropina, la calcitonina y la hormona paratiroidea. La familia C es la más pequeña e incluye a la familia del receptor metabotrópico del glutamato, el receptor tipo B del GABA, el receptor sensor del calcio, así como algunos receptores del gusto (3-6).

En lo que se refiere a las proteínas G, tanto la subunidad α como el dímero $\beta\gamma$ tienen, indepen-

TABLA 1
CLASIFICACIÓN DE LAS PROTEÍNAS G

Clase G α	Proteínas Efectoras Asociadas	Efectos	Ejemplos de receptores
Estimuladoras de la adenilil ciclasa $G\alpha_s$, $G\alpha_{(1-4)}$, $G\alpha_{olf}$	Adenilil ciclasa Canal de calcio Cinasa de tiro-sina c-Src	Aumento de AMPc Incremento de la $[Ca^{2+}]_i$	Adrenalina (β_2 , β_3 , etc), glucagón (GLP-1), vasopresina (V_2), odorivectores
Inhibidoras de la adenilil ciclasa $G\alpha_i$, $G\alpha_{(1-3)}$, $G\alpha_{2'}$, $G\alpha_o$	Adenilil ciclasa, Canal de K^+	Disminución de AMPc Cambios en el potencial de membrana	Adrenalina (α_1), acetilcolina (M_2, M_4), serotonina (5-HT $_1$), glutamato (mGluR $_{2-4}$, mGluR $_6$), orexinas, ghrelina, aminas traza (octopamina, tiramina), GABA (GABA $_b$)
Estimuladoras de la Fosfolipasa C $G\alpha_q$, $G\alpha_{11}$, $G\alpha_{14-16}$	Fosfolipasa C β	Aumento de IP_3 , DAG	Adrenalina (α_2), acetilcolina (M_1 , M_3 , M_5), serotonina (5-HT $_2$, 5-HT $_{4-7}$), glutamato (mGluR $_1$, mGluR $_5$)
$G\alpha_{12}$, $G\alpha_{13}$	LARGE RhoGEF y otras proteínas GEF, ERK5	Vías de señalización por proteínas Rho. Aumento del antiportador Na^+/H^+ . Transcripción de genes y regulación del crecimiento celular. Efectos oncogénicos y de proliferación celular	Angiotensina (AT $_1$), trombina, esfingosina-1-fosfato (S1P $_2$, S1P $_3$), ácido lisofosfatídico (LPA), serotonina (5-HT $_4$), Tromboxano A $_2$
Estimuladoras de la Fosfodiesterasa de GMPC $G\alpha_t$ (transducina) $G\alpha_{gust}$ (gustducina)	fosfodiesterasa de GMPC	Disminución de GMPC	Fotones (rodopsina de células fotorreceptoras) Sabores amargo y dulce en neuronas de papilas gustativas

SIGNIFICADO DE LAS ABREVIATURAS

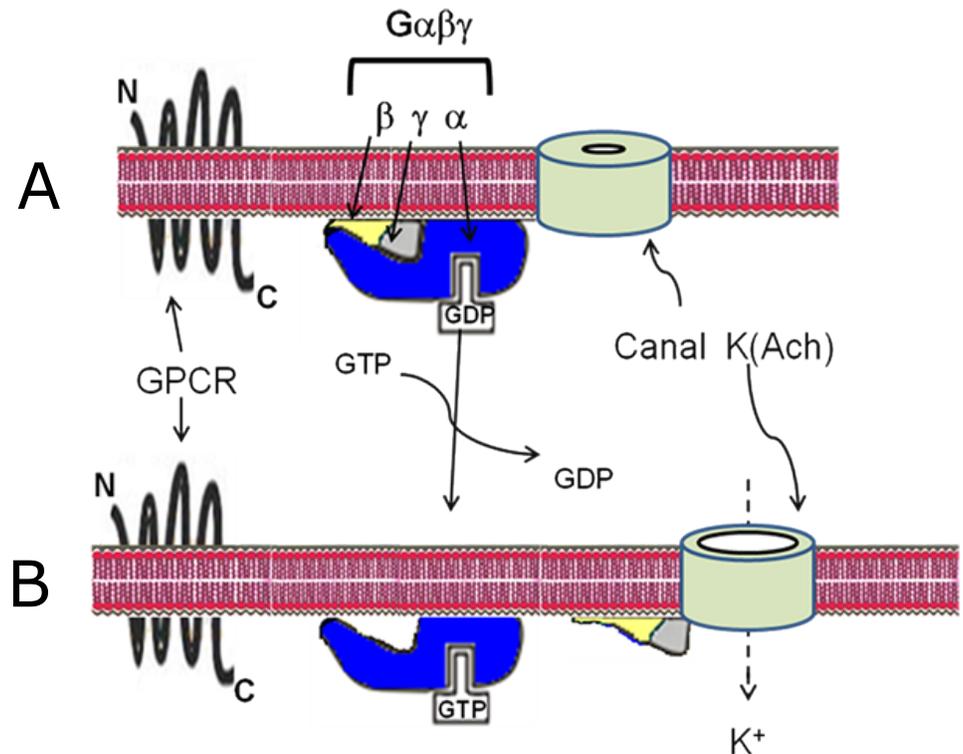
GIRK (rectificadores entrantes acoplados a proteínas G), **GRKs** (cinasa de receptor asociado a proteínas G). **c-Src** (proteína citoplasmática con actividad de cinasa de residuos de tirosina, y catalogada como proto-oncogen, su nombre deriva de la abreviatura en inglés de Sarcoma, Src, y de su origen celular

en contraposición del derivado del virus del sarcoma), **VOCC** (canales de calcio operados por voltaje), **LARGE** (factor Rho de intercambio de nucleótidos de guanina, asociado a leucemia), **ERK5** (cinasa 5 regulada por señales extracelulares), **RhoGEF** (factor Rho de intercambio de nucleótidos de guanina).

TABLA 2
CLASIFICACIÓN DE LAS PROTEÍNAS G

Clase G $\beta\gamma$	Proteínas efectoras asociadas	Efectos	Ejemplos de receptores
$G\beta\gamma$	Kir3.1-3.4(K(Ach) o GIRK GRKs, Adenilil ciclasa, isoformas I y II Fosfolipasa C (isoformas β_1 a β_3), Fosfatidil inositol-3 cinasa (PI $_3$ K, isoforma γ), VOCC	Cambios en el potencial de membrana Aumento de AMPc, Aumento de IP_3 , DAG	Acetilcolina (M_2), Histamina (H_3R)

Figura 1. Ilustración gráfica del mecanismo delimitado a la membrana. A: Cuando el ligando no está unido a su receptor, el canal no es afectado por las subunidades $\beta\gamma$ de la proteína G. B: Cuando el ligando se une a su receptor (en el presente caso acetilcolina y receptor M_2), las subunidades $\beta\gamma$ de la proteína G llegan al canal mediante un mecanismo delimitado a la membrana. Figura modificada de Tedford y Zamponi, 2006 (29).



dientemente, la capacidad de activar o inhibir la formación de diferentes efectores, lo que indica la gran complejidad en las vías de señalización (7-9). En general, las proteínas G heterotriméricas se han agrupado en subfamilias teniendo en cuenta la subunidad α o la $\beta\gamma$, que se definen de acuerdo al tipo de actividad, como se presenta en las Tablas 1 y 2.

LA ACETILCOLINA PUEDE INICIAR LA ACTIVACIÓN DE LAS PROTEÍNAS G MEDIANTE RECEPTORES MUSCARÍNICOS

La acetilcolina es uno de los más abundantes neurotransmisores en el sistema nervioso central y periférico, y el primero en haber sido identificado como una sustancia con funciones de neurotransmisor. Este descubrimiento, realizado por Otto Loewi, le mereció el Premio Nobel de Fisiología o Medicina en 1936. La acetilcolina es sintetizada a partir de colina y acetil-CoA mediante la enzima colina acetiltransferasa, la primera derivada del metabolismo de la fosfatidilcolina y/o por la metilación de la etanolamina. Los receptores a la acetilcolina son los nicotínicos (ionotrópicos) y los muscarínicos (GPCR metabotrópicos). En el músculo esquelético de las personas adultas, la acetilcolina se une a la subunidad alfa del canal nicotínico, que son dos de las cinco subunidades que forman el poro de este canal. A las otras tres se les denomina subunidades beta. Por otra parte, en células de músculo cardíaco y liso, la acetilcolina se une a proteínas

7M, que no funcionan como canales, sino que son miembros típicos de la superfamilia GPCR clase A. Se conocen cinco subtipos de estos receptores muscarínicos, denominados M_1 a M_5 . Los M_2 y M_4 muestran selectividad por la familia G_i , mientras que los M_1 , M_3 y M_5 , por la G_q (10).

Uno de los mecanismos fisiológicos de la acetilcolina es la regulación de la frecuencia cardíaca, mediante la movilización delimitada a la cara interna de la membrana plasmática del dímero $\beta\gamma$ de la proteína G. Este dímero, realiza la transducción de la unión específica del ligando con su receptor en el plano de la membrana, gracias a su proximidad con el canal iónico o con las enzimas unidas a la membrana plasmática. Esto lo puede realizar porque su subunidad γ se mantiene unida a la cara interna de la membrana (11). También, el dímero $\beta\gamma$ de la proteína G puede activar enzimas como la adenilil ciclasa y las fosfolipasas, que generan segundos mensajeros difusibles, que a su vez activan a las cinasas respectivas, con el fin de lograr la fosforilación de los canales iónicos y así modular su función.

CÉLULAS MARCAPASO, RECEPTORES Y PROTEÍNAS G

A diferencia de la adrenalina, que puede circular libremente en el torrente sanguíneo, la acetilcolina no lo puede hacer debido a que existen colinesterasas tanto séricas como del espacio sináptico, que la degradan. El nervio vago inerva al corazón y a muchos otros órganos, siendo uno de los com-

ponentes principales de la división parasimpática del sistema nervioso autónomo. La acetilcolina liberada de las terminaciones nerviosas se une a receptores específicos que se encuentran en la membrana de las células del corazón que forman parte del mecanismo generador del ritmo cardíaco, llamadas células marcapaso. También la noradrenalina, liberada por neuronas de la división simpática, se une a receptores específicos sobre las células marcapaso del corazón, pero con efectos opuestos a los de la acetilcolina.

Las células marcapaso del corazón se definen así porque son las células que presentan la mayor frecuencia de despolarización en este órgano. Esto da inicio a los potenciales de acción, los cuales se propagan a las células adyacentes, induciendo en forma coordinada las contracciones de los músculos de las paredes de las cavidades del corazón. La frecuencia a la que se activan las células marcapaso y la fuerza de la contracción pueden ser moduladas por señales químicas, neurotransmisores u hormonas, que llegan a receptores GPCR en la membrana celular. Estos receptores atraviesan siete veces la membrana plasmática, con su extremo N-terminal fuera de la célula y su extremo C-terminal en el interior de ésta (Fig. 1). Cuando el neurotransmisor se une al receptor, para que la unión sea de alta afinidad, el receptor tiene que estar al mismo tiempo unido a una proteína G, la cual inicia alguna de las vías de señalización intracelular (12). El ligando, una vez habiendo dejada activada la cascada de señalización intracelular mediada por los componentes de la proteína G, se puede separar del receptor con el fin de activar a otros receptores. Una de las características de la proteína G es que puede encontrarse anclada a la superficie intracelular de la membrana plasmática, lo cual le permite mantenerse cerca tanto del receptor como de las proteínas efectoras que se encuentran integradas a la membrana plasmática. Si la proteína G no está en ese instante unida al receptor, entonces la unión del ligando con este receptor es de baja afinidad, y esta unión de baja afinidad no puede iniciar alguna cascada de señalización intracelular, precisamente porque la proteína G no estaría haciendo contacto con el receptor en ese momento.

PARTICIPACIÓN DE LAS PROTEÍNAS G HETEROTRIMÉRICAS TANTO EN MECANISMOS QUE REQUIEREN DE LA FOSFORILACIÓN COMO EN MECANISMOS QUE NO LA REQUIEREN

Las proteínas G tienen tres subunidades ($G\alpha$, $G\beta$ y $G\gamma$). En la subunidad $G\alpha$ reside la actividad de GTPasa. Los otros dos componentes forman el dí-

mero $\beta\gamma$ de la proteína G ($G\beta\gamma$), que lleva a cabo - entre otras - un tipo de señalización que, por el hecho de no ser mediada por un segundo mensajero difusible, en el sentido de que pueda desprenderse de la membrana, se le denomina señalización "delimitada a la membrana" y no requiere fosforilación. En esta forma libre, este dímero $G\beta\gamma$ se desplaza un corto trayecto anclado a la superficie intracelular de la membrana plasmática para unirse a un canal iónico determinado. Es importante mencionar que este sitio en donde se une el dímero $G\beta\gamma$ al canal iónico, puede ser fosforilado por un mecanismo en paralelo. Este doble mecanismo determina que en los canales iónicos pueda ocurrir un antagonismo de la modulación de la apertura del canal debido a una competencia entre la acción que ejercen directamente las subunidades $G\beta\gamma$ y la acción fisiológica de la fosforilación (13).

EL RECEPTOR MUSCARÍNICO PUEDE ACTIVAR MENSAJEROS DIFUSIBLES Y UN MECANISMO DELIMITADO A LA MEMBRANA

Al receptor GPCR para la acetilcolina expresado en el corazón se le ha clasificado dentro de la familia de receptores metabotrópicos colinérgicos muscarínicos, debido a que la muscarina es su agonista específico. La atropina es considerada como su antagonista más común. Los receptores muscarínicos clasificados como M_2 se han encontrado en todo tipo de células cardíacas (12). Dos acciones muscarínicas de la acetilcolina en el corazón han sido estudiadas con mucho interés: la disminución de una corriente de Ca^{2+} sensible al voltaje, y la apertura de un canal de K^+ rectificador entrante. El primer mecanismo correspondiente a la reducción de la corriente de Ca^{2+} es mediado por un mecanismo que utiliza un segundo mensajero difusible, es decir que no está delimitado a la membrana plasmática, y que por lo tanto puede moverse dentro del citoplasma de la célula. En cambio, el segundo mecanismo, el correspondiente a la apertura del canal de K^+ , es debido a un mecanismo delimitado a la membrana. El primero requiere fosforilación del canal de Ca^{2+} , en cambio en el segundo no se requiere que el canal de K^+ sea fosforilado.

REDUCCIÓN DE LA CORRIENTE DE CALCIO POR LA ACETILCOLINA MEDIANTE ACTIVACIÓN DE CINASAS

La acetilcolina puede disminuir la corriente de Ca^{2+} tipo L en las células del corazón, pero solamente si previamente esta corriente ha sido aumentada mediante la acción de los agonistas adrenérgicos sobre el receptor adrenérgico β (14,15).

Los principales receptores adrenérgicos funcionales son el α_1 , el α_2 y los β . En general podemos decir que, por una parte, los receptores adrenérgicos α_1 incrementan transitoriamente la concentración intracelular de Ca^{2+} , de diacilglicerol (DAG) y de trifosfato de inositol (IP_3), que son los segundos mensajeros de esta vía de señalización intracelular (16). Esto se logra por la activación temporal de la fosfolipasa C (PLC), que convierte a determinados fosfoinosítidos de la membrana en DAG e IP_3 . Este último abre un canal iónico liberador de Ca^{2+} , denominado receptor de la ryanodina, que está localizado en el retículo sarcoplásmico. Tanto el Ca^{2+} como el DAG activan a la proteína cinasa C (PKC) que fosforila distintas proteínas, entre las que se encuentran los canales iónicos.

Por otra parte, tenemos una vía de señalización distinta, que es la del AMP-cíclico (AMPC). Los receptores adrenérgicos β , mediante una proteína Gs, activan a la adenilil ciclasa, que es la enzima que tiene como sustrato al ATP para convertirlo en el AMPC, con lo cual se incrementa la concentración de este mensajero intracelular. El AMPC activa a la proteína cinasa A (PKA). Esta acción de los receptores adrenérgicos β puede ser antagonizada tanto por los receptores adrenérgicos α_2 como por los receptores colinérgicos muscarínicos M_2 . Este mecanismo inhibitorio se realiza mediante una proteína Gi y que por lo tanto, disminuye la concentración intracelular del AMPC. Estas bajas concentraciones de AMPC reducen la actividad de la PKA dependiente de este mensajero, con lo cual se reduce la fosforilación y el estado abierto de los canales de Ca^{2+} . Los receptores α_2 y M_2 también incrementan la apertura de canales de K^+ , lo cual complementa la acción inhibitoria sobre los canales de Ca^{2+} , produciendo así una disminución de la actividad celular. Junto con estas vías de señalizaciones lentas, tenemos además a la rápida, que es el mecanismo delimitado a la membrana, y que no requiere fosforilación. En resumen, podemos decir que la activación del receptor α_1 incrementa la concentración de Ca^{2+} intracelular, a diferencia del receptor β que incrementa el AMPC. Esta activación β que aumenta el AMPC, se ve contrarrestada tanto por los receptores α_2 como por los receptores M_2 , que lo disminuyen. Y a esto se añade que tanto el receptor α_2 como el receptor M_2 pueden activar el mecanismo delimitado a la membrana (12).

Puesto que el efecto de la acetilcolina está mediado por una disminución de la formación de AMPC, la acetilcolina no tiene efecto cuando el aumento de la corriente de Ca^{2+} es inducido por la aplicación intracelular del AMPC o de la subunidad catalítica de la PKA, la cual fosforila al canal de Ca^{2+} . Por el contrario, si disminuye la concentra-

ción intracelular del AMPC, también disminuirá la activación de la PKA, lo cual a su vez hará que se pierda la fosforilación del canal, y en esta forma la corriente de Ca^{2+} se reduce a los niveles previos a la estimulación adrenérgica β . El resultado es una reducción de la entrada de Ca^{2+} durante cada contracción del corazón, lo cual hace que la fuerza de la contracción se vea debilitada (17,18).

CORRIENTES DE POTASIO QUE RALENTIZAN LA FRECUENCIA CARDIACA ACTIVADAS POR ACETILCOLINA MEDIANTE UN MECANISMO QUE NO REQUIERE DE LA FOSFORILACIÓN DEL CANAL IÓNICO

A diferencia de los canales de Na^+ o de Ca^{2+} , que al abrirse despolarizan a la célula, la apertura de los canales de K^+ la mantienen polarizada o, incluso pueden inducir un estado de hiperpolarización. Todas las células tienen una polaridad eléctrica transmembranal, a la cual se le ha llamado potencial de membrana en reposo, y su valor se puede calcular mediante la ecuación de Nernst si se conocen los valores de las concentraciones de K^+ que se encuentran fuera y dentro de la célula, y se asume que en reposo la membrana es selectivamente permeable al ion K^+ . La polaridad eléctrica de la célula se mantiene mientras estén abiertos los canales de K^+ , y esta condición tiene que ser contrarrestada en las células marcapaso. A las células con actividad eléctrica espontánea rítmica se les llama marcapaso, y se caracterizan por tener un potencial de membrana que disminuye espontáneamente hasta el nivel denominado umbral en el que se desencadena el potencial de acción. Se conoce como potencial umbral al valor que hace que se abran los canales cuya apertura depende del voltaje. Las células marcapaso del nodo sinusal no tienen canales de Na^+ , y su potencial de acción se genera al activarse las compuertas sensibles al voltaje de los canales de Ca^{2+} . Para que se active la corriente despolarizante de Ca^{2+} se requiere que esté ausente o disminuida la corriente polarizante de K^+ . Cuando se termina el potencial de acción, la polaridad de la célula recupera la condición inicial (repolarización) gracias a la apertura de los canales de K^+ , y empieza un nuevo ciclo al ocurrir nuevamente la despolarización espontánea que se denomina potencial marcapaso.

Con la estimulación del nervio vago, la membrana de la célula marcapaso se hiperpolariza debido a un aumento en la conductancia al K^+ . Esto hace que la despolarización marcapaso se haga más lenta. El efecto de la activación vagal puede ser de dos tipos, lento o rápido. Lento, porque la activación de los receptores M_2 disminuye la concentración de

AMPC intracelular. Rápido, porque las subunidades $G\beta\gamma$ ejercen un efecto directo sobre un canal de K^+ presente en las células marcapaso del corazón. Estos canales de K^+ fueron inicialmente llamados canales $K(Ach)$ por los fisiólogos (19,20), pero actualmente también son llamados canales GIRK (rectificadores entrantes acoplados a proteínas G) o canales $Kir3$ (12). En las células marcapaso del corazón la apertura del canal $K(Ach)$ es uno de los factores que contribuyen a disminuir la frecuencia cardíaca. Por el contrario, la estimulación de los nervios simpáticos cardiacos determina que el potencial de membrana disminuya con más rapidez (despolarización) y se generen los potenciales de acción con una mayor frecuencia, lo cual se debe a la activación de los receptores adrenérgicos α_1 que incrementan la PLC, y a los receptores adrenérgicos β que, al aumentar el AMPc facilitan la apertura de los canales de Ca^{2+} (17,18).

