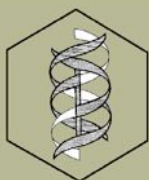


Revista de Educación Bioquímica

REB 2019



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



Asociación Mexicana de
Bioquímica, A.C.

Departamento de Bioquímica
Facultad de Medicina
UNAM

Facultad de Medicina



EDITADO DESDE 1982 COMO BOLETÍN DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA

COMITÉ EDITORIAL

EDITOR EN JEFE

JOSÉ VÍCTOR CALDERÓN SALINAS

Departamento de Bioquímica
Centro de Investigación y de Estudios Avanzados

EDITORES

RAFAEL CAMACHO CARRANZA

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

KARLA GUADALUPE CARVAJAL AGUILERA

Instituto Nacional de Pediatría

ALICIA GAMBOA DE BUEN

Instituto de Ecología
Universidad Nacional Autónoma de México

MARCO ANTONIO JUÁREZ OROPEZA

Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

MARÍA ESTHER REVUELTA MIRANDA

Sección Bioquímica y Farmacología Humana
Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán

ROCÍO SALCEDA SACANELLES

Instituto de Fisiología Celular
Universidad Nacional Autónoma de México

YOLANDA SALDAÑA BALMORI

Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

VÍCTOR M. VALDES LÓPEZ

Facultad de Ciencias
Universidad Nacional Autónoma de México

ÁNGEL ZARAIN HERZBERG

Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

EDITORES FUNDADORES

GUILLERMO CARVAJAL SANDOVAL

Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias
e Instituto Politécnico Nacional

JESÚS MANUEL LEÓN CÁZARES

Facultad de Ciencias Naturales
Universidad Autónoma de Querétaro

ENRIQUE PIÑA GARZA

Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

YOLANDA SALDAÑA BALMORI

Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

SERGIO SÁNCHEZ ESQUIVEL

Instituto de Investigaciones Biomédicas
Universidad Nacional Autónoma de México

CORRESPONSALES

ROCÍO SALCEDA SACANELLES

Coordinadora
Instituto de Fisiología Celular
Universidad Nacional Autónoma de México

ALEJANDRO MARTÍNEZ MARTÍNEZ

Instituto de Ciencias Biomédicas
Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, Chihuahua

SERGIO SÁNCHEZ-ARMÁSS ACUÑA

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

MARTHA ANGÉLICA QUINTANAR ESCORZA

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

MARÍA MALDONADO VEGA

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

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

REVISTA DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA (REB), Volumen 38, Número 2, junio de 2019, publicación trimestral, editada por Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, A.C., Avenida Universidad No. 3000, Colonia Universidad Nacional Autónoma de México, Delegación Coyoacán, C.P. 04510. Ciudad de México, México. Correspondencia: Apartado Postal 70-281, Coyoacán, C.P. 04510, Ciudad de México, México. Correo E: reb@bq.unam.mx
<http://www.facmed.unam.mx/publicaciones/ampb/index.html>

Editor responsable Dr. José Víctor Calderón Salinas. ISSN: 1870-3690. Reserva de derechos al Uso Exclusivo No. 04-2015-113014523300-203, ambos otorgados por el Instituto Nacional del Derecho de Autor. Diseño: Celia Virginia Sánchez Meza, Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, UNAM. Disponible en junio del 2019.

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

CONTENIDO

COMITÉ EDITORIAL

EDITORIAL

LOS ETIQUETADOS NUTRIMENTALES DE ALIMENTOS Y BEBIDAS INDUSTRIALIZADOS: UN ASUNTO DE INTERÉS CIENTÍFICO Y DE SALUD PÚBLICA
Evelia Apolinar-Jiménez.....35

ARTÍCULOS

LA ENDOCITOSIS EN PLANTAS (PARTE II): COMO ESTUDIARLA UTILIZANDO INHIBIDORES
María Fernanda Gómez-Méndez,
Raúl Dávila-Delgado,
Rosana Sánchez-López,
Rosario Vera-Estrella.....38

EL PAPEL DE LAS GALNAC-TRANSFERASAS EN EL DESARROLLO DEL CÁNCER DE MAMA
Luis Miguel García Cruz,
Jesús Hernández Juárez,
Berenice Fernández Rojas,
Pedro Antonio Hernández Cruz,
Eduardo Pérez Campos Mayoral y
Itandehui Belem Gallegos Velasco.....48

OTRAS COMUNICACIONES

CRUCIBIOQ
CONCEPTOS DE BIOLOGÍA CELULAR
Yolanda Saldaña Balmori.....57

SYDNEY BRENNER: EL HOMBRE VISIONARIO QUE NOS HIZO MIRAR AL *Caenorhabditis elegans*
Laura Silvia Salinas y
Rosa Estela Navarro.....60

SOLUCIÓN AL CRUCIBIOQ
CONCEPTOS DE BIOLOGÍA CELULAR
Yolanda Saldaña Balmori.....62

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

EDITORIAL

LOS ETIQUETADOS NUTRIMENTALES DE ALIMENTOS Y BEBIDAS INDUSTRIALIZADOS: UN ASUNTO DE INTERÉS CIENTÍFICO Y DE SALUD PÚBLICA

Las enfermedades crónicas no transmisibles (ECNT) en la actualidad son, sin duda, el reto más importante para los servicios de salud. La Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de Medio Camino 2016, documentó prevalencias acumuladas de sobrepeso y obesidad del 72.5% en adultos mayores de 20 años de edad, y de alrededor de 35% entre escolares y adolescentes. Además, el 9.4% de la población reportó tener un diagnóstico previo de diabetes, de ellos apenas el 15% notificó tener un estudio de hemoglobina glicada en el último año, sin contar a quienes ya padecen diabetes, pero no lo saben, ni a aquellos que tienen prediabetes y que eventualmente desarrollarán esta condición (1). Se ha repetido múltiples veces y en diversos medios, académicos y de divulgación, que en poco tiempo no tendremos sistema de salud que alcance a cubrir las demandas de atención derivadas de las complicaciones de estas patologías.