DILUCIDANDO EL MECANISMO DELIMITADO A LA MEMBRANA

En los experimentos electrofisiológicos de fijación de voltaje en micro-áreas de membrana celular (en inglés llamados de "patch-clamp"), se le suele llamar "parche" al área de membrana que queda atrapada y aislada debajo de la punta de la micropipeta de registro. Este parche contiene unos cuantos canales iónicos rodeados por el círculo que forma el borde pulido de la punta de la micropipeta. Bajo estas condiciones, cuando se agrega acetilcolina a la solución que baña a la célula, la acetilcolina no puede entrar en contacto con la membrana del parche, y no se observan cambios en los canales del parche. Pero, cuando la acetilcolina es añadida a la solución contenida en el interior de la pipeta, la cual está en contacto con la membrana atrapada en el interior del parche, entonces se presenta activación de corrientes iónicas por la apertura de los canales. Esto delimita la localización del receptor dentro de la membrana del parche.

Aquí es notable el hallazgo de que la respuesta no es tan rápida como en los receptores ionotrópicos, en los cuales el receptor y el poro del canal corresponden a la misma proteína. Así que se trata de un receptor formado por una proteína diferente de la que forma el canal, pero con una vía de comunicación próxima, rápida y asociada a la membrana, que no requiere fosforilación, pero sí de la proteína G, porque el dímero $G\beta\gamma$ no puede atravesar el círculo formado por el borde pulido de la micropipeta adherido a la membrana. Solamente si pudiera salirse de la membrana podría atravesar ese obstáculo (Fig. 2).

En estas condiciones cuando el agonista, el re-

ceptor y el canal iónico están dentro de la pipeta puede haber respuesta. Por eso se requiere que el agonista sea colocado dentro de la pipeta, para que sea posible la comunicación entre el receptor y el canal mediante las subunidades $\beta\gamma$ de la proteína G que se mueven ancladas al lado intracelular de la membrana.

Lo importante en este experimento es comprender que el dímero $G\beta\gamma$, al tener que desplazarse anclado a la membrana, no puede traspasar el obstáculo circular constituido por la protuberancia que forma el borde de la pipeta al unirse con la membrana. El borde de la pipeta, formado por un vidrio que es un líquido de alta viscosidad, se fusiona con la membrana, que también es un líquido pero más fluido, estableciendo un sello de alta resistencia eléctrica, el cual es indispensable para poder realizar este tipo de registros electrofisiológicos.

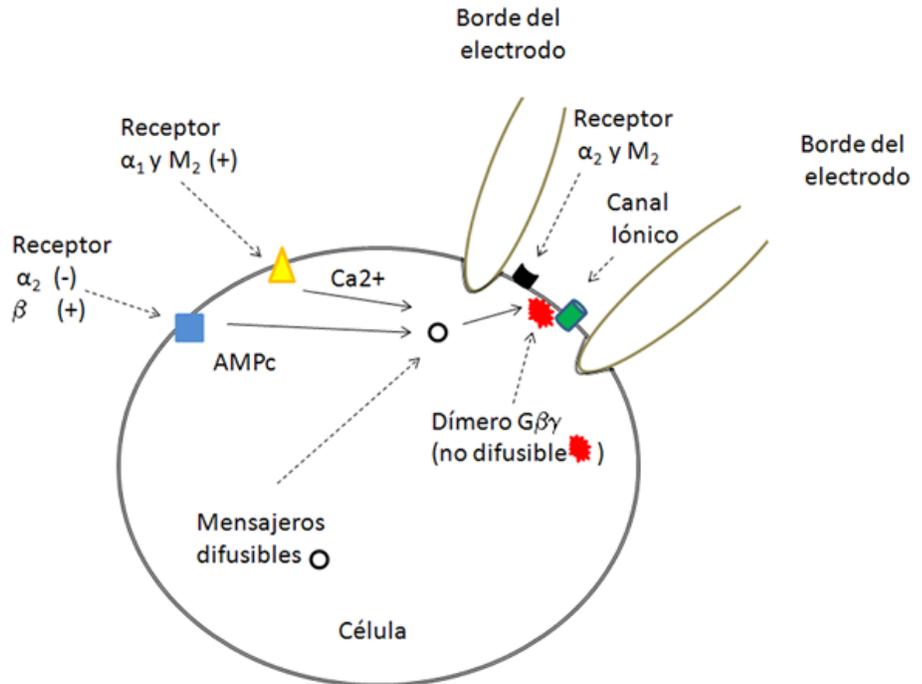
La cercanía del receptor molecular con el canal iónico y una porción de la membrana plasmática sin obstáculos es la condición óptima para que la proteína G, cuya acción principal es la de llevar a cabo la transducción de la señal, pueda contactar fácilmente a la proteína blanco (canal iónico) y ejercer su acción (21).

¿QUÉ TAN RÁPIDA ES LA RESPUESTA DE LAS CÉLULAS MARCAPASO A LA ACETILCOLINA?

Tan rápida que puede modular la frecuencia cardíaca mediante la velocidad de los movimientos de la ventilación pulmonar. La arritmia sinusal del corazón debida a los movimientos respiratorios es un fenómeno normal que se debe a las fluctuaciones en la señal parasimpática que llega al corazón. Durante la inspiración, los impulsos del nervio vago provenientes de los receptores de estiramiento de los pulmones inhiben al área inhibidora cardíaca del bulbo raquídeo. Al reducirse la descarga tónica del nervio vago que mantiene la frecuencia cardíaca baja, se eleva la frecuencia cardíaca durante cada movimiento respiratorio.

Este efecto del nervio vago, y por lo tanto de la acetilcolina, es una de las respuestas más rápidas observadas en receptores acoplados a proteínas G. También tiene una reversibilidad rápida, de 300 ms, después de que la acetilcolina es removida. Esto difiere notablemente de la respuesta clásica de los receptores metabotrópicos que se conocen como de respuesta lenta. En éstos, el efecto se instala con lentitud y al quitar el estímulo el efecto se desvanece lentamente. También difiere de la respuesta casi inmediata de los receptores ionotrópicos. Un ejemplo de éstos son los receptores nicotínicos, que se encuentran en la membrana de

Figura 1. Ilustración que compara al mecanismo delimitado a la membrana con el mecanismo que utiliza un segundo mensajero difusible. El borde circular del electrodo de vidrio pulido forma un sello de alta resistencia con la membrana, que aísla a los componentes que quedan dentro. Cuando el neurotransmisor se aplica en la solución que está dentro de la pipeta se observa respuesta por la vía delimitada a la membrana, pero esto no sucede si el agonista es aplicado en el baño. Esto último solamente puede generar una respuesta muy lenta que depende de la activación de cinasas y de la fosforilación.



la placa neuromuscular y responden a la acetilcolina liberada por parte de las neuronas motoras del sistema somático voluntario. En los receptores ionotrópicos, el receptor es un canal, de tal forma que la comunicación es más rápida que la de los receptores metabotrópicos acoplados a proteínas G. Uno de los primeros argumentos esgrimidos para descartar que esta acción de modulación local no sea igual a la de los canales ionotrópicos es que la latencia de respuesta no es tan breve. En el caso del mecanismo delimitado a la membrana, la comunicación entre el receptor y el canal se realiza mediante las subunidades $G\beta\gamma$ (12).

HERRAMIENTAS Y ESTRATEGIAS UTILIZADAS PARA LA DETERMINACIÓN DE LA VÍA DELIMITADA A LA MEMBRANA QUE LLEVA LA SEÑAL

Se han desarrollado sustancias análogas al GTP, excepto que no se hidrolizan y por lo tanto, no puede darse la conversión a GDP (22,23). La GTPasa de la subunidad $G\alpha$ no tiene efectos sobre estas sustancias equivalentes al GTP. Uno de estos análogos no hidrolizables es el $GTP\gamma S$. Cuando se aplica intracelularmente este compuesto, el canal de potasio $K(Ach)$ se mantiene abierto. Esto sucede a la par de otros efectos, porque permanecen activas las vías de señalización intracelular. Cuando se utiliza el $GTP\gamma S$, la subunidad $G\alpha$ queda unida a éste en forma permanente. Como consecuencia de esto tenemos que las subunidades $G\beta\gamma$, por su parte, conservan su estado de unión con el canal

iónico. El que esta segunda unión sea igualmente permanente es consecuencia de la primera. Mientras la subunidad $G\alpha$ se mantenga unida al GTP, las otras subunidades que corresponden al dímero $G\beta\gamma$, permanecerán sin elementos que puedan separarlas del canal iónico.

Por otra parte, se han obtenido resultados que confirman la presencia de las proteínas G con experimentos en los que, una vez establecido el sello arriba descrito, se retira la micro-pipeta de la célula. Queda aislada una micro-área de membrana, el mencionado parche, la cual permanece unida al círculo que hace el borde pulido de la punta de la micro-pipeta, con su lado interno expuesto a la solución de perfusión. En esta configuración es posible abrir los canales $K(Ach)$ sin aplicar el agonista muscarínico o el GTP, sino solamente aplicando a la cara interna de la membrana una solución que contenga las subunidades $G\beta\gamma$.

La aseveración de que se requiere una proteína G para la activación del canal $K(Ach)$ quedó confirmada cuando en líneas celulares en las que se expresan canales $K(Ach)$ clonados, es posible mantener a estos canales constitutivamente abiertos si, en estas células, se expresan conjuntamente (coexpresión) las subunidades $\beta\gamma$ de la proteína G. La activación de los canales $K(Ach)$ fue el primer hallazgo de señalización delimitada a la membrana mediada por las subunidades $G\beta\gamma$. Actualmente se han descrito otros procesos en los cuales participan las señales delimitadas a la membrana (24-28).

CONCLUSIÓN

Las células reaccionan a una gran cantidad de estímulos extracelulares a través de proteínas receptoras específicas que se localizan tanto en la membrana plasmática como en el interior de la célula. Entre estos estímulos se encuentran las hormonas, los neurotransmisores, los factores de crecimiento, la luz, los olores, los sabores, etc. La interacción de estos estímulos o ligandos con sus receptores genera la activación ordenada de proteínas efectoras y/o la modulación de genes específicos que, finalmente, inducen una determinada respuesta celular, conocida como vía de transducción de señales. Existen múltiples vías de transducción de señales, que involucran procesos bioquímicos de recepción y transferencia de mensajes, desde exterior hasta el interior de la célula, algunas de las cuales pueden ser mediados por los receptores acoplados a proteínas G (GPCRs). Los GPCRs son proteínas transmembranales que comparten el dominio intracitoplásmico de unión a una proteína G, pero en contraste, muestran una gran heterogeneidad en la porción extracelular que realiza la unión de ligando. Las proteínas G heterotriméricas ($\alpha\beta\gamma$), al ser activadas por el GPCR se

disocian en el dímero $G\beta\gamma$ y la subunidad $G\alpha$, las cuales, dependiendo de las isoformas de las subunidades $\alpha\beta\gamma$, pueden actuar independientemente sobre una gran variedad de efectores tales como la adenilil ciclasa, las fosfodiesterasas, la fosfolipasa C o los canales iónicos, entre otros. El efecto del dímero $G\beta\gamma$ puede ser independiente, antagonista o sinérgico al efecto de $G\alpha$.

Con relación a la modulación de la actividad marcapaso de las células cardíacas por la activación de los receptores muscarínicos, se ha demostrado que la acetilcolina se une al receptor muscarínico M_2 . Esta unión ligando-receptor activa una proteína G de la cual se disocia el dímero $G\beta\gamma$. Este dímero se mantiene anclado a la cara interna de la membrana plasmática, ejerciendo una acción rápida, directa, delimitada a la membrana y que no requiere fosforilación sobre los canales de K^+ . Estos canales $K(Ach)$, hacen más lenta la despolarización de la célula marcapaso e inducen la disminución de la frecuencia cardíaca. Tales mecanismos delimitados a la membrana, no sólo pueden abrir en forma rápida a los canales de K^+ tipo $K(Ach)$, sino que también pueden ejercer acciones sobre otros procesos fisiológicos. 

REFERENCIAS

1. Xiao X, Wang P, Chou KC (2009) GPCR-CA: A Cellular Automaton Image Approach for Predicting G-Protein-Coupled Receptor Functional Classes. *J Comput Chem* 30:1414-1423.
2. Wess J, Han SJ, Kim SK, Jacobson KA, Li JH (2008) Conformational changes involved in G-protein-coupled-receptor activation. *Trends Pharmacol Sci* 29:616-625.
3. Pierce KL, Premont RT, Lefkowitz RJ (2002) Seven-transmembrane receptors. *Nat Rev Mol Cell Biol* 3:639-650.
4. Strader CD, Fong TM, Graziano MP, Tota MR (1995) The family of G-protein-coupled receptors. *FASEB J* 9:745-754.
5. Ulloa-Aguirre A, Stanislaus D, Janovick JA, Conn PM (1999) Structure-activity relationships of G protein-coupled receptors. *Arch Med Res* 30:420-435.
6. Eglén RM, Bosse R, Reisine T (2007) Emerging Concepts of Guanine Nucleotide-Binding Protein-Coupled Receptor (GPCR) Function and Implications for High Throughput Screening. *Assay Drug Dev Technol* 5:425-451.
7. Rangel-Serrano A (1999) Función y propiedades bioquímicas de las proteínas G. *BEB* 18:53-59.
8. Suzuki N, Hajicek N, Kozasa T (2009) Regulation and Physiological Functions of G12/13-Mediated Signaling Pathways. *Neurosignals* 17: 55-70.
9. Herroeder S, Reichardt P, Sassmann A, Zimmermann B, Jaeneke D, Hoeckner J, Hollmann MW, Fischer KD, Vogt S, Grosse R, Hogg N, Gunzer M, Offermanns S, Wettschureck N. (2009) Guanine nucleotide-binding proteins of the G12 family shape immune functions by controlling CD4+ T cell adhesiveness and motility. *Immunity* 30:708-20.

10. Wess J (2004) Muscarinic acetylcholine receptor knockout mice: novel phenotypes and clinical implications. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 44:423-450.
11. Simonds WF, Butrynski JE, Gautam N, Unson CG, Spiegel AM (1991) G-protein beta gamma dimers. Membrane targeting requires subunit coexpression and intact gamma C-A-A-X domain. *J Biol Chem* 266:5363-5366.
12. Hille B (2001) *Ion Channels of Excitable Membranes*. Sinauer Associates, Sunderland, MA, USA.
13. Díaz-Cardenas AF, Arenas I, García DE (2008) PMA counteracts G protein actions on Ca(V)2.2 channels in rat sympathetic neurons. *Arch Biochem Biophys* 473:1-7.
14. Giles W, Noble SJ (1976) Changes in membrane currents in bullfrog atrium produced by acetylcholine. *J Physiol* 261:103-123.
15. Hescheler J, Kameyama M, Trautwein W (1986) On the mechanism of muscarinic inhibition of the cardiac Ca current. *Pflügers Arch* 407:182-189.
16. Siegel GJ, Albers RW, Brady S, Price DL (2006) *Basic Neurochemistry. Molecular, Cellular, and Medical Aspects*. Elsevier, 7a. Edition, Philadelphia EUA.
17. Hartzell HC (1988) Regulation of cardiac ion channels by catecholamines, acetylcholine, and second Messenger systems. *Prog Biophys Molec Biol* 52:165-247.
18. Yatani A, Brown AM (1989) Rapid beta-Adrenergic modulation of cardiac calcium channel currents by a fast G protein pathway. *Science* 245:71-74.
19. Trautwein W, Dudel J (1958) Zum Mechanismus der Membranwirkung des Acetylcholin an der Herzmuskelfaser. *Pflügers Arch* 266:324-334.
20. Sakmann B, Noma A, Trautwein W (1983) Acetylcholine activation of single muscarinic K⁺ channels in isolated pacemaker cells of the mammalian heart. *Nature* 303:250-253.
21. Zhou XB, Lutz S, Utku E, Sausbier U, Ruth P, Wieland T, Korth M (2008) M₂ muscarinic receptors induce airway smooth muscle activation via a dual Gβγ-mediated inhibition of large conductance Ca²⁺-activated K⁺ channel activity. *J Biol Chem* 238:21036-21044.
22. Breitwieser GE, Szabo G (1985) Uncoupling of cardiac muscarinic and beta-adrenergic receptors from ion channels by guanine nucleotide analogue. *Nature* 317:538-540.
23. Breitwieser GE, Szabo G (1988) Mechanism of muscarinic receptor-induced K⁺ channel activation as revealed by hydrolysis-resistant GTP analogues. *J Gen Physiol* 91:469-493.
24. Soejima M, Noma A (1984) Mode of regulation of the ACh-sensitive K-channel by the muscarinic receptor in rabbit atrial cells. *Pflügers Arch* 400:424-431.
25. Logothetis DE, Kurachi Y, Galper J, Neer EJ, Clapham DE (1987) The beta gamma subunits of GTP-binding proteins activate the muscarinic K⁺ channel in heart. *Nature* 325:321-326.
26. Reuveny E, Slesinger PA, Inglese J, Morales JM, Iniguez-Lluhi JA, Lefkowitz RJ, Bourne HR, Jan YN, Jan LY (1994) Activation of the cloned muscarinic potassium channel by G protein beta gamma subunits. *Nature* 370:143-146.
27. Morrey C, Estephan R, Abbott GW, Levi R (2008) Cardioprotective Effect of Histamine H3-Receptor Activation: Pivotal Role of G-Dependent Inhibition of Voltage-Operated Ca²⁺ Channels. *JPET* 326:871-878.
28. Hu C, Depuy SD, Yao J, McIntire WE, Barrett PQ (2009) Protein kinase A activity controls the regulation of T-type CaV3.2 channels by Gbetagamma dimmers. *J Biol Chem* 284:7465-7473.
29. Tedford HW, Zamponi GW (2006) Direct G protein modulation of Cav2 calcium channels. *Pharmacol Rev* 58:837-862.

CITOCROMO P450 BIOMARCADOR DE EXPOSICIÓN TERAPEÚTICO-TOXICOLÓGICO -CARCINOGENICO*

Elda Maria del Rocio Coutiño Rodríguez¹, Antonio Purata², Pedro Hernández Cruz³

¹Laboratorio de Ecología y Salud, Instituto de Salud Pública Universidad Veracruzana. Correo E: ecoutino@uv.mx

²Facultad de Biología Universidad Veracruzana

³Centro de Investigaciones en Ciencias Médicas y Biológicas Facultad de Medicina UABJO Oaxaca Méx. C.P 68020

RESUMEN

Los organismos durante la evolución han desarrollado una serie de mecanismos para la defensa a compuestos químicos extraños, principalmente de naturaleza lipofílica o apolar que acceden al organismo, conocidos como xenobióticos. Entre ellos se encuentra el sistema metabolizante del Citocromo P450 (CYP450), encargado de convertirlos en moléculas más polares para ser eliminados por los fluidos corporales, como la orina. El CYP450 es el principal responsable del metabolismo oxidativo de xenobióticos, comprende una gran familia de hemoproteínas presentes en numerosas especies, de las que ya se han identificado más de 2000 isoformas. Todos los CYP450 se nombran siguiendo un criterio común, en función de la similitud en su secuencia del ácido desoxirribonucleico.

Las oxidaciones catalizadas por el CYP450 son reacciones de monooxigenación, dependientes del dinucleótido de nicotina y adenina reducido (NADPH) y el oxígeno molecular, mecanismo utilizado por los organismos, para el metabolismo endógeno de moléculas esteroideogénicas. Sin embargo, su importancia radica en acelerar la eliminación de gran número de fármacos y compuestos tóxicos, no obstante, también son las responsables de la activación de toxinas y/o precarcinógenos y posiblemente de la respuesta inmune.

De este modo, el estudio del polimorfismo de la familia de CYP450 puede resultar una herramienta muy útil como marcador, no sólo terapéutico sino citotóxico y carcinogénico, con relación a la exposición de compuestos dañinos para el ser humano, como plaguicidas, aditivos y fármacos, entre otros.