Entendemos que la obesidad, definida como exceso de tejido adiposo, es una de las principales causas de enfermedades cardiometabólicas y que es resultado de un consumo excesivo de kilocalorías. Es decir, atendiendo a la primera ley de la termodinámica, un balance positivo de energía, consecuencia de una ingesta mayor a la gastada a través del metabolismo, la termogénesis y la actividad física, será almacenada sobre todo en forma de grasa, dando lugar al desarrollo de obesidad. Sin embargo, algunos componentes de los alimentos y bebidas, presentes particularmente en los ultra procesados, pueden promover obesidad y enfermedad cardiometabólica a partir de mecanismos que no están mediados exclusivamente por la ingesta desmesurada de calorías. Múltiples trabajos de investigación exploran la posibilidad de que la respuesta a ciertos componentes dietéticos y a algunos patrones de alimentación, están influenciados por el estado metabólico, el periodo de desarrollo o el genotipo individual, por la capacidad de respuesta de algunas regiones del

cerebro asociadas con la recompensa a las señales de los alimentos y por la participación que tiene el microbioma en el metabolismo energético (2).

Hoy, tras más de seis décadas de investigaciones, sabemos que consumos elevados de las grasas de la dieta están asociados con mayor riesgo de enfermedad cardiovascular y muerte prematura; estos riesgos, dependen del tipo y la cantidad de grasa, así como de otros factores, como la clase de hidratos de carbono presentes en la alimentación y los propios patrones dietéticos. La evidencia actual señala que disminuir la ingesta de grasas saturadas y reemplazarlas con grasas poliinsaturadas confiere una pequeña reducción en el riesgo cardiovascular (3).

Sin embargo, aún más que las saturadas, las grasas dietéticas que preferentemente se asocian con enfermedad cardiometabólica son las grasas trans, en particular las que se producen industrialmente. Los ácidos grasos insaturados *trans* (AGT) se forman mediante hidrogenación parcial de aceites vegetales, en presencia de un catalizador metálico, en condiciones de vacío y alta temperatura; tienen al menos un doble enlace en configuración *trans* y son ampliamente usados en la industria de alimentos (4). Se ha descrito que la ingesta de AGT está asociada con hipercolesterolemia, incremento en las concentraciones sanguíneas de colesterol-LDL y disminución del colesterol-HDL, también con aumento en las concentraciones séricas de fibrinógeno y otros marcadores de inflamación sistémica, tales como la interleucina (IL) 1 β , antagonista del receptor de IL-1, IL-10, factor de necrosis tumoral (TNF, por sus siglas en inglés), receptor de TNF 1, receptor de TNF 2, proteína quimiotáctica de monocitos 1 y péptido natriurético cerebral; así como con enfermedad cardiovascular (5).

Los azúcares contenidos en diferentes formas químicas en alimentos y bebidas industrializados,

también están asociados con enfermedad cardiometabólica, en realidad, son los azúcares añadidos los que han mostrado esta asociación (2). Los más utilizados son: sacarosa, glucosa, fructosa y especialmente el jarabe de maíz de alta fructosa (HFCS, por sus siglas en inglés). En diversos estudios se ha mostrado que el consumo de edulcorantes con fructosa, sacarosa o HFCS, comparado con ingestas isocalóricas de almidón, incrementa factores de riesgo para enfermedad cardiometabólica al inducir sobrecarga hepática de fructosa, lo cual acrecienta la lipogénesis *de novo*, eleva la concentración de grasa hepática, inhibe la oxidación lipídica y aumenta la producción y secreción de lipoproteínas de muy baja densidad (6). Estas alteraciones hepáticas, relacionadas con riesgo cardiometabólico, pueden ocurrir aún en ausencia de un balance positivo de energía y por tanto sin ganancia ponderal en los individuos.

La dieta occidental es un patrón dietético distribuido ampliamente en todo el mundo, incluye un consumo elevado de alimentos ultra procesados, con un alto contenido de grasas saturadas, grasas *trans*, azúcares y sodio. Desde hace casi tres décadas este patrón de alimentación se ha vuelto cada vez más común en nuestro país, hasta prácticamente desplazar a la dieta tradicional mexicana, especialmente en los entornos urbanos, con un aumento preocupante también en las zonas rurales. Expertos en alimentación y salud pública indican que, en los últimos 25 años, ocurrió una reducción cercana al 10% en la compra de alimentos básicos, en tanto se incrementó casi en 40% el consumo de alimentos fuera del hogar, además de aumentos de más del 20% en el gasto de alimentos no básicos altos en calorías. Estos modelos de consumo están claramente asociados a mayor riesgo cardiometabólico y, por tanto, con mayor riesgo de desarrollar ECNT (7).

¿Y cómo transferimos estos conocimientos bioquímicos y epidemiológicos al usuario para sus decisiones conscientes?

Las empresas informan el contenido nutricional de los productos ultra procesados en las etiquetas impresas en los empaques de alimentos y bebidas industrializados, ofrecen la información sobre el contenido de energía y la composición de nutrimentos. Como medida regulatoria, a partir del 2015 la Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios (COFEPRIS) estableció que, en México, este etiquetado estuviera basado en las Guías Diarias de Alimentación (GDA). Este sistema de etiquetado frontal nutrimental fue

desarrollado en Europa por el Insitute of Grocery Distribution, organización que, cabe señalar, se dedica a la investigación financiada por las industrias de las tiendas de autoservicio, así como por la de alimentos y bebidas. Las etiquetas GDA son unos ovoides impresos en la parte frontal de los empaques, que indican el contenido de grasas saturadas, azúcares totales, sodio y energía, tanto en kilocalorías como en porcentaje para una ingesta diaria de 2,000 Kcal. Si bien estas viñetas hacen énfasis en el contenido de algunos nutrimentos que se asocian con el desarrollo de ECNT, no distingue entre azúcares totales y azúcares añadidos, no señala el contenido de grasas *trans*, y el común de la población no sabe, y no tendría por qué saber, si 238 mg de sodio o 436 Kcal en una porción (de galletas, embutidos, refresco o de cualquier alimento o bebida industrializado) es mucho o poco, es decir, si es inocuo o puede causar daño.

Después de todo lo señalado, queda clara la importancia de informar a los consumidores, el contenido de nutrimentos potencialmente perjudiciales para la salud. Contar con un etiquetado nutrimental es, además, una medida costo-efectiva útil en el control poblacional de la obesidad y las ECNT. Sin embargo, esta información debe ser clara, útil para una toma de decisiones al momento de elegir los alimentos que se compran en el comercio. El etiquetado actual, basado en las guías GDA no cumple ese cometido, es más parecido a un catálogo bioquímico de una sustancia de laboratorio e intencionalmente diseñado para iniciados. La experiencia en Chile es ahora un paradigma internacional de cómo deben ser las etiquetas en estos productos: hexágonos negros que advierten a los consumidores si el producto es alto en azúcares añadidos, grasas saturadas, energía y sodio. La OPS ha recomendado este etiquetado de advertencia como el mejor para ser implementado en toda la Región de las Américas. Además, los puntos de corte deben estar basados en recomendaciones internacionales y nacionales, como las establecidas por la OMS, la OPS y la Academia Nacional de Medicina, y no como ocurre ahora, diseñada por instituciones ligadas a la industria de alimentos y bebidas, con un claro conflicto de interés (8).

Las epidemias de obesidad y diabetes en nuestro país son un problema grave y complejo que requiere de acciones igual de complejas para atenderlo (9). No es sólo resultado de un balance de energía positivo, sino que obedece, entre muchas otras causas, a complejas interacciones entre genes, ambiente, alimentación y actividad física. Es importante que la población en general cuente

con herramientas al alcance de sus decisiones cotidianas, que permitan hacer mejores elecciones al comprar alimentos y bebidas, que le permitan identificar el posible riesgo del consumo de grasas trans o de jarabe de alta fructosa. Tener un etiquetado de advertencia, como el chileno, es una de esas medidas que puede ayudar en el control de las ECNT, enfermedades que, sabemos, ya tienen en serios problemas de sostenibilidad a nuestro sistema de salud.

LNCA Evelia Apolinar-Jiménez, MIC
Investigadora en Ciencias Médicas A
Unidad de Metabolismo y Nutrición
Hospital Regional de Alta Especialidad del Bajío
CCINSHAE
eve.apolinar@gmail.com

1. Kuri Morales P, Ruiz Matus C, Corona MEJ. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de Medio Camino 2016. Inst Nac Salud Pública. 2016;2016:151.
2. Stanhope KL, Goran MI, Bosy-Westphal A, King JC, Schmidt LA, Schwarz J-M, et al. Pathways and mechanisms linking dietary components to cardiometabolic disease: thinking beyond calories. *Obes Rev*. 2018 Sep 1;19(9):1205–35.
3. Hooper L, Martin N, Abdelhamid A, Davey Smith G. Reduction in saturated fat intake for cardiovascular disease. *Cochrane Database Syst Rev*. 2015 Jun 10;(6).
4. de Souza RJ, Mente A, Maroleanu A, Cozma AI, Ha V, Kishibe T, et al. Intake of saturated and trans unsaturated fatty acids and risk of all cause mortality, cardiovascular disease, and type 2 diabetes: systematic review and meta-analysis of observational studies. *BMJ*. 2015 Aug 11;351:h3978.
5. Mayes PA. Intermediary metabolism of fructose. *Am J Clin Nutr*. 1993 Nov 1;58(5):754S–765S.
6. Rivera Dommarco JA, Colchero MA, Duentes ML, González de Cosío Martínez T, Aguilar Salinas CA, Hernández Licona G BS (eds). *La Obesidad en México. Estado de la política pública y recomendaciones para su prevención y control*. Primera. Cuernavaca: Instituto Nacional de Salud Pública; 2018. 1-273 p.
7. Kaufer-Horwitz M, Tolentino-Mayo L, Jáuregui A, Sánchez-Bazán K, Bourges H, Martínez S, et al. Sistema de etiquetado frontal de alimentos y bebidas para México: una estrategia para la toma de decisiones saludables. *Salud Publica Mex*. 2018 Jun 28;60(4, jul–ago):479.
8. Barquera S, White M. Treating Obesity Seriously in Mexico: Realizing, Much Too Late, Action Must Be Immediate. *Obesity*. 2018 Oct 1;26(10):1530–1.