ABSTRACT

Living organisms during evolution, have developed a number of mechanisms to contend against foreign chemical compounds of lipophilic or apolar nature. That enters to the body known as xenobiotics. Among them is the metabolizing system cytochrome P450 (CYP450), which is the responsible to convert such compounds into more polar molecules in order to be removed by body fluids including urine. CYP450 is primarily responsible for the oxidative metabolism of xenobiotics, comprises a large family of hemoproteins present in many species of which have been already identified more than 2000 isoforms. All CYP450 were named following a common criterion, based on the similarity in their sequence to deoxy ribonucleic acid (DNA).

The oxidations catalyzed by CYP450 are NADPH and O₂-dependent reactions of monooxygenation, a mechanism used by organisms to metabolize of endogenous steroid molecules, but its importance lies in accelerating the removal of large number of drugs and toxic compounds, however, they are also responsible of the activation of toxins and / or precarcinogens and possibly, of the immune response, too.

Thus, the study of CYP450 family polymorphism can be a very useful marker not only in therapeutics, but in cytotoxic and carcinogenic studies, in relation to exposure of compounds that we consider harmful to humans, such as pesticides, additives, drugs, among others.

PALABRAS

CLAVE:

Mecanismos de defensa química, xenobióticos, biomarcadores, polimorfismo genético.

KEY WORDS:

Chemistry defense mechanisms, biomarkers, xenobiotics and genetic polymorphism.

INTRODUCCIÓN

A lo largo del tiempo, los organismos han estado expuestos a un número creciente de retos, que resolverían de acuerdo a su constitución genética, adaptabilidad y evolución, permitiéndoles desarrollar sistemas de defensa. El más conocido en la medicina es el sistema inmunitario, que protege de microorganismos causantes de enfermedades; sin embargo, existe otro menos conocido e igualmente importante, el de defensa a las sustancias químicas extrañas que, a través del sistema enzimático del citocromo P450 (CYP450) se encarga de eliminar y neutralizar aquellos compuestos químicos que acceden al organismo y no forman parte de la composición habitual de éstos, conocidos como xenobióticos; algunos de ellos son de origen natural, destacando las micotoxinas y los alcaloides, pero la mayoría de éstos son compuestos sintéticos, productos del desarrollo de la industria química. En las últimas décadas se ha incrementado de forma excepcional el número de compuestos, con ello el correspondiente aumento del riesgo de contacto con los mismos, se estima que el número de xenobióticos o compuestos extraños que existen en el planeta es alrededor de los millones (1). Estimaciones elevan a varios miles el número de moléculas nuevas introducidas cada año y agrandan la larga lista de xenobióticos, entre ellos los fármacos, a los cuales la mayoría de los seres vivos se enfrentan y muchas veces genéticamente no están preparados, de aquí que la farmacogenética -término acuñado en 1950 por Fredich Vogel- está cobrando gran auge pues es la disciplina que se encarga de estudiar los desordenes concernientes a la respuesta del individuo a los fármacos, fenómeno conocido como idiosincrasia y actualmente como RAM (por sus siglas en inglés) a la respuesta aguda a medicamentos o la forma inusual de responder a ellos; que a diferencia de los errores congénitos del metabolismo, no se manifiestan desde el nacimiento y quizás nunca se presenten en la vida a menos que el individuo se exponga a la droga, la cual precipitará la respuesta idiosincrática por el carácter inducible que caracteriza a este sistema de defensa químico estudiado desde los años 60's. (1, 2). La respuesta modular en las acciones farmacológicas y/o toxicológicas de los individuos a los distintos xenobióticos o fármacos a los que se exponen, se deben, en gran parte, al polimorfismo genético; no obstante, los factores ambientales juegan un papel muy importante en la respuesta. Por otra parte, Doll y Peto 1981, estimaron que un gran número de casos de cánceres son atribuibles a sustancias químicas, extrañas a los seres vivos, donde los mecanismos

de defensa química, parecen facilitar o inhibir su actividad carcinogénica (3, 4).

Los mecanismos de defensa química a los xenobióticos han evolucionado, con la finalidad de permitirles a los organismos adaptarse y sobrevivir a diferentes *hábitats*, con disponibilidades dietarias muy diversas. De tal manera que, los organismos han desarrollado sistemas metabólicos complejos, capaces de acelerar su eliminación, debido a que la mayoría de éstos son de naturaleza liposoluble, es decir, poseen baja solubilidad en agua, lo que les impide ser eliminados por los fluidos corporales, orina, bilis, sudor, lágrimas; por ello la finalidad de los sistemas metabolizantes es transformarlos a compuestos más polares, utilizando una serie de enzimas fuera del metabolismo energético o intermediario del organismo, de entre las que destacan las enzimas de la familia de los CYP450. Se estima que el complejo de CYP450 es una superfamilia de más de 40 enzimas, presentes en la evolución desde hace un billón de años, encontrándose en todos los reinos biológicos incluyendo las bacterias (1, 5).

A este proceso, donde sustancias ajenas al organismo son modificadas por el complejo enzimático del CYP450, se le conoce como biotransformación, el cual convierte un fármaco o una molécula xenobiótica ambiental, en un metabolito altamente polar, no obstante en la mayoría de las veces estos metabolitos son altamente reactivos con alta afinidad para unirse, covalentemente al ADN, formando aductos (6), a proteínas alterando su función, causando modificaciones en su actividad o en la expresión genética, que conducen al cáncer, entre otras enfermedades crónico degenerativas (1, 4). Las reacciones de biotransformación del sistema de CYP450, son del tipo de monooxigenasas (7), se han caracterizado más de 150 isoformas diferentes y constituyen una superfamilia genética, por su baja especificidad, son capaces de actuar sobre numerosos xenobióticos. Por lo que acceden generalmente a nuestro organismo mediante la ingestión, inhalación, vía parental o piel. Entre estos compuestos se incluyen fármacos, cosméticos, pesticidas, aditivos alimentarios, productos de uso doméstico (desinfectantes), derivados de la combustión de carburantes, residuos procedentes de la industria química, entre otros.

Una característica significativa del CYP450 es su inducibilidad por el propio sustrato, en este caso el xenobiótico, es decir, su actividad sólo se pone de manifiesto después de que el organismo estuvo en contacto con el compuesto externo. Las primeras alusiones en este sentido se remontan a los años 50 y 60, al observar que pacientes que eran tratados con ciertos fármacos desarrollaban una

tolerancia al mismo (8). Este hecho fue constatado en estudios con animales de experimentación y se comprobó la existencia de tipos o grupos de inductores que actuaban de forma selectiva sobre estas enzimas, cuya inducción opera a nivel génico, incrementando la síntesis de RNA mensajero responsable de la síntesis de proteínas de la superfamilia de los CYP450.

El sistema metabolizante (CYP450) no es exclusivo para las reacciones de biotransformación de xenobióticos, participa también en el metabolismo de sustratos endógenos de naturaleza lipídica, de gran importancia biológica ya que algunos actúan como mediadores hormonales, como el colesterol, ácidos biliares, feromonas, aminos biogénicas, leucotrienos, hormonas esteroidales, ácido retínoico, ácidos grasos y metabolitos de plantas; en cuyo metabolismo participan diferentes miembros de la familia CYP450 que se localizan en la mitocondria y su deficiencia genética es incompatible con la vida, por participar en la integridad y regulación celular (5, 9, 10), mientras que los miembros de la familia de CYP450 que participan en el metabolismo de xenobióticos, se localizan en el retículo endoplásmico de varias células, principalmente en el hígado y su deficiencia genética no es incompatible con la vida, sólo cuando el organismo se exponga a éste y su efecto tóxico dependerá de las dosis.

La familia enzimática de CYP450 puede inducir o inhibir la actividad toxicológica de compuestos al producirse una reacción de combinación entre compuestos, propios o ajenos al organismo (7, 11-13). Esta propiedad ha sido de gran utilidad en la industria farmacológica, para la creación de medicamentos que tengan una mayor efectividad ya sea por ser más fácilmente eliminados o que tengan un tiempo más largo de duración. Sin embargo, en la creación de nuevos fármacos debe considerarse el metabolismo esteroideogénico, dado que se ha visto la inducibilidad del CYP450 2E1 en personas obesas, diabéticos con un control inadecuado de la glucosa y en las dietas con exceso de grasa que afectan la respuesta terapéutica (1, 14), es decir, conocer el sinergismo o antagonismo de la familia de CYP450 con los sustratos normales o esteroideogénicos y los sustratos extraños o xenobióticos (Tablas 1 y 2). La mayoría de los compuestos químicos (fármacos, plaguicidas, hidrocarburos policíclicos) se comportan como sustratos para las enzimas del CYP450, actuando algunos como inductores y/o como inhibidores para algunas familias (Tabla 2). De tal manera que un compuesto inductor, aumentará la actividad del sistema enzimático y por tanto la velocidad de formación de metabolitos, si se trata de un fármaco se reducirá su concentración,

lo que produce una pérdida del efecto terapéutico. Por el contrario, si la sustancia que interactúa se comporta como inhibidor, se reduce la actividad enzimática y disminuye la velocidad de formación de metabolitos, como consecuencia de ello se producirá un aumento de la concentración del fármaco, lo que no sólo aumentará la duración de éste, sino también su toxicidad.

Por consiguiente, la mayor o menor acción del complejo enzimático CYP450 tendrá como consecuencia que las sustancias exógenas que lleguen a la célula, resulten inocuas o tengan un efecto tóxico o un efecto benéfico y eficaz (15, 16). De aquí la importancia de conocer el polimorfismo genético de esta familia de enzimas, ya que de ello dependerá la habilidad de metabolizar drogas en diversos grados, debido a las diferencias en la capacidad y función enzimática programadas genéticamente (5, 16).

Los miembros de la superfamilia de enzimas del CYP450, se encuentran en bacterias, plantas y en casi todas las especies animales. En los humanos es muy abundante en el hígado, por ser éste no solo el sitio del metabolismo, sino el filtro de la mayoría de sustancias extrañas, que entran en el organismo (2), resultando ser un blanco idóneo para compuestos cancerígenos, al igual que el pulmón para aquellas sustancias que entran por vía de inhalación (humo del tabaco), y los riñones por ser el órgano donde se filtran y eliminan la mayoría de los compuestos químicos.

Los CYP450 se utilizan como marcadores moleculares de alta sensibilidad para evaluar perturbaciones ambientales en los organismos, en especial se le ha considerado como un indicador de la exposición a contaminantes dentro del organismo. Algunos autores mencionan su especial utilidad como marcadores toxicológicos, incluso a nivel comunidad para el análisis de contaminantes, como lo menciona García E. en su estudio a comunidades de coral del caribe (17).

Actualmente, los estudios de polimorfismo genético de la familia de CYP450 también son utilizados, para la creación de tratamientos farmacológicos personalizados (18), ya que no sólo la tolerancia está relacionada a estas enzimas sino que la deficiencia de éstas, está involucrada con procesos de toxicidad y acumulación, por tanto el compuesto resulta ser tóxico, pero si se metaboliza muy rápido será tolerado sin presentar el efecto deseado.

CYP450

El CYP450, en 1958 se identificó como un pigmento celular, reducido y unido a membrana, con un pico de absorción inusual a los 450 nm, que le debió su

TABLA 1

Familias de CYP450 identificadas en humano y sus principales funciones (9, 12)

Familia CYP450	Número de Subfamilias	Isoenzima	Función
CYP1	2(A,B)	1A1,1A2 1B1	Metabolismo xenobióticos
CYP 2	13 (A,B,C,D,E,F, G,J,R,S,T,U,W)	2A6, 2A7, 2A13, 2B6, 2C8, 2C9,2C18, 2C19,2D6,2E1,2F1,2J2, 2R1, 2S1,2U1, 2W1	Metabolismo esteroides y xenobióticos
CYP 3	1	3A4, 3A5, 3A7 y 3A43	Metabolismo de xenobióticos
CYP4	6 (A,B,F,V,X,Z)	4A20, 4A22, 4 A11 4 B1 4 F2 4 F3 4 F8 4 F11, 4F12, 4F22 4V2, 4X1 y 4Z1	4A11,4B1,4F2,4F3 y 4F8 participan en: Metabolismo de ácidos grasos α y β hidroxilación, Metabolismo de ácidos araquidónico, Síntesis de 12R-HETE), Metabolismo de ácidos araquidónico (20-HETE), Leucotrienos (LTB 4) y prostaglandinas (19R hidroxilación), respectivamente.
CYP 5	1	5A1	Metabolismo ácido araquidónico (Actividad de Sintetasa del Tromboxano A2)
CYP 7	2(A,B)	7A 7 B	Biosíntesis de ácidos biliares Síntesis de Neuroesteroides
CYP 8	2(A,B)	8 A 8 B	Ácido araquidónico (prostaciclina sintasa) Biosíntesis de ácidos biliares (12 α hidroxilasa)
CYP 11	2(A,B)	11A1 11B1 11B2	Biosíntesis de esteroides (colesterol a pregnenolona) Síntesis de cortisol (11- β hidroxilación de 11 desoxicortisol) Síntesis de aldosterona (18 hidroxilación de corticosterona)
CYP17	1	1	Biosíntesis de esteroides, testosterona y estrógenos (12 α hidroxilasa)
CYP19	1	1	Biosíntesis de esteroides (actividad aromatasa)
CYP20	1	1	¿?
CYP21	1	1	Biosíntesis de esteroides y cortisol (C21 esteroides sintetasa)
CYP 24	1		Catabolismo de la vitamina D
CYP 26	3(A,B,C)	26A 1 26B 1 26C 1	Metabolismo del ácido retinoico (trans hidroxilasa) Posible papel metabolismo ácido retinoico Posible papel metabolismo ácido retinoico
CYP 27	3(A,B,C)	27A 1 27B 1 27 C 1	Biosíntesis de ácidos biliares (esterol 27 hidrolasa) Activación de la vitamina D ₃ (1 α hidroxilación) ¿?
CYP 39	1	39	Metabolismo del colesterol24 (24 hidroxicoolesterol 7 hidroxilasa)
CYP 46	1	46	Metabolismo del colesterol (24 colesterol hidroxilasa)
CYP 51	1	51	Metabolismo del colesterol (lanosterol 14- α desmetilasa)

TABLA 2

Principales subfamilias de CYP450 en Humanos y sustratos in vivo o in vitro sobre los que actúan inductores e inhibidores específicos. Modificada de (2,3,4,9,33)

CYP450 Subfamilia	Sustratos (en negrita la actividad enzimática característica de la familia) y cursiva inductor	Inhibidores
1A	<ul style="list-style-type: none"> Hidrocarburos aromáticos policíclicos (metil colantreno) Cafeína, teofilina, haloperidol, triptilina, Amitriptilina y latacrine, clomopramina, mirtazapina, olanzapina, clozapina, paracetamol, propranolol 7-etoxiresorufina <p>Inductores: Nicotina, Omeprazol, fenobarbital, primidona, rifampicina, metilcolantreno, repollo, brocoli, coliflor y carne asada</p>	<ul style="list-style-type: none"> Furafillina 7-8-benzoflavona Metoxsalem Fluvoxamina Ciprofloxacino
1B	<ul style="list-style-type: none"> Algunos hidrocarburos aromáticos policíclicos 17 beta-estradiol 	
2A	<ul style="list-style-type: none"> Metilnitrosamino-1-(3-piridil)-1-butanona (NNK), nitrosamina encontrada en el tabaco, nicotina Cumarina (7-hidroxilación) <p>Inductores: Barbitúricos y antiépilépticos</p>	<ul style="list-style-type: none"> Dietilditiocarbamato Metoxsalem 8-metoxipsoraleno Lexotol, Pilocarpina Tranilcipromina
2B	<ul style="list-style-type: none"> 4-hidroxilación de ciclofosfamida, 7-bencil-oxiresorufina S-Mefenitoína (N-demetilación) ciertos barbitúricos, 7-etoxi-4-trifluorometilcumarina (7EFC) <p>Inductores: Pesticidas, fenobarbital, rifampicina, nevirapina, efavirenz</p>	<ul style="list-style-type: none"> Fluoxetina Sertralina Cimetidina Tiotepa
2C	<ul style="list-style-type: none"> S-Mefenitoína, omeprazol, proguanil, ciertos barbitúricos, diazepam (valium), propanodol, imiprimina, ibupreno, naproxeno, propranolol, ciertos herbicidas Fenitionina, drogas anti-inflamatorias como el ibuprofeno, warfarina, tolbutamida Taxol, ácido retinoico 2C19-Mefenitoína (4-hidroxilación) 2C8, Tolbutamida (hidroxilación) (sustrato de toda la familia 2C) <p>Inductores : Fenitoína, ritonavir, carbamacepina, rifampicina, predinisona</p>	<ul style="list-style-type: none"> 2C8, Sulfafenazol Retinovar, Isoniacida 2C9/2C19 Sulfafenazol Metronidazol Ketoconazol Fucozanol, Fluvoxamina Dietilditiocarbamato
2D	<ul style="list-style-type: none"> Antihipertensivos: Debrisoquina Beta-bloqueantes: metoprolol, propanodol, bufuralol, carvedilol Antidepresivos: nortriplina, desipramina, clomipramina, imipramina Neurolépticos: tioridacina, perfenazina, trifluoperidol, clozapina Opiáceos: dimetilación de codeína a morfina Antiarrítmicos: Lidocaina flecaína Clorpromazina, dextrometorfan, encinide, haloperidol, nortriptilina, timolol, verapamilo 2D6 Bufuralol (1-hidroxilación), clozapina, paroxetina, fluoxetina, tamoxifen, bupropion, risperidona, amitriptilina, clomipramina, venlafaxina, metoprolol, vincristina Carvedilol, lidocaina, flecaína, metoclopramida, codeína, tramadol Dextrometorfan (O-demetilación) Sustratos endógenos (catecol- o-metil transferasa) y 21 hidroxilación de esteroides <p>Inductores : Dexametasona, rifampicina</p>	<ul style="list-style-type: none"> Quinidina, Ranitidina Paroxetina Fluoxetina Venlafaxina Clomipramina Haloperidol Sertralina Cimetidina Difenidramina Cocaína, Mirtazapina Amitriptilina Nefazodona Clorpeomazina
2E	<ul style="list-style-type: none"> Tetracloruro de carbono, benceno, cloroformo, estireno, anilina Acetaminofén Etilenol, N nitrosaminas las activa a mutágenos y carcinógenos Etanol, acetona, halotano paracetamol, clorzoxazona, enflurano, acetol, clormetilazol, dietilester Clorzoxazona (6-hidroxilación) <p>Inductores : Acetona, etanol, piridina, isoniazida, isopropanol, pirazol</p>	<ul style="list-style-type: none"> Dietilditiocarbamato Disulfiram Isotiocianatos Dihidrocoasaicina Clormetilazol
3A	<ul style="list-style-type: none"> Diazepam (Sustrato de toda la familia 3A) Flunitrazepam Dextrometorfan (N-demetilación) Nifedipina oxidación 60% de drogas usadas clinicamente como eritromicina, nifedipina, lidocaina, ciclosporina, 17a-etnilestradiol, tamoxifeno, lovastatina, dapsona, testosterona, cortisol, eritromicina, lidocaina, warfarina, cocaína, dapsona, metrotrexato, imipramina, ácido valproico, diltiazem, nifedipina, tacrolimus, amiodarona, carbamazepina, cisaprida, ciclosporina, lidocaina, verapamilo y vincristina entre otros Mismo patrón de sustratos que CYP3A4 Forma fetal; metaboliza sustratos del CYP3A4 <p>Inductores : Carbamazepina, fenitoína, prednisona, dexametasona, rifabutina, fenobarbital, primidona, rifampicina, estress crónico, hierba de san juan y glucocorticoides</p>	<ul style="list-style-type: none"> Troleandomicina Ketoconazol Fluvoxamina Ciprofloxacina Claritromicina Cimetidina Diltiazem Alcohol Eritromicina Fluoxetina
4A	<ul style="list-style-type: none"> Ácidos grasos, clofibrato (droga hipolipidémica) 	

en el metabolismo de xenobióticos o moléculas exógenas entre ellos los fármacos o medicamentos (5, 15), mientras que las familias 5, 7, 11, 17, 19, 21 y 27 del CYP450 participan, principalmente en el metabolismo de moléculas endógenas de naturaleza liposoluble (Tabla 1). No obstante, ambas familias pueden participar en ambos metabolismos (Tablas 1 y 2). Particularmente, es el caso del CYP450 2E1, éste está comprometido en el metabolismo oxidativo de medicamentos, procarcinógenos y protoxinas, y es inducible por consumo de grasas y además muestra una correlación positiva en pacientes diabéticos tipo 1 con un pobre control metabólico, lo que podría servir como un biomarcador para un buen control metabólico en personas con diabetes mellitus (14).

En el hombre, los citocromos de mayor relevancia en la farmacogenética son los siguientes, el CYP450 3A4, isoforma responsable de la oxidación metabólica de más del 50% de los fármacos de uso clínico (7), los CYP450 2C y 2D que participan en el metabolismo de antidepresivos, opiáceos, neurolépticos etc. (Tabla 2), y el CYP450 2 que participa tanto en el metabolismo de esteroides como de xenobióticos y es el que presenta mayor cantidad de subfamilias, en algunos miembros de esta familia, como 2J2, 2T, 2V y 2W hasta el momento, no se ha demostrado que participen en el metabolismo de xenobióticos (8).

Por otra parte, como los miembros del CYP participan en el metabolismo de esteroides, éstos resultan ser los responsables de la respuesta diferenciada a nivel de sexo, a fármacos y a xenobióticos, por el hecho que la hidroxilación de hormonas ocurre por estos mecanismos enzimáticos, de tal manera que en las mujeres están inducibles, lo cual las hace responder de manera diferente a fármacos dependiendo de sus características inductoras o inhibidoras.

El control de la regulación en la inducción de la superfamilia de citocromos es a través de receptores nucleares. Para la familia CYP450 1, con dos subfamilias y 3 genes 1A1, 1A2, 1B1, el control transcripcional de la expresión de la enzima es común y vía receptor nuclear aril hidrocarburo (AhR) (8).

La superfamilia CYP450 2, incluye 20 subfamilias, no comparten vías comunes de regulación en su inducción, y participan distintos receptores nucleares como el: receptor activo constitutivo (CAR), AhR, receptor X pregnano (PXR) y el del ácido retinoico (RXR) (8).

CYP450 3 en el hombre contiene, sólo una familia con cuatro genes (3A4, 3A5, 3A7 y 3A43). De los cuales el 3A4 y 3A7, están regulados por el receptor nuclear PXR mientras que el 3A5 por el receptor para glucocorticoides.

Por ello, el estudio de la inducción e inhibición de CYP450 por moléculas xenobióticas y endógenas es de gran trascendencia, no sólo en investigaciones de farmacología, farmacogenética sino toxicología ambiental, ya que algunos compuestos actúan como inductores en alguna de la familia de CYP450 y en otras como inhibidores, tal es el caso del alcohol y la cocaína, por consiguiente, tendrán repercusiones adversas en algunos tratamientos médicos. Además, algunas presentaciones de los fármacos vienen en forma inactiva, y para su biodisponibilidad requieren metabolizarse, en cambio otros vienen activos y durante su metabolización se inactivan, lo que hace más complejo la terapia personalizada.

Polimorfismos genéticos de algunas familias de CYP450

Los polimorfismos comprenden cambios en la secuencia de nucleótidos dentro de los genes, modificando la expresión de éstos; los más estudiados son aquellos que involucran: cambios en un sólo nucleótido (SNP); duplicaciones de nucleótidos que alargan la secuencia simple (SSLP) y la pérdida o ganancia de nucleótidos, por delección y/o inserción de éstos.

Los polimorfismos más identificados en torno a las enzimas de la familia de CYP450 son las relacionadas a la carcinogénesis ambiental y los involucrados en la respuesta aguda a medicamentos (RAM). Están involucrados con el grado de la actividad enzimática, clasificándolos como metabolizadores: ultrarrápidos (UM), rápidos o extensivos (EM), intermedios (IM), lentos (PM) (5).

Cabe señalar que en muchos de los casos en los tratamientos neurológicos y psiquiátricos, las RAM, están más asociadas a la inducibilidad de las enzimas, por xenobióticos -incrementan la actividad hasta 400 veces-, que a las propias deficiencias genéticas (8).

CYP450 1A1 se encuentra en todos los tejidos, pulmones, linfocitos, glándulas mamarias, placenta entre otros, constituye la mayor fracción del CYP450 extrahepático, codifica para la enzima aril hidroxilasa, lo que contribuye a la toxicidad de carcinógenos. En este gen se ha descrito un polimorfismo para cáncer de pulmón. El CYP450 1A1 activa a las nitrosaminas, aflatoxinas y principalmente, arilaminas, generando compuestos que se unen al ADN. Esta familia se induce por el humo de tabaco, carne carbonizada, dioxinas, rafamicina y el omeprazol; localizado en el cromosoma 15.

CYP450 1A2 se encuentra exclusivamente en el hígado, comprende del 10 al 15% de toda la actividad de CYP hepático, está ligeramente aumentado en hombres, su gen está localizado en el *cromosoma 15*, presenta polimorfismo genético ya que los asiáticos son PM de metilxantinas (cafeína) y los caucásicos son EM. Se induce por hidrocarburos policíclicos, compuestos indólicos, algunos fármacos (fenitoína, omeprazol), siendo el humo del tabaco el inductor más activo en esta familia de CYP450. Existen 6 variantes alélicas del gene CYP450 1A2 correlacionadas con los aumentos y disminuciones en los niveles de inducción por el hábito de fumar (15). Se ha detectado que si un individuo deja de fumar drásticamente y mantiene las dosis de fármacos puede sufrir intoxicaciones. Metaboliza drogas como clozapina, teofilina y tacrina entre otras.

CYP450 1B1 constituye una fracción importante extrahepática con expresión en casi todos los tejidos (riñón, pulmón, próstata, glándula mamaria, ovarios). Cataliza el metabolismo de hidrocarburos policíclicos y arilaminas, su sobreexpresión está asociada con algunos tumores (15).

CYP450 2A1, en esta familia el CYP450 2A6 es el polimorfismo más interesante; constituye el 4% del total de CYP450 en el hígado, también se ha detectado en mucosa nasal de adultos y fetal, el polimorfismo genético se basa en el papel que desempeña en el metabolismo de la nicotina, relacionándose con el comportamiento en el hábito de fumar. Las deleciones en el gen se han asociado con la reducción en el riesgo de desarrollar cáncer de pulmón. Los genes de esta familia, se localizan en el *cromosoma 19* (22) y se induce con fenobarbital, la rifampicina y otros fármacos antiepilépticos.

CYP450 2B6 representa del 1 al 2% en el hígado, entre sus sustratos se encuentra el 6- aminocriseno, metoxicloro y la ciclofosfamida. Los genes se localizan igualmente en el *cromosoma 19* y también se inducen por fenobarbital y la rifampicina.

CYP450 2C, en el hombre la familia 2C está integrada por cuatro genes CYP2C8, 2C9, 2C18, 2C19, siendo el 2C9 el más abundante, constituye aproximadamente el 20% del total de contenido de CYP450 en el hígado aunque también se ha localizado en el intestino. Las subfamilias más abundantes son el 2C9, y 2C19, y todos los genes de estas subfamilias se localizan en el *cromosoma 10*. La rifampicina es el inductor más potente en esta familia de CYP450.

CYP450 2C9, en donde - 2C8, 2C9 y 2C10 - son muy similares, se agrupan como 2C9, no presentan diferencias clínicas entre ellos; los genes se encuentran junto con los del CYP450 2C19 y constituyen el 20% de actividad en el hígado. Hay polimorfismo genético ya que 2% de los japoneses y de 6 a 9% de los caucásicos son PM, sus sustratos son los antiinflamatorios no esteroideos incluyendo los inhibidores de las ciclooxigenasas.

CYP450 2C19 representa 20% de la actividad de CYP450 en el hígado, presenta polimorfismo genético, se han descrito 7 alelos la mayoría con fenotipos de PM, en 2 a 6% en caucásicos 15 a 20% en japoneses y de 10 a 20% en africanos.

CYP450 2C18 aparentemente no se expresa en hígado, se desconoce su actividad funcional y las implicaciones fenotípicas de las formas polimórficas identificadas hasta el momento.

CYP450 2D, en el hombre solo se ha identificado la familia 2D6, constituye de 1.5% a 2% del total de enzimas de CYP450 del hígado, su gen está localizado en el *cromosoma 22*, su actividad no cambia con la edad aunque es ligeramente menor en mujeres. También se expresa en duodeno, riñón y cerebro. Tiene más de 100 alelos polimórficos y existen menos de 30 alelos deficientes en actividad enzimática, de los cuales 95 a 99% constituyen fenotipos PM donde 14% de los caucásicos tienen alelos defectuosos autosómicos recesivos. Se ha especulado que pueden tener mayor riesgo para la enfermedad del Parkinson, contraer cáncer de hígado o de pulmón (8, 15). Se conocen pocos inductores en el hígado (desametaxona, rimfampicina y la mirtazapina) (23). No obstante, datos recientes en ratas indican la inducción por el tabaco, de esta familia en el cerebro, quizás el modelo para el estudio de esta familia sea el cerebro. El impacto clínico del polimorfismo genético esta asociado a la respuesta terapéutica de los: antiarrítmicos, antidepresivos tricíclicos, neurolépticos entre otros (Tabla 2). Opiáceos como la codeína son metabolizados a morfina, a través de una O demetilación por el CYP450 2D6. De tal manera que la codeína puede traer consecuencias distintas administrada en metabolizadores lentos y ultrarápidos (25).

Cabe mencionar que esta familia de CYP450 2D tiene que ver con enzimas como metil transferasas, al igual que los CYP1A1 y 1B1 involucrados en la conversión de estrógenos a catecol estrogénicos por la catecol metil transferasas (COMT) por lo que su inducción debe de estar más controlada (24), al igual que en el caso de las acetil transferasas CYP450 1A (25), ambas transferasas regulan la

expresión de genes y podrían favorecer la inestabilidad génica y por consiguiente, ser la causa de cáncer, y/o de las malformaciones congénitas.

En el *Homo sapiens* la expresión CYP450 1A1 y la acetilación están relacionados con carcinogénesis ambiental (1). Igualmente, se ha reportado una asociación entre los polimorfismos de la catecol metil transferasa y la carcinogénesis esporádica de prostata (24).

CYP450 2E1 es uno de los CYP450 más importante en el metabolismo de cancerígenos y solventes orgánicos (31) constituye 5% al 10% de la actividad de CYP450 en hígado, también se ha detectado en intestino, leucocitos, riñón intestino. Los genes de esta familia se localizan en el cromosoma 10, los inductores más potentes son: el alcohol, la ingesta en grasa y la isoniacida, pero también se modula por ciertos estados fisiopatológicos tales como diabetes, obesidad, ayuno y disfunción hepática, por el hecho que esta familia se induce también con cetoácidos y cetonas por lo que personas obesas y diabéticas, al igual que los fenilcetonúricos podrían ser susceptibles a compuestos como los solventes orgánicos, N-nitrosaminas, fármacos o medicamentos (Tabla 2) y además los predispondría también al cáncer y a las malformaciones genéticas.

El resto de las subfamilias pertenecientes a CYP2 incluyen enzimas extrahepáticas de muy baja expresión, entre ellos se encuentran los CYP450 2J2 y 2F1 que metabolizan moléculas endógenas y xenobióticas, respectivamente.

CYP450 3, en el hombre esta familia contiene una única subfamilia con cuatro genes CYP450 3A4, 3A5, 3A7 y 3A43, siendo el más abundante 3A4 y corresponde al 30% del total de enzimas del hígado, participa en el metabolismo de infinidad de drogas (Tabla 2), también se localizan en el tracto gastrointestinal, y en la pared del intestino, la subfamilia 3A5 es la menos abundante en el hígado, se localiza principalmente en pulmón, riñón, colon, esófago y glándula pituitaria. La subfamilia 3A7 se encuentra en el útero, y en el hígado fetal; los genes de esta familia se localizan en el cromosoma 7. Su actividad es 20% mayor en mujeres, lo mismo que en niños y jóvenes. Contrariamente al CYP450 2E1, el alcohol es uno de sus inhibidores, lo que traería repercusiones fatales en coadministraciones por interacciones medicamentosas, tal es el caso de tratamientos antifúngicos azólicos inhibidores del CYP450 3A4 con su sustrato la cisaprina utilizada para la dispepsia ulcerosa (8).

METABOLISMO DE XENOBIÓTICOS

Las enzimas que metabolizan compuestos xenobióticos se han clasificado históricamente en dos categorías: Fase I y II. Las de fase I, tienen una misión metabolizadora que corresponde a la superfamilia de CYP450 y las de fase II, conocida como fase de verdadera detoxificación, que tienen la misión de conjuguar los productos del metabolismo o los sustratos, directamente con otros compuestos polares para su rápida eliminación en orina.

El metabolismo de fase I, siempre va actuar dentro de la célula acompañado de las enzimas de fase II, encargadas de la conjugación de algunos compuestos tóxicos *per se* o activos que se generaron en la fase I, con moléculas polares. En la fase II, en el proceso de conjugación participan enzimas de tipo transferasa, encargadas de transferirles grupos como: glutatión, aminoácidos, acetatos, sulfatos, azúcares. De ahí su nombre: glutatión S transferasa (GST), acetil transferasa (AT) sulfotransferasas (ST), Glutatión metil transferasa (GMST1), UDP-glucuronil transferasas, UDP glucosil transferasas y N acil transferasas, las de mayor impacto en el proceso de detoxificación. Las primeras igualmente han sido utilizadas como marcadores biológicos de exposición ambiental y como factor de riesgo en la predisposición al cáncer de próstata, gástrico, (26, 30, 32) entre otros. La GST es una enzima de una familia multigénica, algunos de los genes se localizan en el cromosoma 22 y otros en el 11 y está asociada con estrés oxidativo y carcinogénesis ambiental (30).

En la mayoría de los xenobióticos, una vez adentro, (Fig. 2) primeramente actúan las enzimas de fase I, los metabolitos generados o las propias moléculas no metabolizadas actuarán sobre su diana, o podrán resultar tóxicos y mutagénicos para la célula, dada su reactividad de unirse covalentemente a proteínas y ácidos nucleicos o por una perturbación en el ciclo celular provocada por el estrés oxidativo, de la fase I, posteriormente actuarán las enzimas de la fase II. Por tanto, se ha detectado que existe una expresión diferencial de los genes de las enzimas de la fase I y fase II, ya que algunas sustancias van a actuar como inductoras (agonistas) o represoras (antagonistas) de los genes que codifican para las enzimas de fase I y II, permitiéndoles regular su propio metabolismo (10).

De tal modo, el que una droga, carcinógeno o agente terapéutico resulte inocuo para la célula, va a depender de varios factores entre ellos los ambientales asociados al polimorfismo genético de las fases I y II, a saber:

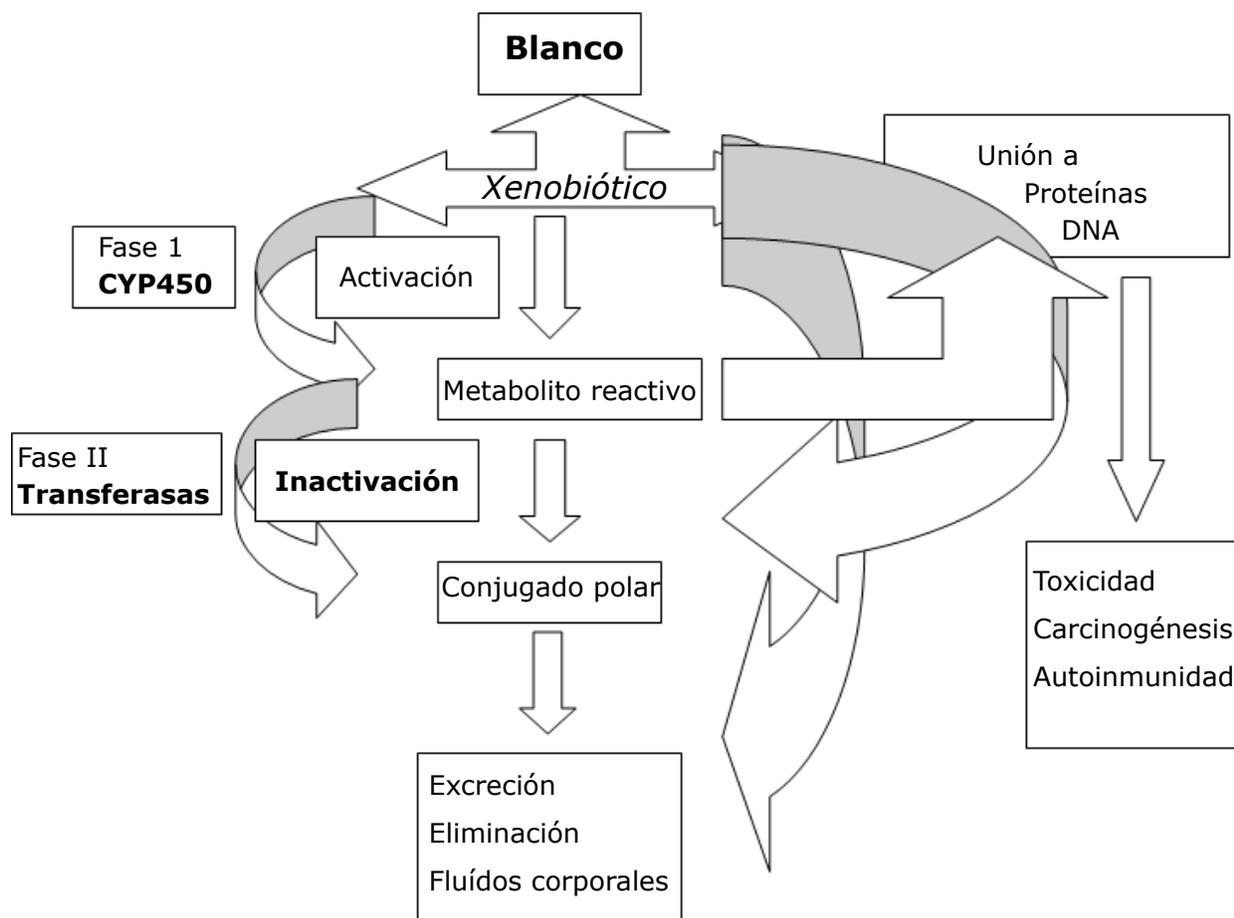


Figura 2. Reacciones de activación o inactivación mediadas por enzimas de la Fase I CYP450 y la Fase II de conjugación a grupos polares por transferasas.

1. Cantidad formada de sustratos intermedios
2. Estabilidad química de éstos
3. Cercanía de las enzimas de fase II, es decir, aquellas enzimas capaces de formar conjugados con el metabolito, que facilitan su excreción evitando los efectos adversos.

Por otra parte, la actividad tóxica o carcinogénica de los compuestos químicos dependerá no sólo del polimorfismo genético de la fase I y fase II, sino en gran medida de la exposición a los factores ambientales que las regulen.

A este respecto hay evidencias acerca de las interacciones genéticas de GSTM1 y los polimorfismos de los CYP450 y las interacciones genético-ambientales (humo de cigarro, alcoholismo etc.) con la relación y susceptibilidad a diferentes tipos de cáncer (26-29). Cabe mencionar que los polimorfismos en la GST, como deleciones, mutaciones (GSTM1) y deficiencias han demostrado ser buenos marcadores genéticos en varios tipos de cáncer (30), mostrando una correlación positiva entre genotipos únicos y combinados de CYP450 1A1 y GSTM1 en el cáncer de pulmón.

Las isoenzimas del CYP450 más estudiadas con relación al cáncer son: 2D6; 2C19; 2C17 y la 1A1, por su participación en la biotransformación de xenobióticos: hidrocarburos aromáticos, nitrosaminas, dioxinas, compuestos derivados del humo del cigarro, entre otras. En la fase II, destacan las GSTM1 (GSTMu) y GSTT1 (GSTpi) involucradas en la detoxificación de compuestos potencialmente cancerígenos (30).

En la carcinogénesis ambiental; se conocen más de 5 docenas de diferencias farmacológicas descritas en el *Homo sapiens* y al menos existen tres polimorfismos de la expresión CYP450, a saber la: acetilación, debrisoquine 4-hidroxilasa y aril hidroxilasa (1).

En la iniciación de la tumorigénesis por contaminantes químicos ambientales se requieren de al menos tres eventos, en los cuales el sistema CYP450 juega un papel importante en la formación de moléculas reactivas carcinogénicas que reaccionan con el ADN formando aductos, que escapan de los procesos usuales de reparación del ADN causando cambios de secuencia de las

bases y rearrreglos en el ADN (1), trayendo como consecuencia la activación de protooncogenes. Sin la expresión génica del CYP450 el metabolismo de estos químicos no ocurriría y por consiguiente no habría daño al ADN, sin embargo si estos no se metabolizan pueden acumularse en el cuerpo, alterar las funciones celulares, fisiológicas y favorecer al desarrollo de enfermedades, o tener un efecto tóxico.