LA ENDOCITOSIS EN PLANTAS (PARTE II): COMO ESTUDIARLA UTILIZANDO INHIBIDORES*

**María Fernanda Gómez-Méndez, Raúl Dávila-Delgado,
Rosana Sánchez-López, Rosario Vera-Estrella**

Departamento de Biología Molecular de Plantas, Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México, Avenida Universidad 2001, Colonia Chamilpa, Cuernavaca, Morelos 62210, México. Correo E: rosario@ibt.unam.mx

RESUMEN

La endocitosis es un mecanismo fundamental para la fisiología de las células eucariotes. En plantas, el estudio de la endocitosis se ha desarrollado a partir de la caracterización de mutantes, el uso de técnicas bioquímicas, microscópicas y por medio del uso de agentes químicos que actúan sobre la maquinaria endocítica, típicamente inhibidores del proceso endocítico. Utilizando estas metodologías ha sido posible explorar la endocitosis en plantas, y subsecuentemente ha permitido entender la importancia de este proceso y agilizar su caracterización a nivel molecular y celular. En esta revisión se resumen los agentes químicos más utilizados para el estudio de la endocitosis en plantas, y se explica su origen, su efecto y la importancia de su uso para continuar la investigación en esta área de la biología vegetal.

ABSTRACT

Endocytosis is a fundamental mechanism for the physiology of eukaryotic cells. In plants, the study of endocytosis has been developed from the characterization of mutants, the use of biochemical, microscopic techniques and using chemical agents that act on the endocytic machinery, typically inhibitors of the endocytic process. Using these methodologies, it has been possible to explore the endocytosis in plants, and subsequently it has allowed to understand the importance of this process and to speed up its characterization at the molecular and cellular level. This review summarizes the most commonly used chemical agents for the study of endocytosis in plants, and explains their origin, their effect and the importance of their use to continue research in this area of plant biology.

INTRODUCCIÓN

La endocitosis es el proceso por el cual las células eucariontes internalizan componentes de la membrana plasmática (MP) y/o material del espacio extracelular al citosol, a través de la invaginación de la bicapa lipídica, lo cual da lugar a una estructura tipo fosa, que posteriormente culmina en la formación de vesículas endocíticas. Estas vesículas, una vez liberadas, se fusionan con compartimentos intracelulares llamados endosomas, los cuales permiten dirigir las moléculas endocitadas o cargos hacia su degradación o reciclaje (1, 2). El proceso de endocitosis se observó por primera vez en el año

de 1866, por Metchnikoff, quien reportó la toma de material extracelular y su posterior degradación en diferentes especies de invertebrados infectados por hongos (1). A partir de este reporte y de la publicación de una gran cantidad de investigaciones, se ha logrado definir a la vía endocítica como un mecanismo molecular fundamental para mantener la homeostasis celular. Actualmente, se sabe que la endocitosis es un proceso que controla la composición de la MP, mantiene la polaridad celular, participa en la absorción de nutrientes, en la respuesta celular a toxinas y a patógenos y además funciona como una plataforma de señalización, debido a que regula la cantidad de receptores y

PALABRAS

CLAVE:

Células
vegetales,
endocitosis,
inhibidores
endocíticos.

KEY WORDS:

Plant cells,
endocytosis,
endocytic
inhibitors.

ligandos presentes en la MP, los cuales una vez que se endocitan activan cascadas de señalización (2). Mucho del conocimiento sobre la endocitosis se ha desarrollado utilizando levaduras y células animales (3). En las células animales, por ejemplo, se han reportado diferentes vías endocíticas, como la fagocitosis o aquellas dependientes e independientes de clatrina, caveolina y/o balsas lipídicas, las cuales difieren en el tamaño del material que se endocita, la maquinaria molecular implicada y la regulación necesaria para que estas vías funcionen (1, 3). El estudio de la endocitosis en plantas en un inicio era cuestionable debido a la presencia de la pared celular y a la alta presión de turgencia que mantienen estas células, lo que sugería el impedimento de la invaginación de la MP. Sin embargo, Hilmer y cols, utilizando conjugados de lectina y oro demostraron que el proceso de endocitosis si ocurre en las células vegetales y paralelamente se demostró que la endocitosis en plantas es energéticamente posible, incluso en las células guarda que tienen altos índices de presión de turgencia (4). Durante los últimos años, se ha logrado identificar a la endocitosis en plantas como un proceso fundamental que depende del tipo celular y que responde a moléculas de señalización y a estímulos medioambientales tales como la luz, los nutrientes y el estrés biótico y abiótico (2, 5). Mucho de este conocimiento, se ha logrado gracias al uso de mutantes y compuestos químicos o agentes farmacológicos, que inciden en un punto específico durante el proceso de endocitosis (2, 5, 6). Además, la capacidad de marcar a proteínas implicadas en la endocitosis con moléculas fluorescentes ha sido importante para la visualización de la endocitosis por medio de microscopía confocal. Aunado a esto, la combinación de la microscopía confocal con los compuestos químicos que afectan el proceso endocítico, ha permitido mejorar el entendimiento de la endocitosis en plantas, en los últimos años. En esta revisión se resumen los últimos avances en el área y la importancia del uso de estos agentes para la caracterización de la endocitosis en plantas.

METODOLOGÍAS PARA ESTUDIAR LA ENDOCITOSIS EN PLANTAS

Para estudiar la regulación temporal y espacial de la endocitosis en plantas, se han utilizado plantas mutadas en alguno de los genes implicados en la endocitosis (2, 5). La mayoría de estos análisis utilizaron mutantes por inserción de T-DNA, por ejemplo, las mutantes *clc-2*, *chc1* y *chc2* utilizadas para caracterizar funcionalmente las cadenas ligeras (CLC) y pesadas (CHC) de clatrina (para

mayor detalle ver "Endocitosis en plantas inducida por factores bióticos, abióticos y hormonas"). Otros ejemplos de mutantes que fueron claves para elucidar la función de algunos genes en la endocitosis son *bak1*, *epsin1*, *snx2b* y *trs1*, o las mutantes de *gnomR5* y *bor1-1* generadas por medio de etil-metano-sulfonato (2). Si bien, el uso de mutantes ha permitido conocer más acerca de la maquinaria endocítica en plantas, se ha reportado que mutaciones en genes importantes para el tráfico celular, en ocasiones producen fenotipos letales ya sea en los embriones o en estados tempranos de la germinación. Por otro lado, debido a la alta redundancia genética en plantas, la pérdida de función por una mutación ocasionalmente no produce fenotipos claros y provoca la necesidad de crear dobles o triples mutantes para el análisis de un gen, lo cual requiere largos periodos de análisis (6).

Metodologías alternativas a la mutación de genes para el estudio de la endocitosis, se desarrollaron a partir de la caracterización y el aislamiento del gen de la proteína verde fluorescente (GFP), y su posterior expresión en *Arabidopsis thaliana* (6). Realizando fusiones traduccionales entre la GFP o sus variantes fluorescentes y las proteínas que participan en la endocitosis, es posible marcar *in vivo* y visualizar el proceso endocítico y el sistema endomembranal de las células vegetales. Utilizando esta tecnología ha sido posible seguir a las proteínas residentes VHA1, RabA2 y RabA3 en la red del *trans*-Golgi (TGN, por sus siglas en inglés, Trans-Golgi Network) que en plantas también tiene la función de endosoma temprano (EE, por sus siglas en inglés, Early Endosome). Así mismo, el cuerpo multivesicular (MVB, por sus siglas en inglés, Multivesicular Body) que en plantas funciona como endosoma tardío (LE, por sus siglas en inglés, Late Endosome) se ha estudiado por medio de los marcadores RabF2a, RabF2b y ESCRT (2, 6). Aunado al uso de proteínas fluorescentes, se han utilizado ampliamente técnicas bioquímicas como el fraccionamiento subcelular, la inmunoprecipitación y el análisis proteómico para la identificación y caracterización de los componentes implicados en la endocitosis y sus efectos en las proteínas cargo, que regula esta vía celular (5).

La microscopía de fluorescencia es una de las técnicas más recurridas, ya que permite la visualización *in vivo* del proceso endocítico. Las técnicas microscópicas, como la microscopía confocal de barrido (LSCM, por sus siglas en inglés, Laser Scanning Confocal Microscopy) es una de las técnicas de microscopía de fluorescencia más utilizada, ya que permite visualizar y analizar la dinámica a nivel subcelular de la molécula marcada fluorescente-

mente, además, también permite hacer ensayos de co-localización entre dos o más moléculas marcadas (2). Para analizar la dinámica de las vesículas endocíticas y del sistema endosomal, la microscopía confocal de disco giratorio (SDCM, por sus siglas en inglés, Spinning-Disk Confocal Microscopy) ha ayudado a reducir el tiempo en la adquisición de datos y ha aumentado la resolución espacial, dos aspectos favorables en el estudio de la dinámica endocítica, sin causar daño foto-tóxico a la muestra (5). Metodologías complementarias a LSCM y SDCM se pueden encontrar en la microscopía de fluorescencia de reflexión interna total (TIRFM, por sus siglas en inglés, Total Internal Reflection Fluorescence Microscopy) y su variante, la microscopía de epifluorescencia de ángulo variable (VAEM, por sus siglas en inglés, Variable Angle Epifluorescence Microscopy), las cuales permiten observar eventos moleculares únicos y muy cercanos a la superficie celular. Por ello, estas metodologías son ideales para la observación y estudio de la endocitosis. Otro tipo de técnica microscópica útil para el análisis molecular de la endocitosis es la recuperación de la fluorescencia después del fotoblanqueamiento (FRAP, por sus siglas en inglés, Fluorescence Recovery After Photobleaching). El fotoblanqueo es la destrucción irreversible de un fluoróforo por una excesiva exposición a la luz. En FRAP, el fotoblanqueo se realiza en un punto muy específico de una célula en estudio dándole seguimiento a la recuperación de la fluorescencia en ese punto específico, generalmente por difusión del fluoróforo que se encuentra aledaño al punto de fotoblanqueo. Por lo tanto, FRAP permite determinar la dinámica y la difusión de proteínas (carga fluorescente) localizadas en la MP. (2). A la par de las técnicas microscópicas disponibles en la actualidad, se han desarrollado plataformas computacionales para el análisis cuantitativo de los datos obtenidos por estas tecnologías microscópicas (5).