MECANISMOS DE TOXICIDAD DE XENOBIÓTICOS POR EL SISTEMA CYP450 Y CARCINOGENESIS

Básicamente, se pueden distinguir tres mecanismos para el desarrollo de la toxicidad del xenobiótico, a saber: por acúmulo de fármacos no metabolizados a causa de una deficiencia del sistema de CYP450, por efecto de la reactividad de los metabolitos producidos por CYP450 y por aspectos inmunológicos.

En el primer caso, la toxicidad se debe a la acumulación en cantidades excesivas de la droga no metabolizada, la cual dependerá de dos mecanismos, uno estrictamente genético por deficiencias genéticas y la otra por factores ambientales que influyen en la disminución de la actividad del CYP450, generalmente por inhibición con otros fármacos o xenobióticos.

En el segundo caso, es por la formación de metabolitos de naturaleza electrofílica o radicales libres resultantes de la actividad del CYP450, entre estos metabolitos tenemos a las quinonas, y a los epóxidos, compuestos que reaccionan con centros nucleofílicos ricos en electrones, como los grupos tioles o sulfhidrilos (SH) de la cisteína, el imidazol de la histidina y el OH de la serina o de las bases púricas y pirimídicas del ADN, entre otros. En el caso de los sulfhidrilos libres y las uniones disulfuro, éstos participan en una gran cantidad de actividades biológicas, como permeabilidad celular, condensación de cromosomas, segregación de cromosomas y son parte de la estructura proteica, en el centro activo de una gran cantidad de enzimas como metaloproteasas, caspasas, DNAsas, glutatión transferasas y las propias del sistema enzimático CYP450 y en los factores de transcripción.

Haciendo un paréntesis para subrayar la importancia de estos grupos, en el año 1979, Coutiño propuso, su participación en la inducción de mutaciones y aneuploidias por compuestos como los depolarizantes de membrana. Con el empleo del sistema de anafases, en ausencia del sistema metabolizante y a corto tiempo de exposición, detectó un incremento en los husos multipolares y la

segregación defectuosa de cromosomas. Coutiño, consideró que este efecto era a causa de cambios en la relación de SH, y los S-S de proteínas involucradas en la segregación cromosómica induciendo aneuploidias, tal es el caso del halotano y el tetracloruro de carbono entre otros (33, 34), éste último se le ha asociado con la carcinogénesis hepática.

Considerando el peso que tiene el metabolismo de drogas, en la producción de compuestos electrofílicos, altamente reactivos como los epóxidos donde su blanco directo es el ADN, no debemos olvidarnos que estos también de forma indirecta pueden alterarlo al unirse a proteínas, a través de los grupos tioles mismas que podrían estar asociados en la producción de mutaciones que conducirán a la carcinogénesis, y no sólo con la producción de aductos como podría ser el caso del metabolismo de la aflatoxina B1 y el tamoxifeno involucrados en carcinogénesis hepática.

Finalmente, el tercer mecanismo involucra aspectos inmunológicos, vistos desde dos perspectivas: 1.- La mayoría de los metabolitos altamente electrofílicos se unen covalente a grupos funcionales de proteínas tisulares - entre otros grupos tioles -, y actúan como sustancias antigénicas y como haptenos, iniciando la producción de autoanticuerpos causando autoinmunidad y toxicidad (20) y 2.- La expresión de los genes participantes en la producción de anticuerpos y la actividad de las enzimas del sistema CYP450, están asociadas de alguna manera, como lo sugieren algunos modelos experimentales, en donde los agentes inmunosupresores suprimen la expresión del CYP450 hasta un 60% (25), por lo cual, es probable que la inducción de anticuerpos también dependa de los mecanismos de inducción de CYP450, por otro lado, los genes de algunas globinas de la cadena de inmunoglobulinas están en los mismos cromosomas de algunos de los CYP450. Además, tanto la respuesta inmune como la química se ven afectados por hormonas esteroideas, y algunos inductores o inhibidores de la respuesta inmune afectan a la respuesta química y viceversa.

De tal manera, que es posible que los mecanismos de defensa química e inmune estén asociados y regulados de manera semejante o coordinadamente, ya que ambos requieren de la inducción de síntesis de proteínas, ya sea a través de factores de transcripción que interactúen con el receptores nucleares o directamente a través de los receptores nucleares.

Por último, la mayoría de los xenobióticos y los sustratos endógenos como ya se mencionó, son inductores del sistema de CYP450 y por su naturaleza lipofílica, están acoplados a receptores nucleares

(esteroideos) -actúan como factores de transcripción de genes- entre ellos el receptor constitutivo del androstano (CAR), ácido retinoico (RXR), receptor del pregnano (PXR), receptor de proliferación de peroxisomas (PPAR), y de hidrocarburos policíclicos (AhR), que inducen a los CYP450 2C9, 2B, 3A, 1A y 1B, respectivamente (8). La mayoría de los receptores nucleares, entre ellos los receptores esteroideos, poseen un dominio de cisteínas, por lo que nuevamente los grupos tioles parecen jugar un papel muy importante en la inducción de las enzimas del CYP450, de manera inespecífica por la gran mayoría de la xenobióticos y específica por los sustratos endógenos, así como, también de su participación en la respuesta inmune.

Xenobiótico en casa: Plata coloidal

Finalmente, queremos exponer algunas consideraciones entorno a la plata coloidal, y considerarla como un xenobiótico y una molécula ideal en el modelo de la coordinación entre la respuesta inmune y la química.

La plata coloidal - coloide de plata unida a proteínas como albúmina o gnetina- se usa como desinfectante (de agua, frutas y verduras), y además se utiliza de manera crónica y sin ninguna restricción, pues las dosis son aparentemente inocuas; sin embargo, como todo metal, la plata tiene afinidad por los grupos tioles de las proteínas, entre ellas los receptores esteroides o nucleares y por lo mismo estaría actuando como un factor de transcripción, en genes asociados o relacionados ya sea con la defensa inmunitaria y/o la defensa química, es decir que podría actuar como xenobiótico y/o inmunógeno. Como toda molécula extraña, puede presentar ambas funciones a pesar que por sus características moleculares (peso molecular), funcionaría más como antígeno o hapteno, que como xenobiótico. Sin embargo, si consideramos que los genes pudieran ser regulados de manera muy similar, la plata coloidal afectaría ambos mecanismos de defensa. Mencionamos que tanto los genes para la familia del CYP450 y la globina de la cadena ligera se encuentran en el mismo cromosoma. Datos experimentales recientes apoyan el hecho que la plata induce la respuesta inmune y la respuesta química, pues se ha visto que induce la presencia del CYP450 en linfocitos cultivados e

incrementa el número de linfocito y células plasmáticas (34).

Por tanto, la plata coloidal puede representar un riesgo no sólo para el desarrollo de cáncer y enfermedades crónico degenerativas (asma, alergias, diabetes, hipertensión, problemas de tiroides, y renales), sino para los tratamientos médicos. Por ello, es de gran transcendencia, realizar estudios entorno a los polimorfismos de citocromos como biomarcadores de exposición ambiental, y su relación con la respuesta inmune, en este caso en la población expuesta a la plata coloidal con el fin de identificar sus implicaciones a la salud.

CONCLUSIONES

Actualmente, estamos expuestos cotidianamente, a una serie de compuestos como aditivos alimenticios, colorantes, saborizantes, desinfectantes de alimentos como la plata coloidal, etc., aunados a los fármacos que se consumen y los propias hábitos alimenticios (grasas, endulcolorantes); es preocupante por el hecho que basados en lo supuesto por Doll y Peto, los cánceres se atribuyen en gran medida a sustancias químicas ambientales. Sabiendo la participación que tienen los mecanismos de defensa química de los organismos ante moléculas extrañas o xenobióticos y el desarrollo de cánceres, consideramos que el estudio del polimorfismo genético de las enzimas del sistema de defensa química (CYP450) resultará de gran utilidad como marcadores de exposición ambiental. Igualmente, los polimorfismos de las transferasas de la fase II, como la GST serán buenos marcadores de riesgo a cáncer por exposiciones ambientales. Por estas razones el estudio de la familia de CYTP450 en poblaciones, sería de gran utilidad como marcadores citotóxicos, tanto en la detección de componentes dañinos para el organismo como en complejos moleculares formados por compuestos inofensivos, ya que cada vez hay más aportaciones sobre las repercusiones entre las interacciones del metabolismo de sustratos endógenos esteroideogénicas con el de los xenobióticos. A todo esto, se le suma otro aspecto de interés, su asociación con la respuesta inmune, de gran relevancia con los procesos carcinogénicos, degenerativos y autoinmunes entre otros. 

REFERENCIAS

1. Hong JP, GF, Gelboi HV, Yang CS. (1987) The induction of specific form of cytochrome P450 by fasting. *Biochem Biophys Res Commun* 142:1077-1083.
2. Huerta-Bustamante PA, Henríquez Huerta PA, Castillo Peñaloza RL, Carrasco Loza RA, Orellana M, Rodrigo Salinas MA (2003) Estudio comparativo del consumo crónico de vino tinto sobre la expresión y la actividad del citocromo P450 en el hígado y riñón de rata. *Med UNAB* 6:4-9.
3. Guengerich FP (1989) Characterization of human microsomal cytochrome P-450 enzymes. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 29:241-264.
4. Guengerich FP (1994) Catalytic selectivity of human cytochrome P450 enzymes: relevance to drug metabolism and toxicity. *Toxicol Lett* 70:133-138.
5. Galli E, Feijoo L (2002) Citocromo P450 y su importancia clínica *Revista de Neuro-Psiquiatría*, 65:187-202.
6. Autrup H, Daneshvar B, Dragsted LO, Gamburg M, Hansen M, Loft S, Okkels H, Nielsen F, Nielsen PS, Raffn E, Wallin H, Ehlert Knudsen L (1999) Biomarkers for exposure to ambient air pollution--comparison of carcinogen-DNA adduct levels with other exposure markers and markers for oxidative stress. *Environ Health Perspect* 107:233-238.
7. Morales-Olivas FJ (2005) Interacciones farmacológicas de los fármacos antihipertensivos. *Med Clin Esp* 124:782-789.
8. Donato-Martin T (2005) ¿Que es el citocromo y como funciona? http://www.uv.es/jcastell/citocromo_P450.pdf.
9. Orella M, Guajardo V (2004) Actividad del citocromo P450 y su alteración en diversas patologías. *Revista Médica de Chile* 132:85-94.
10. Elizondo-Azuela G (2004) Use of gene knockout and transgenic mouse models to understanding cyp450 regulation and function applications on pharmacology and toxicology. http://74.125.155.132/scholar?q=cache:OU1cW71vbX0J:scholar.google.com/&hl=es&as_sdt=2000.
11. Zand R, Nelson SD, Slattery JT, Thummel KE, Kalhorn TF, Adams SP, Wright JM (1993) Inhibition and induction of cytochrome P4502E1-catalyzed oxidation by isoniazid in humans. *Clin Pharmacol Ther* 54:142-149.
12. Pankow D, Schror K (1994) Acetylsalicylic acid inducer of cytochrome P450 2E1. *Arch Toxicol* 68:261-265.
13. Ekstrom G, Ingelman-Sudberg M (1989) Rat liver microsomal NADH-supported oxidase activity and lipid peroxidation dependet on ethanol-inducible cytochrome P450. *Biochem Pharmacol* 38:1313-1319.
14. Maya J (1995) Citocrome P450 2E1 y diabetes. *Colombia Medical* 26:26-29.
15. Santiago C, Bandres F, Gómez-Gallego F. (2002) Polimorfismo del citocromo P450: Papel como marcador biológico. *Medicina del Trabajo* 11:130-140.
16. Koop R (2005) Combinatorial biomarkers: from early toxicology assays to patient population profiling. *Reviews DDT* 10: 781-788.
17. Garcia E (2005) Presencia de citocromo P450 en las especies de coral *Siderastrea siderae* y *Montastraea faveolata* del Caribe *Ciencias Marinas*, 41 1ª. <http://redalyc.uaemex.mx/pdf/480/48031103.pdf>.
18. Gutierrez R (2004) Farmacogenética personalizada. *Revista Cubana de Farmacia* 38(3):1-5.
19. Omura T, Sato R (1964) The carbon monoxide-binding pigment of liver microsomes. I evidence for its hemoprotein nature. *J Biol Chem* 239(7):2370-2378.
20. Chilo NH (1999) El citocromo P450 y su rol en la hepatotoxicidad inducida por drogas. *Enfermedades del Aparato digestivo* 2:34-37.
21. Wrigton SA, Steves JC (1992) The human hepatic cytochromes P450 involved in drug metabolism. *Crit Rev Toxicol* 20(1):1-21.
22. Fernández-Salguero P, Hoffman SM, Cholerton S, Mohrenweiser H, Raunio H, Rautio A, Pelkonen O, Haung JD, Evans WE, Idle JR Gonzalez FJ (1995) A genetic polymorphism in coumarin 7 hidroxilation: sequence of the human CYP 2A genes and identification of variant CYP2A6 alleles. *Am J Humnan Genet* 57(3):651-660.
23. Raunio H, Rautio A, Gullsten H, Pelkonen O (2001) Polymorphisms of CYP2A6 and its practical consequences. *Br J Clin Pharmacol* 52(4):357-363.
24. Tanaka Y, Sasaki M, Shiina H, Tokizane T, Deguchi M, Hirata S, Hinoda Y, Okayama N, Suehiro Y, Urakami S, Kawakami T, Kaneuchi M, Pookot D, Igawa M, Okuyama A, Ishii N, Dahiya R (2006) Catechol- O- Methyltransferase gene polymorphims in bening prostatic hyplasia and sporadic prostate cancer *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 15(2):238-244.
25. González FJ, Jaiswal AK, Nebert DW (ed.) (1986) *Genes: Evolution, Regulation and Relationship to human Cancer and Pharmacogenetics*. Cold Spring Harbor Laboratory, New York.
26. Autrup JL, Thomassen LH, Olsen JH, Wolf H, Autrup H (1999) Glutathione S-transferases as risk factors in prostate cancer. *Eur J Cancer Prev* 8:525-532.
27. Kuen Lee, Cáceres D, Nelson V, Csendes A, Rios H, Quiñonez L (2006) Variantes alélicas de CYP1A1 y GSTM1 como biomarcadores de suceptibilidad a cáncer gástrico: Influencia de los hábitos tabáquico y alcohólico. *Revista Médica de Chile* 134:1107-1115.

28. Acevedo C, Opazo JL, Huidobro C, Cabezas J, Iturrieta J, Quinones Sepúlveda L (2003) Positive correlation between single or combined genotypes of CYP1A1 and GSTM1 in relation to prostate cancer in Chilean people. *Prostate* 57:111-117.
29. Quinones L, Lucas D, Godoy J, Cacéres D, Berthou F, Varela N, Lee K, Acevedo C, Martínez L, Aguilera AM, Gil L (2001) CYP1A1, CYP2E1 and GSTM1 genetic polymorphisms. The effect of single and combined genotypes on lung cancer susceptibility in Chilean people. *Cancer Lett*, 174(1):35-44.
30. Quinones L, Lee K, Varela FN, Escala M, García K, Godoy L, Castro A, Soto J, Saavedra I, Cáceres D (2006) Cancer pharmacogenetics: study of genetically determined variations on cancer susceptibility due to xenobiotic exposure. *Rev Med Chile* 134(4): 499-515.
31. Guengerich FP, Kim DH, Iwasaki M (1991) Role of human cytochrome P-450 IIE1 in the oxidation of many low molecular weight cancer suspects. *Chem Res Toxicol* 4:168-179.
32. Rebbeck T, Walker AH, Jaffe JM, White DI, Wein AJ, Malkowicz SB (1999) Glutathion S transferase-mu(GSTmu and theta (GSTT1) genotypes in the etiology of prostata cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 8:283-287.
33. Coutino RR (1979) Analysis of anaphase in cell culture: an adequate test system for the distinction between compounds which selectively alter the chromosome structure or the mitotic apparatus. *Environ Health Perspect* 31:131-136.
34. Coutiño Rodríguez EMdR (1979) Análisis de anafases en células en cultivo: Un sistema adecuado para la distinción de compuestos que alteran selectivamente la estructura cromosómica o el aparato mitótico, tesis de maestría de la Facultad de Ciencias Químicas de la UNAM, México D.F p65.

SKIL: UN INHIBIDOR DE LA VÍA DE LA CITOCINA TGF- β *

Elisa Domínguez-Hüttinger y Marina Macías-Silva

Departamento de Biología Celular. Instituto de Fisiología Celular, Universidad Nacional Autónoma de México. Apartado Postal: 70-243. 04510 México, D.F. México. Tel.: (55) 56-22-5729. Fax: (55) 56-22-5611. Correo E: ehuttinger@ifc.unam.mx o mmacias@ifc.unam.mx

RESUMEN

"Sloan-Kettering-Institute Like" (*skil*) es un gen muy interesante que se ha asociado a procesos como el desarrollo embrionario, el desarrollo de cáncer, la respuesta inmune y la regeneración tisular. Cambios en sus niveles de expresión normal contribuyen al desarrollo de tumores, por lo que se le ha considerado como un supresor de tumores o una oncoproteína. El papel principal de la proteína SKIL es inhibir la vía del TGF- β , ya que funciona como un correpressor transcripcional que bloquea la actividad transcripcional de los principales efectores del TGF- β , las Smad, así como reclutando a otros correpressores y a desacetilasas de histona. En ausencia de SKIL, las proteínas Smad regulan la expresión de los genes blanco del TGF- β al actuar como factores de transcripción. TGF- β induce la expresión del gen *skil*, pero regula negativamente los niveles de la proteína SKIL a través de la inducción de su degradación vía el sistema ubiquitina-proteosoma. Esta regulación constituye un ejemplo típico de un asa de retroalimentación negativa de la vía de transducción de señales.

ABSTRACT

"Sloan-Kettering-Institute Like" (*skil*) is a very interesting gene that has been associated to processes like embryo development, cancer development, immune response and tissue regeneration. Alterations in the expression of SKIL normal levels contribute to tumor development, thus SKIL is considered as both a tumor suppressor and an oncoprotein. The main role of the SKIL protein is to act as a corepressor of the TGF- β signal transduction pathway. SKIL functions as a transcriptional corepressor that inhibits the TGF- β pathway interfering with the transcriptional activity of the main TGF- β effectors, the Smad proteins, and by recruiting corepressors and histone deacetylases. In absence of SKIL, Smads regulate the expression on TGF- β target genes while they act as transcription factors. TGF- β induces the expression of the gene *skil*, but TGF- β also regulates negatively the protein levels of SKIL by inducing its degradation via ubiquitin-proteasome system. This regulation constitutes a good example of a negative feedback loop present in signal transduction pathways.

INTRODUCCIÓN

En 1986, un grupo de investigadores del Instituto Sloan-Kettering encontraron una secuencia de DNA común en el grupo de retrovirus Sloan-Kettering (SKV), y presente también en el genoma del pollo. Llamaron a esta secuencia SKI ("Sloan-Kettering Institute"), e intuyeron que se trataba de un gen funcional. Un año después, se descubrió el gen homólogo en el humano (*h-ski*), así como una

secuencia similar a *ski*, que nombraron *sno* (Ski-related novel gene) y que es ahora un sinónimo de *skil* (SKI-Like).

El papel fisiológico del gen *skil* se fue descubriendo paulatinamente. Al inicio, se caracterizó su perfil de expresión en diferentes etapas del desarrollo, así como su papel en determinados procesos fisiológicos. *Skil* se encuentra expresado de manera ubicua, sin embargo, su tasa de transcripción basal es muy baja. Durante el desarrollo

PALABRAS

CLAVE:

SKIL, Sno, TGF- β , asa de retroalimentación negativa, regulación transcripcional.

KEY WORDS:

SKIL, Sno, TGF- β , negative feedback loop, transcriptional regulation.

embrionario, en diversos tipos de cáncer, en el timo y en el bazo, así como en algunos procesos de regeneración tisular, se puede observar que *skil* está sobreexpresado. El incremento en los niveles de expresión de *skil* durante dichos procesos concuerda con su papel fisiológico. SKIL induce la miogénesis y durante la regeneración tisular es un importante inductor de la proliferación celular, mientras que en el sistema inmune, se sabe que SKIL activa a las células T. En el desarrollo del cáncer, se le ha adjudicado a SKIL un papel ambivalente, por un lado, como supresor de tumores, y por el otro, como oncoproteína, aunque a la fecha no se ha descrito alguna forma mutada de SKIL.