BIOLOGÍA QUÍMICA Y SU USO EN EL ESTUDIO DE LA ENDOCITOSIS EN PLANTAS

Mucho del conocimiento que se tiene sobre la endocitosis (para más detalles ver la revisión "Endocitosis en plantas (parte i): inducida por factores abióticos, bióticos y hormonas"), se ha desarrollado gracias al uso de compuestos químicos que inciden en el proceso endocítico (6). Estos compuestos se pueden categorizar como (Fig. 1 y Tabla 1): a) marcadores fluorescentes, b) inhibidores del tráfico vesicular, c) inhibidores del citoesqueleto, y d) inhibidores de la endocitosis dependiente de clatrina o CME. A continuación, se explica el efecto de estos compuestos sobre la endocitosis en las células vegetales y las

aportaciones que se han logrado por medio de su uso.

La biología química describe el uso de compuestos químicos para evaluar fenómenos biológicos por diferentes técnicas de análisis, y representa una forma de análisis alternativa a las metodologías que utilizan la mutación de genes (6). En contraste a la bioquímica, que estudia la química de las biomoléculas y sus vías de regulación en las células, la biología química consiste en aplicar compuestos que permiten estudiar un proceso biológico. El uso de la biología química ha sido significativo para entender los mecanismos de transporte y de regulación a diferentes niveles del sistema endomembranal (2, 6). Por ejemplo, usando un compuesto que inhibe el proceso endocítico, se pueden realizar análisis rápidos, dosis-dependientes y reversibles, lo cual evita los problemas de letalidad y de redundancia genética. Además, combinando la biología química, con las técnicas microscópicas como LSCM y SDCM, ha sido posible observar y caracterizar *in vivo* los efectos de estos compuestos en las células vegetales y realizar el análisis de proteínas de interés (2). Muchos de estos compuestos se comenzaron a utilizar debido a que se conocía su efecto en células animales y levaduras. A continuación, se recapitulan los compuestos que han permitido el avance del estudio de la endocitosis en plantas.

a) Marcadores fluorescentes de la endocitosis.

Los marcadores recurrentemente utilizados para seguir el proceso de endocitosis son los colorantes fluorescentes anfipáticos y selectivos de membrana FM4-64 (N-(3-trietilamonio)propil)-4-(6-(4-dietilamino fenil hexatrienil) dibromo piridinio) y FM1-43 (N-(3-trietilamonio)propil)-4-(4-dibutylamino estirenil) dibromo piridinio). Estos compuestos fueron desarrollados por Betz y col, a partir de DASPMI (siglas de Dimetilaminoesterilmetilpiridinoamido) quienes los nombraron FM por la derivación del nombre Fei Mao, uno de los científicos que trabajaron en su desarrollo (7). Estos compuestos lipofílicos están formados por una cabeza di-catiónica, dos colas lipofílicas y un núcleo aromático. Son moléculas no-fluorescentes en medio acuoso, pero al unirse a la cara externa de la MP a través sus colas lipofílicas, un medio hidrofóbico, se tornan fluorescentes. Una vez que se unen a la capa lipídica, estos colorantes se internalizan por la vía endocítica y se distribuyen por el sistema endosomal. Estas propiedades han sido cruciales para visualizar *in vivo* tanto la endocitosis como el tráfico vesicular asociado a FM1-43 y FM4-64 ya que difieren en su espectro de absorción y emisión, 502 nm y 625 nm para FM1-43; y 560 nm y 767 nm para FM4-64, lo cual está definido por las