El mecanismo de acción molecular de SKIL está directamente asociado a la vía de transducción de señales del factor de crecimiento transformante beta (TGF- β). El TGF- β es una citocina que afecta una gran gama de procesos fisiológicos a través de la activación de sus efectores, las proteínas Smad. En respuesta a la unión del TGF- β con sus receptores, se activa el receptor tipo I o ALK5. ALK5 es una cinasa de residuos de serina y treonina que fosforila a las proteínas R-Smad (Smad2 y Smad3), lo cual ocasiona que se forme un complejo heterotrimérico, de R-Smads con Smad4, que se transloca al núcleo. Una vez en el núcleo, las Smad se asocian a secuencias específicas en las regiones regulatorias de diversos genes, por ejemplo, el elemento de unión a Smad (SBE), que se encuentra en los promotores de los genes blanco del TGF- β . Así, el TGF- β regula la expresión de numerosos genes blanco. La proteína SKIL actúa como correpressor de la vía del TGF- β . Es decir, que inhibe la regulación de la transcripción de los genes blanco de esta citocina.

De acuerdo con lo anterior, actualmente se presume que los efectos fisiológicos de SKIL están directamente asociados con la inhibición de la vía de transducción del TGF- β . Por ejemplo, durante la regeneración hepática, esta citocina actúa como un potente antimitótico. Se sugiere que al inhibir la vía del TGF- β , SKIL favorece la proliferación celular en un hígado en regeneración.

La activación de la vía del TGF- β induce la degradación de la proteína SKIL vía el proteosoma. Así, existe una ventana de tiempo en la cual el TGF- β es capaz de regular la transcripción de sus genes blanco, mientras los niveles de SKIL están aún disminuidos. Un gen blanco del TGF- β es el mismo *skil*. De esta manera, la activación transcripcional del gen *skil* y el consecuente aumento en los niveles de la proteína por la vía del TGF- β , constituye un asa de retroalimentación negativa en esta vía, que podría ser importante para apagar las señales del TGF- β en la célula.

SKIL: Del gen a la proteína

Estudios filogenéticos sugieren que el gen *skil* se encuentra en una gran gama de metazoarios. Sin embargo, hasta ahora solamente se han caracterizado genes ortólogos de *skil* en *Homo sapiens*, *Mus musculus*, *Drosophila sp.*, en rata y en pollo (1-4). En los genomas de todas estas especies, hay una sola copia del gen *skil*. En el ratón y el humano, se localiza en el cromosoma tres, mientras que en la rata y la mosca, se encuentra en el segundo cromosoma. En el pollo, *skil* se localiza en el cromosoma nueve.

En el humano, existen cuatro isoformas, producto de empalme alternativo ("*splicing*"), de SKIL. Se trata de SnoN (*Non-Alu-containing*), SnoA (*Alu-containing*), SnoN2 y SnoI ("*Insertion*"). En el ratón, el empalme alternativo genera las isoformas SnoN2 y SnoN. En el pollo, existe sólo una isoforma de SnoN (1). En *Drosophila*, se encontraron cuatro isoformas de dSno correspondientes a sus cuatro contrapartes humanas (4). En general, las isoformas más expresadas son SnoN2 en *Mus musculus* y SnoN en *Homo sapiens* (5).

La isoforma humana de SKIL, SnoN, es una proteína nuclear conformada por 684 aminoácidos (aa). La porción amino terminal (aproximadamente 270 aa) está altamente conservada entre las isoformas de SKIL, y también en la proteína SKI. En esta región se encuentra un dominio de transformación y diferenciación que contiene regiones de interacción con las Smad, una de ellas es el dominio SAND que permite la interacción con Smad4. La región carboxilo terminal está pobremente conservada –de hecho, está ausente en la isoforma SnoI–, y es la que presenta el dominio de homo- y heterodimerización (A). La ausencia de una actividad catalítica, así como la presencia de motivos de interacción con las Smad, sugiere que el mecanismo de acción de la proteína SKIL en la vía del TGF- β es principalmente a través de su interacción con las Smad.

Mecanismo de acción de SKIL

La proteína SKIL es un correpressor de la vía de transducción del TGF- β . Es decir, SKIL inhibe la regulación de la expresión de los genes blanco del TGF- β (Fig. 1). Bioquímicamente hablando, esta interferencia se puede dar de cuatro formas (Fig. 2): 1) SKIL impide la formación del complejo heterotrimérico de Smads –el dominio de dimerización de Smad4 coincide con el dominio de unión a SKI y SKIL–; 2) imposibilita la unión del coactivador p300/CBP al complejo heterotrimérico de Smads; 3) recluta a otros correpressores –como N-CoR y

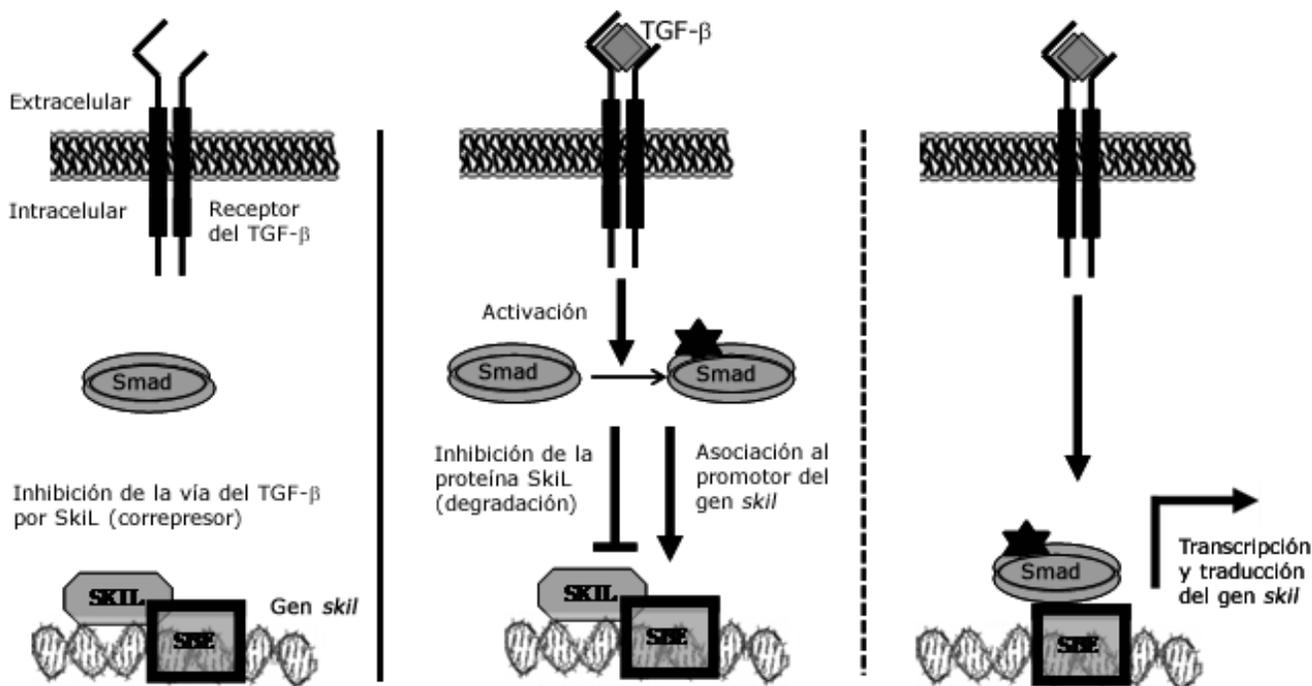


Figura 1. Regulación de la proteína SKIL por la vía de transducción del TGF-β. La asociación del TGF-β a su receptor induce la activación de las proteínas efectoras del TGF-β, las Smad. Las Smad activadas se asocian al Elemento de Unión a las Smad (SBE) en el promotor del gen *skil*. Esta asociación induce la transcripción del gen *skil* y posterior traducción del RNAm. La proteína SKIL reprime a la vía del TGF-β al actuar como correpresor de las Smad. El TGF-β, por medio de las Smad induce la degradación de la proteína SKIL. Ver el texto para más detalles.

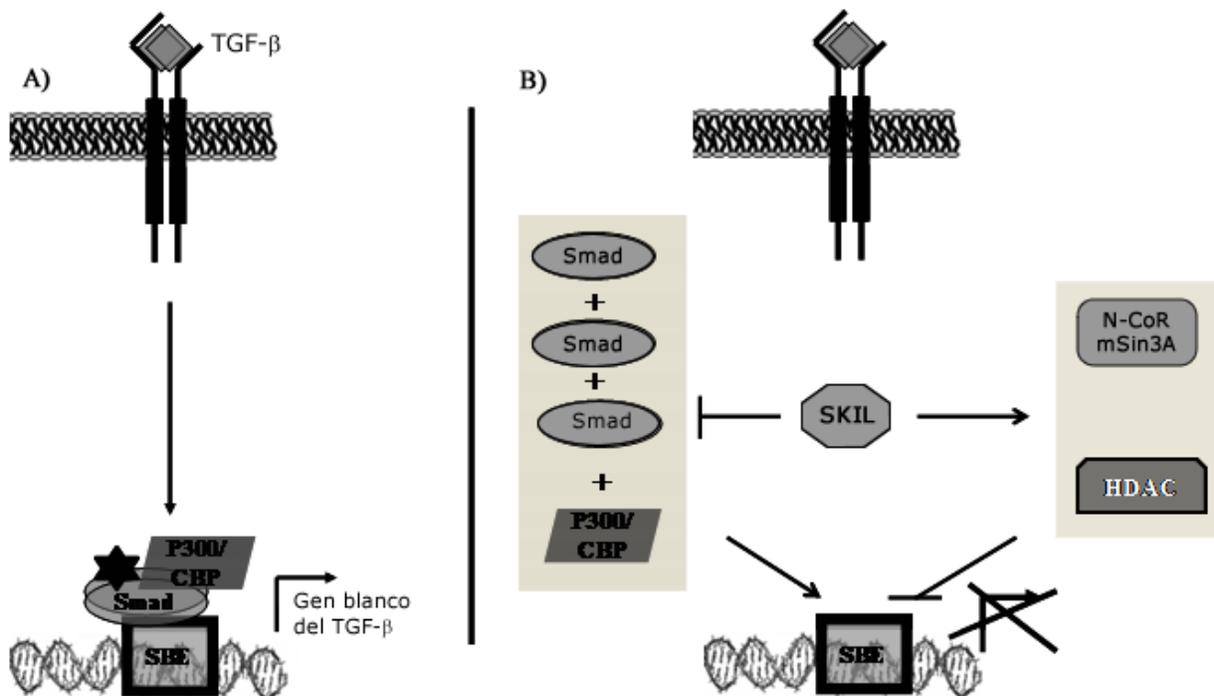


Figura 2. Mecanismo de acción de SKIL. A) En ausencia del correpresor SKIL, la citocina TGF-β induce la activación de sus genes blanco por medio de la asociación de las Smad y un coactivador (p300/CBP) a un SBE en el promotor del gen blanco del TGF-β. B) La presencia de SKIL inhibe la expresión del gen blanco del TGF-β al impedir la formación del complejo heterotrimérico de Smads, imposibilitar la unión del coactivador p300/CBP y dicho complejo, y reclutar a otros correpresores -como N-CoR y mSin3A; y/o a desacetilasas de histona (HDACs) al promotor blanco del TGF-β.

mSin3A-; y 4) recluta desacetilasas de histona (HDACs) al promotor blanco del TGF- β . SKI y SKIL no poseen actividad catalítica, y además son incapaces de asociarse directamente al DNA, para lo cual requieren de la interacción con las proteínas Smad. Esta interacción de SKIL y SKI con las Smad inhibe la actividad transcripcional de las mismas, y así SKIL y SKI ejercen sus efectos inhibitorios sobre la vía del TGF- β (Fig. 1).

Regulación de la expresión del gen *skil*

En 1999, Storschein y colaboradores detectaron por primera vez un aumento en los niveles de expresión del RNAm de *skil* en respuesta a un estímulo del TGF- β (6). En los últimos años, se ha investigado el mecanismo celular por el que ocurre este incremento. Hoy se sabe que la región regulatoria del gen *skil*, llamada promotor, tiene cuatro SBEs y además una secuencia de unión a Smads que no se había reportado en ningún otro gen blanco del TGF- β . Se trata de la secuencia inhibitoria de las Smads (SIE); como su nombre lo indica, la unión de un complejo heterotrimérico de Smads al SIE inhibe la transcripción de *skil*. No obstante la presencia del SIE en el promotor de *skil*, el efecto global del TGF- β sobre la expresión de este gen es positivo (7) (Fig. 1). Este mecanismo de inducción de la expresión del gen *skil* por la vía del TGF- β se reportó originalmente para *Mus musculus*, sin embargo, se sabe que las regiones reguladas por la vía del TGF- β en el promotor de *skil* están conservadas y son funcionales en *Homo sapiens* (8).

En el promotor de *skil* de *Homo sapiens* se ha encontrado además una secuencia de respuesta al factor de crecimiento de hepatocitos (HGF). Se trata de una secuencia de 200 pares de bases (pb) que contiene sitios de unión a la proteína específica 1 (Sp1) y al elemento de respuesta a cAMP (CRE) (9). Estudios bioinformáticos sugieren que dicha secuencia está conservada en *Mus musculus*.

Finalmente, Yatsula y colaboradores detectaron un sitio de unión al protooncogen Evi1 (*Ectopic viral integration site-1*) en la región regulatoria de *skil* de células mieloides transformadas NIH 3T3 (10).

Regulación de los niveles proteicos de SKIL

La vía de señalización del TGF- β induce la degradación de la proteína SKIL. En presencia de este correpresor es probable que el TGF- β no sea capaz de inducir un cambio en la expresión de muchos de sus genes blanco (entre los que se encuentra *skil*). Así, el TGF- β , a través de las Smad, disminuye los niveles proteicos de SKIL antes de ejercer

otros efectos (Fig. 1). El TGF- β reduce los niveles proteicos de SKIL por medio de la degradación proteosomal dependiente de ubiquitina (11, 12).

Cualquier proteína que será degradada debe ser marcada. Una forma común de marcar las proteínas a degradar es mediante la ubiquitinación. Se trata de un proceso de adición de varias unidades de la proteína ubiquitina a la proteína blanco; este proceso es catalizado por enzimas tipo E1 (activadora de ubiquitina), E2 (conjugadora de ubiquitina) y E3 (ligasa de ubiquitina). Las ligasas E3 entran en contacto directo con la proteína blanco, por lo que son las que determinan la especificidad del sustrato (11). En el marco de la vía de señalización del TGF- β se han detectado una serie de ligasas de ubiquitina que marcan a la proteína SKIL para enviarla a degradación. Se trata de las ligasas E3 de ubiquitina: Smurf2 (*Smad ubiquitin regulatory factor*) (11), la E3 que forma parte del complejo promotor de la anafase (APC) (15), y Arkadia (13). Hace un par de años, Kajino y colaboradores (14) observaron que la fosforilación de SKIL por la cinasa activada por el TGF- β , TAK1, repercute negativamente sobre la estabilidad del correpresor; es decir, que TAK1 aumenta la susceptibilidad de la proteína SKIL a ser ubiquitinada y posteriormente degradada vía el proteosoma. Actualmente se investiga si existen vías independientes del TGF- β que inducen la degradación de la proteína SKIL, como por ejemplo por medio del uso del antibiótico anisomicina (15).

Así como la fosforilación y la ubiquitinación, la sumoilación (*small ubiquitin-like modifier*) es una modificación post-traducciona que afecta a la proteína SKIL. A diferencia de la ubiquitinación, la sumoilación aumenta la estabilidad de la proteína SKIL, acrecentando su actividad correpresora. La sumoilación es catalizada por las enzimas Ubc9 y PIAS (16).

La variedad de enzimas que modifican a la proteína SKIL nos habla de una regulación puntual de SKIL en diversos escenarios fisiológicos. Por ejemplo, la fluctuación de los niveles proteicos de SKIL durante el ciclo celular se debe a la regulación periódica de los niveles proteicos de SKIL por APC (5). Después de la mitosis, cuando la célula entra a G1, APC induce la degradación proteolítica de SKIL. Así, después de que la célula se dividió -fase G2- SKIL deja de inhibir a la citocina antiproliferativa TGF- β , arrojando el ciclo celular (17). Podemos mencionar otro papel interesante de APC en relación a SKIL en el contexto neuronal; Steigmüller y colaboradores (18) describen que la ubiquitinación de SKIL por APC inhibe el crecimiento axonal en cultivos primarios de neuronas de cerebelo. En cuanto a Smurf2, se sabe que esta ligasa E3 au-

TABLA 1

Principales procesos fisiológicos y patológicos en los que el correpressor SKIL juega un papel importante; principalmente por reprimir los efectos de la vía del TGF- β .

Proceso Fisiopatológico	TGF- β	SKIL	
Cáncer	Fase temprana (proliferación)	Supresor de tumores (anti-proliferativo)	Protooncogen
	Fase tardía (extravasación, angiogénesis, metástasis)	Protooncogen (matriz extracelular)	Supresor de tumores
Regeneración tisular	Inhibe fase proliferativa de la regeneración	Inhibe el efecto antiproliferativo del TGF- β , propiciando la regeneración	
Desarrollo	Sistema inmune	Citocina antiinflamatoria	Inmunoactivador. Sobreexpresado en células del sistema inmune, activador de células T
	Miogénesis	Inhibe la diferenciación muscular	Miogénico

menta la degradación de SKIL durante la fibrosis hepática (19).

En suma, la proteína SKIL tiene una gran gama de efectos sobre el organismo, y estos efectos están profundamente relacionados con el tipo de tejido en el que se encuentre; es decir, con el contexto celular. A continuación se describirán brevemente los escenarios en los que SKIL parece jugar un papel preponderante.

PAPEL FISIOPATOLÓGICO DE SKIL

Cáncer

SKIL juega un papel dual en el desarrollo del cáncer. Hay evidencias de su actuación como protooncogen, pero también figura como supresor de tumores. Por un lado, la sobreexpresión de *skil* es común en muchas líneas tumorales humanas derivadas de melanoma, cáncer de mama, de esófago, de pulmón, de epidermis y de próstata, lo que sugiere que *skil* es un protooncogen. Cabe resaltar que no se han encontrado mutaciones asociadas al gen *skil* (20). Por otro lado, Shinagawa y colaboradores (21) mostraron que la pérdida de una copia de *skil* aumenta la susceptibilidad a desarrollar tumores. Ratones heterocigos (*skil*^{+/-}) tratados con carcinógenos químicos son más susceptibles a desarrollar tumores, así como más propensos a desarrollar linfomas de manera espontánea que su contraparte silvestre. En este caso, parece que *skil* actúa como un supresor de tumores. A pesar de que no se ha llegado a ningún consenso, parece que, en estadios tempranos del desarrollo tumoral,

SKIL favorece el crecimiento tumoral. Este efecto se debe, probablemente, a que SKIL inhibe las señales antiproliferativas del TGF- β . En tumores más desarrollados, SKIL inhibe la metástasis, actuando como un supresor de tumores. El TGF- β favorece la extravasación y la migración de las células tumorales; así que también en este caso podemos entender el papel negativo de SKIL en función del TGF- β (18) (Tabla 1).

El papel dual de SKIL en cáncer nos hace pensar que su regulación precisa es esencial para el mantenimiento de la homeostasis tisular. Por ello, resulta importante estudiar las enzimas y los factores de transcripción que controlan la expresión y la estabilidad de la proteína SKIL.

Regeneración tisular y fibrosis

Macías-Silva y colaboradores observaron que SKIL se encuentra sobreexpresado durante la regeneración hepática, principalmente en hepatocitos. Durante la fase proliferativa de la regeneración, los hepatocitos parecen ser resistentes a las señales antimitóticas del TGF- β . El aumento en los niveles de RNAm y de la proteína de SKIL explica esta resistencia de las células (Tabla 1). Se propone que el mismo TGF- β es el ligando que podría ser responsable de aumentar la expresión de SKIL durante la regeneración hepática (22). En contraste, la fibrosis hepática se caracteriza por un aumento en la degradación de SKIL y de Smad2 por Smurf2, lo que causa una marcada disminución de los niveles proteicos del efector de la vía del TGF- β y de su correpressor (19).

Desarrollo embrionario

Existen dos posiciones contrarias respecto al papel de SKIL durante el desarrollo embrionario. Por un lado, Shinagawa y colaboradores generaron un ratón carente del gen *skil*. Este ratón *knockout* resultó ser letal, por lo que concluyen que *skil* es esencial para el desarrollo embrionario (21). Por su parte, Pearson-White y McDuffie crearon otro ratón *knockout* para *skil*. Este ratón parece normal; únicamente se detectaron anomalías en la activación de sus células T (23).

La discusión en torno a la importancia del SKIL durante el desarrollo embrionario sigue en pie. Sin embargo, hay un consenso en cuanto al papel de SKIL en el desarrollo muscular y en la activación del sistema inmune (1, 23, 24). Desde que se comenzó a caracterizar la función de SKIL, se le ha atribuido un papel miogénico. Incluso, parece que la isoforma SnoI se expresa exclusivamente en músculo esquelético (5), y se sabe que en fibroblastos de codorniz, la sobreexpresión de SKIL induce la diferenciación terminal de músculo esquelético (24). En cuanto al sistema inmune, Pearson-White y McDuffie (23) demostraron que el gen *skil* se encuentra constitutivamente expresado en las células del timo y del bazo. Además, mostraron que células T carentes de *skil* son inca-

paces de proliferar. Años antes, Pearson-White y colaboradores ya habían caracterizado la expresión de SKIL en las células hematopoyéticas (5). Así, parece que SKIL juega un papel importante en el sistema inmune al antagonizar los efectos del TGF- β , que es una potente citocina inmunosupresora (Tabla 1).

CONCLUSIONES

SKIL es un importante regulador negativo de la vía de transducción de la citocina TGF- β . El mantenimiento preciso de sus niveles de expresión (tanto de proteína como de RNAm) es fundamental para mantener la homeostasis tisular. Hoy en día, la regulación de los niveles de expresión de SKIL es adjudicada principalmente a la vía del TGF- β . Así, la relación entre SKIL y el TGF- β forma un asa de retroalimentación negativa en la vía. Esta relación se ve reflejada en los procesos fisiopatológicos protagonizados por SKIL; todo parece indicar que las repercusiones sistémicas que este correpresor ejerce, se deben exclusivamente a su papel inhibitorio de las acciones del TGF- β . Sin embargo, no podemos descartar que SKIL tenga efectos fisiológicos independientes del TGF- β , ni que existan mecanismos alternos a la vía del TGF- β que regulen los niveles de expresión de SKIL. 

REFERENCIAS

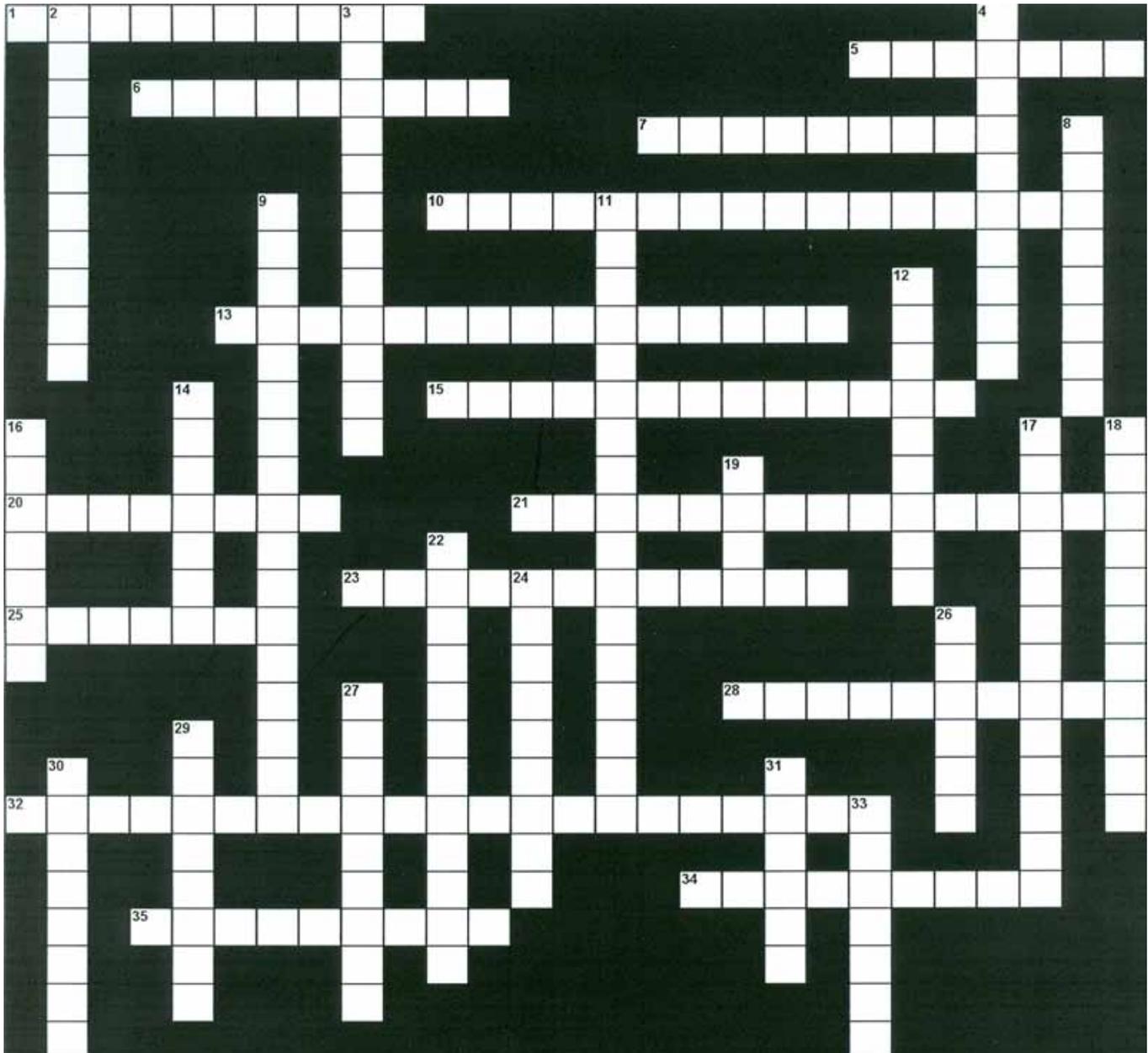
1. Boyer P, Colmenares C, Stavnezer E, Hughes S (1993) Sequence and biological activity of chicken snoN cDNA clones. *Oncogene* 8: 457-466.
2. Nomura N, Sasamoto S, Ishii S, Date T, Matsui M, Ishizaki R (1989) Isolation of human cDNA clones of *ski* and the *ski*-related gene, *sno*. *Nucleic Acids Res* 17:5489-5500.
3. Pelzer T, Lyons G, Kim S, Moreaditj R (1996) Cloning and Characterization of the Murine Homolog of the *sno* Proto-Oncogene Reveals a Novel Splice Variant. *Dev Dyn* 205:114-125.
4. Takaesu N, Hyman-Walsh C, Yee Y, Wisotzkey R, Stinchfield M, O'Connor M, Wotton D, Newfelf S (2006) dSno Facilitates Baboon Signaling in the Drosophila Brain by Switching the Affinity of Medea Away from Mad and Toward dSmad2. *Genetics* 174:1299-313.
5. Pearson-White S, Crittenden R (1997) Proto-oncogene *Sno* expression, alternative isoforms and immediate early serum response. *Nucleic Acids Res* 14:2930-2937.
6. Stroschein S, Wang W, Zhou S, Zhou Q, Luo K (1999) Negative Feedback Regulation of TGF- β Signalling by the SnoN Oncoprotein. *Science* 286:771-774.
7. Zhu Q, Pearson-White S, Luo K (2005) Requirement for the SnoN Oncoprotein in Transforming Growth Factor β -induced Oncogenic Transformation of Fibroblast Cell. *Mol Cell Biol* 25:10731-10744.
8. Tecalco-Cruz AC, Caligaris C, Sosa-Garrocho M, Ortíz-García L, Domínguez-Hüttinger E, Macías-Silva M (2009) Negative regulation of human *skil* gene promoter by SKIL co-repressor. (Manuscrito en preparación).
9. Rouyun Tn, Zhang X, Yang J, Liu Y, Li Y (2007) Molecular Basis for the Cell Type-Specific Induction of SnoN Expression by Hepatocyte Growth Factor. *J Am Soc Nephrol* 18:2340 -2349.
10. Yatsula B, Lin S, Read A, Poholek A, Yates K, Yue D, Hui P, Perkin A (2005) Identification of Binding Sites of EVI1 in Mammalian Cells. *J Biol Chem* 280:30712-10722.
11. Bonni S, Wang H, Causing C, Kavsak P, Stroschein S, Luo K, Wrana J (2001) TGF- β induces assembly of a Smad2-Smurf2 ubiquitin ligase complex that targets SnoN for degradation. *Nat Cell Biol* 3:587-595.
12. Stroschein S, Bonni S, Wrana J, Luo K (2001) Smad3 recruits the anaphase-promoting complex for ubiquitination and degradation of SnoN. *Genes Dev* 15:2822-2836.

13. Nagano Y, Mavrikakis K, Lee K, Fujii T, Koinuma D, Sase H, Yuki K, Isogaya K, Saitoh M, Imamura T, Episkopou V, Miyazono K, Miyazawa K (2007) Arkadia Induces Degradation of SnoN and c-Ski to Enhance Transforming Growth Factor- β Signaling. *J Biol Chem* 282:20492-20501.
14. Kajino T, Omori E, Ishii S, Matsumoto K, Ninomiya-Tsuji J (2007) TAK1 MAPK Kinase Mediates Transforming Growth Factor- β Signaling by Targeting SnoN Oncoprotein for Degradation. *J Biol Chem* 282:9475-9481.
15. Vázquez-Macias A, Ruiz-Mendoza A, Fonseca-Sánchez M, Briones-Orta M, Macías-Silva M (2005) Downregulation of Ski and SnoN co-repressors by anisomycin. *FEBS Lett* 579:3701-3706.
16. Hsu Y, Sarker K, Pott I, Chan A, Netherton S, Bonni S (2006) Sumoylated SnoN Represses Transcription in a Promoter-specific Manner. *J Biol Chem* 281:33008-33018.
17. Wan Y, Liu X, Kirschner M (2001) The Anaphase-Promoting Complex Mediates TGF- β Signaling by Targeting SnoN for destruction. *Mol Cell* 8:1027-1039.
18. Steigmüller J, Konoshi Y, Huynh M, Yuan Z, DiBacco S, Bonni A (2006). Cell-Intrinsic Regulation of Axonal morphogenesis by the Cdh1-APC Target SnoN. *Neuron* 50:389-400.
19. Cai Y, Shen Z, Zhou C, Wang J (2006) Abnormal expression of Smurf2 during the process of rat liver fibrosis. *Chin J Dig Dis* 7:237-245.
20. Zhu Q, Krakowski A, Dunham E, Wang L, Bandyopadhyay A, Berdeaux R, Martin S, Sun L, Luo K (2007) Dual Role of SnoN in Mammalian Tumorigenesis. *Mol Cell Biol* 27:324-339.
21. Shinagawa T, Dong H, Xu M, Maekawa T, Ishii S (2000) The sno gene, which encodes a component of the histone deacetylation complex, acts as a tumor suppressor in mice. *EMBO J* 19:2280-2291.
22. Macías-Silva M, Wei L, Leu J, Crissey M, Taub R (2002) Up-Regulated Transcriptional Repressors SnoN and Ski Bind Smad Proteins to Antagonize Transforming Growth Factor- β Signals during Liver Regeneration. *J Biol Chem* 277:28483-28490.
23. Pearson-White S, McDuffie M (2003) Defective T-Cell Activation Is associated with Augmented Transforming Growth Factor β Sensitivity in Mice with Mutations in the Sno Gene. *Mol Cell Biol* 23:5446-5459.
24. Wrighton KH, Liang M, Bryan B, Luo K, Liu M, Feng XH, Lin X (2007) Transforming growth factor-beta-independent regulation of myogenesis by SnoN sumoylation *En: J Biol Chem* 282:6517-24.

CRUCIBIOQ

ENZIMAS: LIASAS

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



HORIZONTALES

- 1 En plantas, algunos invertebrados y ciertos microorganismos como *E. coli* y levaduras,
- 5 Con la participación de esta enzima que elimina una molécula de agua, se lleva a cabo este sustrato se rompe para formar succinato ($^-OOC-CH_2-CH_2-COO^-$) y glioxilato ($^-OOC-COO^-$), esta reacción es catalizada por la liasa específica.

- la formación del segundo metabolito de alto contenido energético en la vía de la glucólisis.
- 6** La 3-hidroxi 3-metil glutaril CoA (HMG-CoA) liasa (EC 4.1.3.4) degrada a HMG-CoA que proviene de la oxidación de leucina, valina e isoleucina para obtener acetoacetato y acetil CoA; un error genético en su síntesis, impide la formación de cuerpos _____ lo que ocasiona que en el recién nacido haya HMG-CoA aciduria, que conduce a hipoglucemia, acidosis metabólica sin cetosis, hiperamonemia, vómito pertinaz, letargia, hipotonía, deshidratación y coma.
- 7** La descarboxilación de este sustrato en presencia de fosfato de piridoxal, da lugar al ácido γ -amino-butirico (GABA), un neurotransmisor inhibitorio del sistema nervioso central.
- 10** La reacción de _____ de la lisina (EC 4.1.1.18) da origen a la cadaverina, una base tóxica presente en el contenido intestinal.
- 13** Es una proteína integral de la membrana plasmática que tiene como función romper al pirofosfato del ATP y formar al nucleótido cíclico que actúa como segundo mensajero.
- 15** Son enzimas que eliminan una molécula de agua ocasionando la formación de una doble ligadura, como sucede con la serina que por la acción de la enzima específica (EC 4.2.1.13), forma deshidroserina y posteriormente por desaminación produce ácido pirúvico.
- 20** Es una monoamina producida por algunas bacterias como *Enterococcus faecalis*, *Lactobacillus brevis* y *Lactococcus lactis* en las que se realiza la descarboxilación de la tirosina, este metabolito se encuentra en alimentos que tienen como base la fermentación láctica para desarrollar sabores característicos, tal es el caso de los quesos añejos, levaduras, salchichas, vino tinto, etc.; en el humano actúa como neurotransmisor en el sistema nervioso central.
- 21** Estas enzimas se encuentran ampliamente distribuidas en la naturaleza, necesitan fosfato de piridoxal como coenzima y catalizan la eliminación de un grupo carboxílico (CO_2).
- 23** Por la acción de la descarboxilasa (EC 4.1.1.4) de esta molécula se produce acetona.
- 25** La sintasa (EC 4.1.3.7) que da lugar a esta molécula, pertenece al sub-grupo de las aciliasas; realiza la condensación entre acetil CoA y oxalacetato, al unir al carbono metílico del acetilo con el grupo carboxilo (C-2) del oxalacetato y liberar a la coenzima A; esta es la reacción de inicio del ciclo de los ácidos tricarboxílicos.
- 28** Es la butano-1,4-diamina [$\text{NH}_2(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2$] y es el producto de la descarboxilación de la ornitina, se produce en los mamíferos, en tejidos como páncreas, pulmones, hígado y semen independientemente de que se sintetiza *post mortem* debido a la fermentación bacteriana de las proteínas.
- 32** La descarboxilasa de este compuesto -cuyas siglas son DOPA- es una enzima que por la pérdida de un CO_2 da lugar a dopamina, a la producción deficiente de este último metabolito se le ha asociado con la enfermedad de Parkinson.
- 34** Es un potente vasodilatador, formado por la descarboxilación de un aminoácido básico, su liberación en grandes cantidades forma parte de la respuesta alérgica, además de que estimula la secreción ácida del estómago.
- 35** La histidinemia es una enfermedad metabólica hereditaria rara, caracterizada por una deficiencia de la enzima histidasa, necesaria para la eliminación de NH_3 del aminoácido _____ que después de varios pasos metabólicos forma ácido glutámico; la concentración del sustrato se eleva en la sangre y se excretan cantidades excesivas por orina; la enfermedad puede, en ocasiones, producir retraso mental y un defecto del habla.

VERTICALES

- 2** La 5-hidroxitriptamina (5-HT) es una amina producida por la descarboxilación de 5-hidroxitriptófano derivado del triptófano, es un neurotransmisor que se encuentra en varias células del sistema nervioso central, tiene diversas funciones, entre otras regular el apetito, controlar la temperatura corporal, interviene como reloj biológico al determinar los ciclos de sueño y vigilia.
- 3** Es una enzima presente en *E. coli* y *Proteus vulgaris* entre otras bacterias, que separa la cadena lateral del núcleo indol del triptofano; su medición es utilizada para determinar la frescura de mariscos como el camarón y cangrejo.
- 4** En el ciclo del ácido _____ -que está ausente en los vertebrados- intervienen, entre otras enzimas, dos liasas (la isocitrato liasa y la malato sintasa), las que permiten que se realice la gluconeogénesis que tiene como finalidad sintetizar hexosas y sacarosa.

- 8** Enzimas que catalizan las reacciones de síntesis sin utilizar ATP u otro nucleósido trifosforilado; un ejemplo es la enzima que da lugar al citrato en la mitocondria.
- 9** Primer nucleótido pirimidinico que se sintetiza a partir de carbamoil fosfato y aspartato, después de varias reacciones forma orotato que se conjuga con fosforribosil pirofosfato; la etapa final de la síntesis es por la participación de la descarboxilasa del orotidilato; la enfermedad genética aciduria orótica se debe a que hay eliminación excesiva de ácido orótico lo que ocasiona retraso en el crecimiento y anemia.
- 11** Liasa del ciclo de la urea que se ocupa de romper a su sustrato ocasionando la formación de fumarato y arginina que es el precursor inmediato de la urea, esta enzima se encuentra ampliamente distribuida en riñón, cerebro e hígado.
- 12** Aminoácido dicarboxílico sobre del cual pueden actuar la α o β descarboxilasas y como resultado se tendrá α - o β -alanina
- 14** El pirofosfato de _____ es la coenzima de la piruvato descarboxilasa al participar en la reacción de rotura del enlace adyacente al grupo carbonilo.
- 16** El óxido _____ es un radical libre ($\cdot\text{N}=\text{O}$) considerado como un factor que contribuye a la destrucción de la capa de ozono en la atmósfera, mientras que en los mamíferos se sintetiza a partir de arginina, es una molécula señaladora presente en el sistema nervioso central, se cree que interviene en la destrucción de macrófagos de células cancerosas, en la regulación de la presión sanguínea y en la inhibición de la coagulación.
- 17** La cisteína _____ permite la pérdida del grupo sulfhidrilo del aminoácido, el producto mediante una reacción de transaminación da lugar a ácido pirúvico.
- 18** Son las liasas que rompen la unión C-N, una de ellas, la argininosuccinato liasa del ciclo de la urea, rompe al sustrato y da lugar a L-arginina y a fumarato.
- 19** Metabolito que conjunta productos de desecho, su síntesis se lleva a cabo en los hepatocitos con los productos de desaminación y descarboxilación de los aminoácidos.
- 22** Hormona responsable de los caracteres sexuales secundarios masculinos, su síntesis se realiza a partir de la progesterona con la participación de las enzimas 17- α -hidroxilasa y 17,20-liasa.
- 24** La desaminación _____ del glutamato da lugar a la formación de α -cetoglutarato y NH_4^+ .
- 26** Aminoácido que por la acción de su descarboxilasa (EC 4.1.1.18) da lugar a una diamina de olor desagradable llamada cadaverina ($\text{H}_2\text{N}-(\text{CH}_2)_5-\text{NH}_2$).
- 27** El ácido hidroxycítrico presente en la planta *Garcinia cambogia* es un _____ competitivo de la ATP-citrato liasa que cataliza en el citosol la conversión de citrato y CoA en oxalacetato y acetil CoA, esta reacción disminuye los depósitos de acetil CoA lo que produce una disminución en la concentración de malonil CoA y de ahí una disminución en la lipogénesis.
- 29** Las _____-liasas son enzimas que permiten la formación de un aldehído después de la ruptura de una unión C-C; un ejemplo de estas enzimas es la que rompe la fructosa-1,6-bisfosfato en dihidroxiacetona 3-fosfato y D-gliceraldehído 3-fosfato.
- 30** En anaerobiosis la descarboxilasa que actúa sobre este sustrato libera CO_2 y da lugar a acetaldehído, el cual por la acción de la alcohol deshidrogenasa sintetiza etanol.
- 31** Grupo de enzimas (descarboxilasas, hidratasas, deshidratasas, desaminasas y sintasas) que catalizan las reacciones en las que se eliminan ya sea agua, CO_2 o NH_3 del sustrato y se forman dobles enlaces; tienen como característica de que para degradar a un sustrato no requieren la presencia de ninguna otra molécula.
- 33** En su forma β - se produce por la descarboxilación del ácido aspártico, este aminoácido también se produce por la vía catabólica del uracilo; forma parte del ácido pantoténico que es uno de los componentes de la coenzima A.