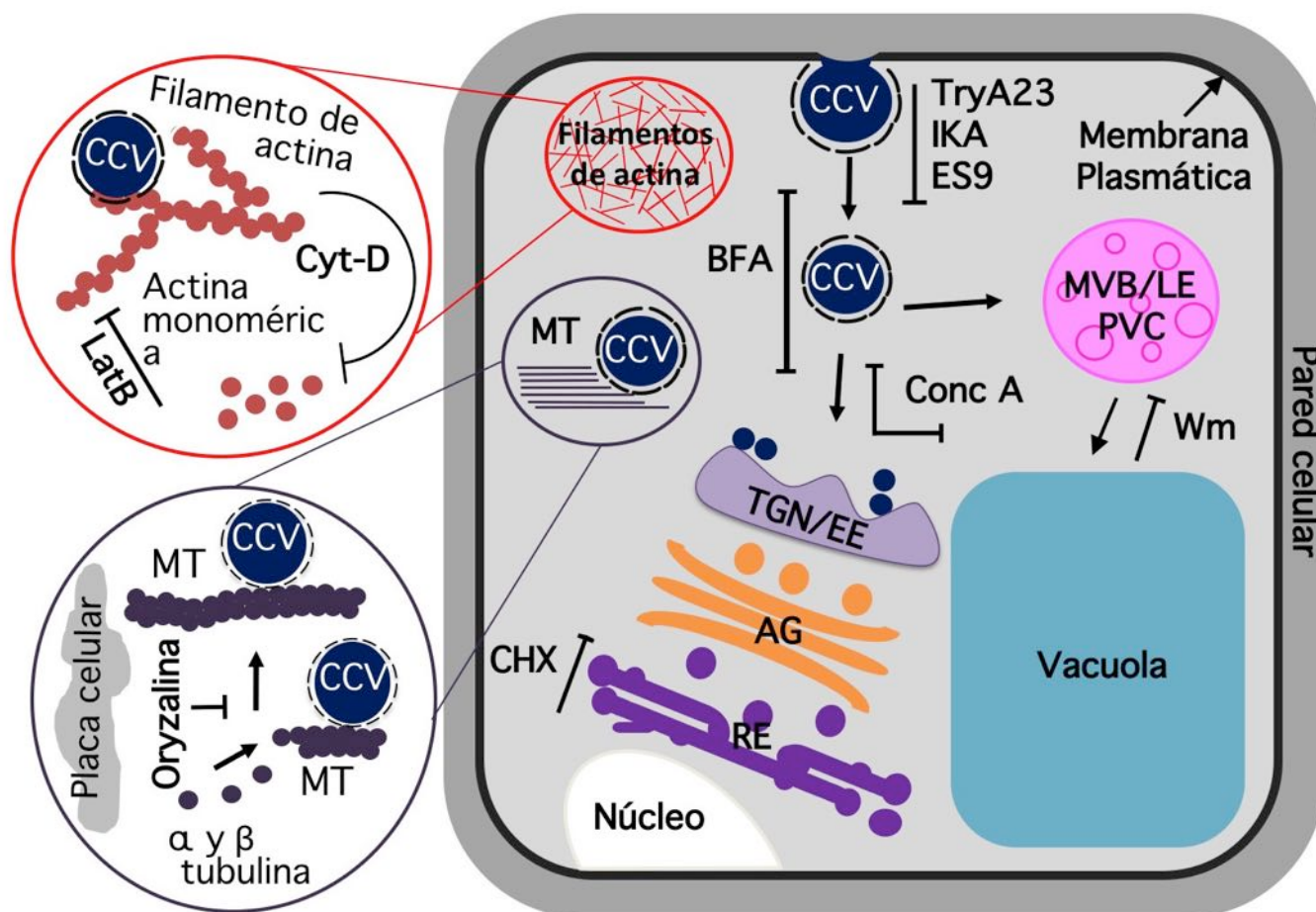


Figura 1. Descripción del efecto de los inhibidores de la endocitosis sobre el tráfico vesicular en las células vegetales. Se muestran los diferentes componentes celulares implicados en el tráfico vesicular, MP, membrana plasmática, MVB/LE/PVC, cuerpo multivesicular/endosoma tardío/cuerpo prevacuolar; TGN/EE, red trans Golgi/endosoma temprano; AG, aparato de Golgi; RE, retículo endoplasmático; CCV, vesícula con cubierta de clatrina; MT, microtúbulos. Los inhibidores se muestran en abreviaturas, Wm, wormanina; BFA, brefeldina A; Conc A, concanamycin A; IKA, Ikarugamicina; TryA23, tirfostina A23; ES9, endosidina 9; CHX, cicloheximida; LatB, latrunculina B; citocalasina D, Cyt-D. Las flechas (→) indican la direccionalidad del tráfico endocítico, y las barras tipo (⊥) indican el proceso de inhibición directa o indirecta sobre la endocitosis.

propiedades químicas del núcleo de la molécula. El uso de estos compuestos como marcadores endocíticos es dependiente de tiempo y temperatura, pero no de pH (8). La caracterización de estos compuestos, que originalmente fueron desarrollados como sensores del potencial de membrana, se inició en neuronas y en terminaciones presinápticas. Su uso fue fundamental para caracterizar el reciclaje de las vesículas presinápticas en cultivos de células del hipocampo y en terminaciones nerviosas de anfibios. El uso de los marcadores FM en células vegetales fue crucial para la descripción de la endocitosis en plantas, debido a que utilizando el FM4-64 se describió que la endocitosis dependiente de clatrina ocurre en plantas y que es fundamental para la internalización de los transportadores de auxinas PIN (8, 9). Ade-

más, utilizando este compuesto junto con ensayos de co-localización, fue posible identificar que el TGN funciona como el EE en células vegetales, ya que es el primer sitio celular que recibe el material endocitado desde la MP (6, 10).

b) Inhibidores para evaluar el tráfico vesicular en plantas:

Brefeldina A

Brefeldina A (BFA) es una toxina lipofílica de origen fúngico que tiene como estructura química una lactona macrocíclica. Fue aislada de manera independiente por diferentes grupos de investigación entre los años de 1958 a 1970. Su interés

TABLA 1

Inhibidores directos e indirectos y su efecto en el proceso endocítico en células vegetales.