FUNCIONES NOVEDOSAS DE LOS LÍPIDOS NUCLEARES

Iliana Herrera¹, Eduardo Rodríguez Correa²,
Alberto Vázquez Salazar³, Manuel Alejandro Semán Senderos²

¹Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias; ²Departamento de Genética Molecular, Instituto de Fisiología Celular; ³Departamento de Neuropatología Molecular, Instituto de Fisiología Celular

La idea de que los lípidos y sus metabolitos regulan un mosaico de funciones celulares no es novedosa, sin embargo, estas funciones tradicionalmente se relacionaron con los lípidos que componen la membrana plasmática, por lo que en procesos como la transducción de señales, aquellos que forman la membrana de los organelos celulares tomaron un rol secundario.

A inicios de la década de los 90, diferentes estudios demostraron la presencia de un metabolismo lipídico similar al observado en membrana plasmática en el núcleo. Esto, junto con otras observaciones, llevó a pensar que las novedosas funciones de estas moléculas no eran privativas a su localización celular.

Estas observaciones han sentado una línea de investigación latente con más preguntas que respuestas, pero que ha logrado acumular evidencia suficiente para postular a sus primeros candidatos como moduladores de funciones nucleares y celulares.

La vía del PI es el sistema de transducción de señales mediado por lípidos más estudiado en la membrana plasmática. El modelo propuesto desde principios de los 80 es el siguiente: el fosfatidilinositol (PI) una vez que ha sido fosforilado en las posiciones 4 y 5 del inositol (PIP₂), es hidrolizado por la fosfolipasa C (PLC), esto genera inositol trifosfato (IP₃) que activa canales de Ca⁺² en el retículo endoplásmico, y diacilglicerol (DAG) que junto al aumento de Ca⁺² citosólico activan a la proteína cinasa C (PKC), una cinasa con variadas funciones dentro de la célula. Esta vía fue el primer sistema descrito para señalización nuclear, en este caso tanto la PLC como la PKC translocan al núcleo para llevar a cabo sus funciones.

Los primeros experimentos que demostraron la presencia de metabolismo lipídico en el núcleo se realizaron al estimular células con diferentes factores de crecimiento, como el "insulin-like growth factor-1" (IGF-1), fue por esto que se buscó un

cambio en la concentración del DAG y del IP₃ durante diferentes etapas del ciclo celular.

Se observó que existe un incremento de DAG en el periodo de transición hacia la división celular. Interessantemente, esto no sólo correlaciona con la translocación de la PKC al núcleo; sino que, si se inhibe la PLC nuclear, no hay progresión del ciclo celular.

Ambos resultados indican una participación vital de la vía del PI sobre el control del ciclo celular. La evidencia apunta a que esto se debe a los blancos nucleares de la PKC, en particular la laminina B, que en su estado fosforilado está involucrada en la desintegración de la envoltura nuclear y de manera indirecta la proteína del retinoblastoma, cuya activación es vital para que exista división celular, además de la acción del Ca⁺², movilizado por el IP₃, que tiene un efecto sobre la regulación de la expresión génica y otros procesos nucleares.

Aunque la acción del Ca⁺² está clara, el mecanismo de movilización plantea varias preguntas ya que aunque el núcleo y el citoplasma son espacios topológicamente equivalentes los incrementos en la concentración de este ion no son homogéneos, esto indica la existencia de un proceso de movilización con especificidad nuclear, sin embargo todavía no existe evidencia clara sobre qué regula el proceso o qué proteínas están involucradas.

Interessantemente el PIP₂ nuclear sin acción de la PLC también regula varios procesos, pues se le ha encontrado unido a la histona H1, e *in vitro* previene la inhibición de la transcripción asociada con esta histona; por otra parte ha sido propuesto como relevante en el splicing de mRNA, ya que coimmunoprecipita con el complejo que lleva a cabo el proceso.

Otra adición de la vía de señalización nuclear del PI es que los derivados polifosforilados del IP₃ (IP₄, IP₅, IP₆) son relevantes en la exportación del mRNA al citosol y en la remodelación de la cromatina.

Estos sistemas son revisados extensivamente en referencia 1.

Otros lípidos

Un avance particularmente emocionante en el campo fue la descripción reciente de que metabolitos de esfingolípidos, en particular la esfingosina-1-fosfato (S1P), son inhibidores endógenos de complejos de desacetilasas de histonas (HDAC's). Esto tiene un gran impacto sobre la regulación de una gran cantidad de genes manteniéndolos transcripcionalmente activos (2).

Regulación de los lípidos nucleares

La regulación de los procesos que se han descrito es de alta relevancia debido al tipo de funciones celulares en los que están involucrados; los estudios en los que se utilizaron factores de crecimiento para estimular estos procesos propusieron a la vía de las MAPK/ERK cinasas como la reguladora principal, pues es una vía activada por los receptores membranales de varios factores de crecimiento y regula, entre otros procesos, la división celular.

Estudios tanto en la vía del PI como en la de la S1P observaron una disminución considerable en la concentración de metabolitos nucleares al utilizar inhibidores de las MAPK/ERK cinasas, se propone para la vía del PI que esto se debe a que estas cinasas fosforilan a la PLC y esto le permite ser trasladada al núcleo. Aunque el mecanismo para la S1P se desconoce, no sería sorprendente hallar un mecanismo similar.

Figura 1. Diferentes funciones de los lípidos nucleares. Las funciones de los lípidos nucleares son reguladas por las cinasas MAPK/ERK ("mitogen activated protein kinase") que fosforilan a la PLC (fosfolipasa C), ésta entra al núcleo donde sintetiza DAG (diacilglicerol) e IP₃ (inositol trifosfato); el DAG activa a la PKC (proteína cinasa c) que, a su vez, fosforila a la laminina B y activa de manera indirecta a la pRb (proteína del retinoblastoma). Por otra parte, el IP₃ (inositol trifosfato) puede movilizar Ca²⁺ al interior del núcleo o ser sustrato de consecuentes fosforilaciones para convertirse en IP₄, IP₅ ó IP₆, involucrados en la exportación de mRNA y remodelación de cromatina. En el caso de la esfingomielina, se procesa para dar esfingosina que después se fosforila creando S-1-P (esfingosina-1-fosfato) que inhibe a los complejos de desacetilasas de histonas. P: Fosfato

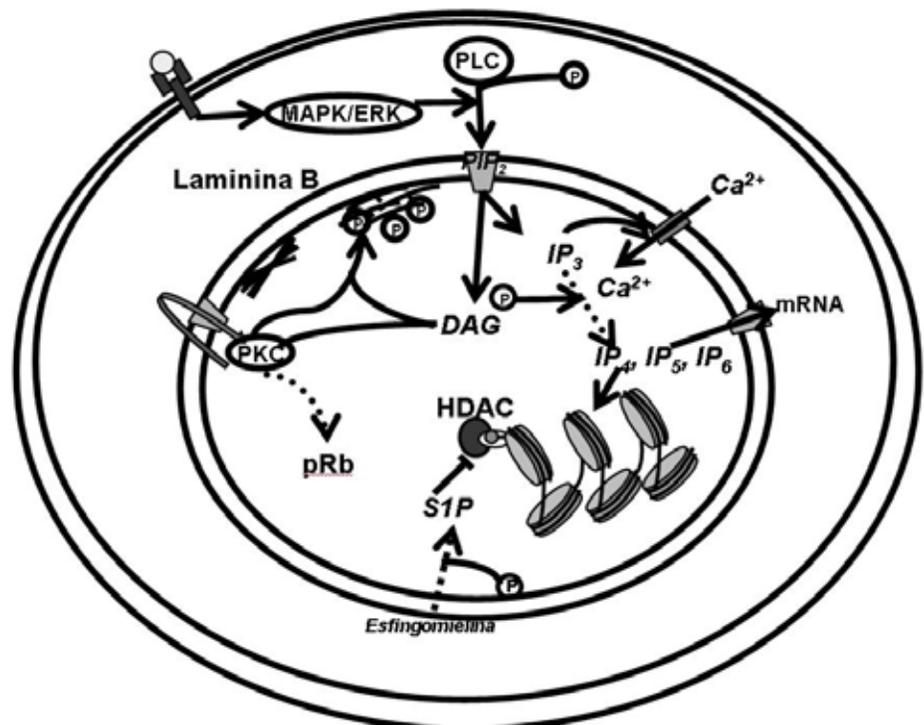
Conclusiones y Perspectivas

En resumen, los lípidos nucleares parecen ser candidatos interesantes implicados en la regulación de variados procesos como la regulación epigenética, la división celular y el metabolismo del RNA, lo que indica que estos lípidos pueden ser indispensables para la fisiología celular (Fig. 1).

Se están desarrollando nuevas hipótesis sobre las funciones de los lípidos nucleares y la comunicación entre núcleo y citoplasma, lo que ofrece una oportunidad para responder incógnitas en varios campos de la biología celular. Si lo que hemos aprendido es un indicio de lo que está por venir, es muy probable que los lípidos nucleares sean parte central de las respuestas. 

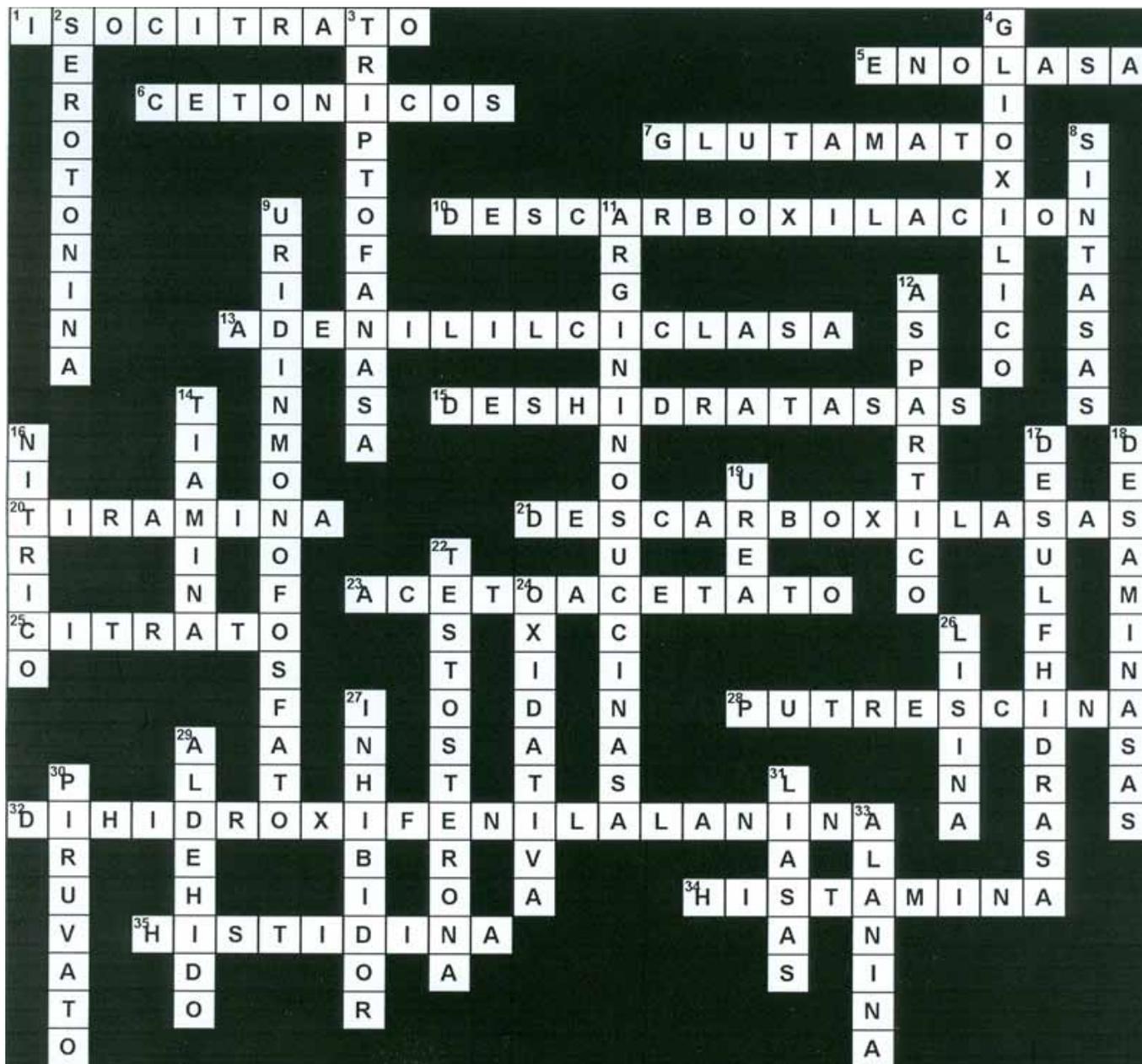
Referencias

1. Irvine RF (2003) Nuclear Lipid Signalling. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 4 (5):349-360
2. Hait NC, Allegood J, Maceyka M, Strub GM, Harikumar KB, Singh SK, Luo C, Marmorstein R, Kordula T, Milstien S, Spiegel S (2009) Regulation of histone acetylation in the nucleus by sphingosine-1-phosphate. *Science* 325:1254-1257



SOLUCIÓN AL CRUCIBIOQ ENZIMAS: LIASAS

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



AVISO A LOS MIEMBROS DE LA ASOCIACIÓN MEXICANA DE PROFESORES DE BIOQUÍMICA, A. C.

Debido a la oportunidad que tuvo el Presidente electo de la Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, A. C. para el bienio 2010-2012, Dr. Carlos Josué Solórzano Mata de disfrutar de una estancia posdoctoral en el extranjero y debido a la imposibilidad de ocupar el puesto en esas condiciones, el Consejo Consultivo formado por los ex-Presidentes: Dra. Yolanda Saldaña Balmori (1994-1996 y 2003-2007), Dr. Marco Antonio Juárez Oropeza (2001-2003) y la actual Presidenta M. en C. Leonor Fernández Rivera-Río (2007-2010), apoyándonos en los capítulos Décimo y Undécimo de los Estatutos de la Asociación, publicados en la Revista de Educación Bioquímica [REB 28(1):19-26, 2009] que dicen:

ARTÍCULO DÉCIMO. El Consejo Consultivo estará formado por los ex-Presidentes que acepten por escrito formar parte de este Consejo. Asesorará a la Mesa Directiva de la Asociación, además de que

podrá sugerir directrices en la conducción de la Asociación, preservación de la memoria de la Asociación y funcionará como Consejo Ético en caso necesario.

ARTÍCULO UNDÉCIMO. En ausencia del Presidente de la Asociación asumirá la dirección y coadyuvará con el resto de la Mesa Directiva en el proceso de elección de la nueva Mesa Directiva.

nos hemos permitido invitar, y afortunadamente contamos con la aceptación de la Dra. Sara Morales López para ocupar el cargo de Presidenta durante el periodo 2010-2012 que el Dr. Solórzano deja vacante, en el entendido que hará equipo con la Dra. María Esther Revuelta Miranda como la Secretaria-Tesorera durante el mismo periodo.

Atentamente
El Consejo Consultivo

XVIII CONGRESO DE LA ASOCIACIÓN MEXICANA DE PROFESORES DE BIOQUÍMICA, A. C.

EL XVIII CONGRESO DE LA ASOCIACIÓN MEXICANA DE PROFESORES DE BIOQUÍMICA A. C. SE LLEVARÁ A CABO LOS DÍAS 5 Y 6 DE AGOSTO DEL 2010 EN EL AULA MAGNA "JACINTO PALLARES" DE LA FACULTAD DE DERECHO DE LA UNAM, EN CIUDAD UNIVERSITARIA, CIUDAD DE MÉXICO.

CONVOCATORIA PARA PRESENTAR TRABAJOS

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

CARACTERÍSTICAS DE LOS TRABAJOS:

Los trabajos estarán clasificados en dos categorías diferentes:

- Investigación educativa.
- Innovación en métodos de enseñanza.

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

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

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

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

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

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

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

CUOTA DE INSCRIPCIÓN AL CONGRESO

	Cuota antes del 1 de Mayo del 2010	Cuota después del 1 de Mayo del 2010
Profesores asociados a la AMPB	\$300.00	\$400.00
Profesores de Bioquímica y de disciplinas afines	\$400.00	\$500.00

Para inscribir un trabajo hay que hacer lo siguiente:

1. Llenar la FICHA DE INSCRIPCIÓN (<http://www.ampbac.org>) con los datos del trabajo y de los autores.
2. Hacer un pago a la ASOCIACIÓN MEXICANA DE PROFESORES DE BIOQUÍMICA A. C. cuenta N° 0133718123 del Banco BBV Bancomer (o transferencia bancaria CLABE 012 180 00133 718 1237) por la cantidad la cantidad correspondiente a la inscripción.
3. Enviar el trabajo con las características señaladas anteriormente, acompañado de su ficha de inscripción con los datos de el autor o autores del trabajo y la ficha de pago o la transferencia bancaria a ampb_ac@laguna.fmedic.unam.mx dirigido a la Srita. Marivel Rojas García.
4. La fecha límite para inscribir un trabajo es el 1 de Junio del 2010.



XVIII CONGRESO

ASOCIACIÓN MEXICANA DE PROFESORES DE BIOQUÍMICA A. C.

QUE SE LLEVARÁ A CABO EL 5 Y 6 DE AGOSTO DEL 2010.
EN EL AULA MAGNA "JACINTO PALLARES"
EN LA FACULTAD DE DERECHO DE LA UNAM.

SIMPOSIO SÍNDROME METABÓLICO

Dr. Marco Antonio Juárez Oropeza	Aspectos epidemiológicos y diagnósticos
M. C. Aldo Ferreira Hermosillo	Aspectos clínicos y endocrinos
M. C. Leobardo Valle Molina	Aspectos cardiovasculares
M. C. José Luis Galván Barahona	Aspectos nutrimentales
Dra. Patricia Victoria Torres Durán	El modelo experimental y la terapéutica

CONFERENCIAS

Dra. Cecilia Zazueta	Cinasas de supervivencia ERK1/2 en la cardio-protección conferida por el post- acondicionamiento en corazones con hipertrofia y falla cardiaca.
Dra. Sara Morales	La integración en las ciencias médicas.
Dr. Rogelio Lozano	Estrategias para favorecer la transferencia en Bioquímica

PRESENTACIÓN DE TRABAJOS ORALES Y EN CARTEL

FECHA LÍMITE PARA INSCRIPCIÓN DE TRABAJOS:
30 DE JULIO DEL 2010.

INFORMES E INSCRIPCIONES: Sra. Marivel Rojas,
Tel 55 56232178, e-mail ampb_ac@laguna.fmedic.unam.mx

COMITÉ ORGANIZADOR: M. en C. Leonor Fernández Rivera Río
Tel. 55 56232304, 04455 3731-9252 , e-mail leonor_fernandez@hotmail.com

SOCIEDAD MEXICANA DE BIOQUÍMICA • AC



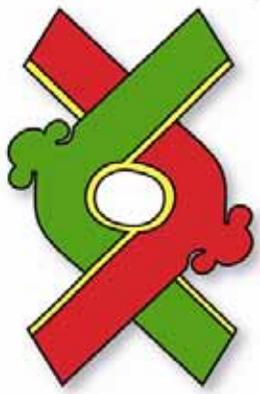
XXVIII

Congreso

7 • 12 de noviembre • 2010

Tuxtla Gutiérrez • Chiapas

SMB



Sociedad Mexicana de Bioquímica





TUXTLA GUTIÉRREZ • CHIAPAS • 2010

<http://www.smb.org.mx/>

smbq@ifc.unam.mx



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

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

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

I. ARTÍCULOS DE REVISIÓN

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

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

Los artículos en libros deberán citarse de la siguiente forma:

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

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

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

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

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

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

II) OTRAS COMUNICACIONES

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

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

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