Inhibidor	Blanco molecular	Efecto del inhibidor sobre el proceso endocítico	Referencia
BFA	GNOM	Indirecto. Produce un conglomerado intracelular, denominado cuerpo de BFA. Bloquea el tráfico vesicular tanto de secreción como endocítico.	2, 5, 6, 11, 12
Conc A	Subunidad c de la porción V ₀ de las V-ATPasas	Indirecto. Deforma el AG e induce la acumulación de material recién endocitado, también bloquea el transporte de cargos hacia el MVB/LE/PVC y la vacuola.	2, 13, 14, 15
Wm	Subunidad catalítica de PI3K*	Indirecto. Induce la fusión homotípica y el abultamiento de MVB/LE/PVC, y la agregación y la estabilización de las fosas de clatrina en la MP. Evita el transporte hacia la vacuola.	2, 9, 16, 17
Latrunculina B	Actina monomérica	Indirecto. Inhibe la polimerización de nuevos filamentos de actina.	2, 18
Citocalasina D	Extremo barbado y filamentos de actina en crecimiento	Indirecto. Inhibe la asociación y disociación de la actina monomérica y globular al filamento de actina.	2
Oryzalina	Tubulina	Indirecto. Se une y forma complejos con tubulina, evitando la polimerización de los microtúbulos. Afecta el movimiento lateral de las fosas de clatrina en la MP.	2, 11, 20
IKA	No se conoce	Directo. Evita la maduración de CCVs y altera la morfología del AG.	2, 21, 22
TryA23	Subunidad μ del AP2	Directo. Bloquea la interacción entre la subunidad μ del complejo AP2 y el motivo YXXØ, presente en cargos internalizados por CME e interrumpe la asociación a la MP de la subunidad TCP del complejo TPLATE. También induce cambios en el pH intracelular.	2, 5, 23, 24
ES9	No se conoce	Directo. Actúa como un protonóforo y provoca la acidificación del citoplasma.	2, 5, 16, 25

*PI3K, cinasa de fosfatidil-inositol 3-fosfato

inicio por su efecto como anti-fúngico, antibiótico y fitotóxico (2, 6). Posteriormente se observó que BFA es un inhibidor del transporte intracelular de proteínas entre el retículo endoplasmático (RE) y el aparato de Golgi (AG) (Fig. 1). La incubación de las células animales con BFA altera la morfología y función del AG, provocando la fusión del AG con el RE, lo que subsecuentemente conduce a un bloqueo en el transporte de proteínas entre estos dos compartimentos celulares (2). Desde esta observación, diversos estudios se realizaron para conocer el modo de acción de este compuesto sobre la síntesis y transporte de proteínas a lo largo del sistema endomembranal. El efecto bioactivo del BFA se debe a que se une al dominio Sec7 de un intercambiador de nucleótidos de guanina (GEF, por

sus siglas en inglés, Guanine-nucleotide Exchange Factor) específico de factores de ribosilación de ADP (ARF, por sus siglas en inglés, Adenosine diphosphate Ribosylation Factor), factor que cambia el GDP unido al ARF-GEF (forma inactiva y soluble) por GTP (forma activa y asociada a la membrana). La unión de BFA al dominio Sec7 del ARF-GEF provoca la inhibición del intercambio GDP-GTP y, por ende, inhibe la actividad de las GTPasas tipo ARF, las cuales participan en el tráfico intracelular de vesículas y en la señalización celular (11). En células animales y levaduras los ARF-GEF sensibles a BFA están localizados en el AG y funcionan en el tráfico vesicular entre el AG y el RE, además participan en la formación de las vesículas COP1 y CCV en la membrana del AG, por lo cual BFA se

ha utilizado por excelencia como el inhibidor del tráfico vesicular asociado al AG (2). En células vegetales, uno de los blancos moleculares de BFA es el ARF-GEF conocido como GNOM, el cual funciona en el tráfico de proteínas entre endosomas y MP, y también en el reciclaje de cargos endocíticos. GNOM posee un dominio homólogo a Sec7 de ARF1, blanco característico de BFA (6). El tratamiento con BFA en plantas produce un conglomerado intracelular de TGN/EE, denominado cuerpo de BFA, el cual contiene tanto el material recién sintetizado, como también el endocitado (12). Por medio de la inducción de la formación de los cuerpos de BFA en células vegetales fue posible determinar que los transportadores PIN se movilizan de manera constitutiva entre la MP y los compartimentos endosomales. De hecho, la estrategia de visualización de proteínas marcadas fluorescentemente y asociadas a los cuerpos de BFA en las células tratadas con el inhibidor de síntesis de proteínas, cicloheximida (CHX), ha sido ampliamente utilizada para analizar el proceso de endocitosis en plantas (5). También utilizando BFA se ha identificado que el complejo TPLATE es necesario para la CME (5). Sin embargo, la interpretación del efecto del BFA en células vegetales es controversial, lo cual se debe a que las células vegetales poseen diversos tipos de ARF-GEF que están implicados en diferentes rutas de tráfico endomembranal provocando entonces la inhibición paralela de la vía endocítica y de las vías de transporte proteico entre el RE y el AG, así como del TGN al MVB que puede dirigir cargos hacia la degradación o hacia la vía de reciclaje. Por lo tanto, el BFA posee un amplio espectro de blancos moleculares, además en plantas existen ARF-GEF insensibles al efecto de BFA (12). Estas características dificultan en ocasiones la caracterización específica de ciertos blancos de la maquinaria endocítica o cargos de esta vía celular. Por ello, el desarrollo y estudio de compuestos bioactivos más selectivos de la vía endocítica, constituyen una alternativa para el estudio de este proceso en células vegetales.

Concanamicina A

Concanamicina A (Conc A; Fig. 1) es un antibiótico utilizado como inhibidor del tráfico vesicular, su estructura química consta de un anillo macrocíclico de lactona de 18 residuos. Este antibiótico fue aislado de *Streptomyces diastatochromogenes* y nombrado por su actividad como inhibidor de la proliferación de células T estimuladas con la lectina concanavalina A (2, 13). Posteriormente se encontró que Conc A es un compuesto que inhibe la función de las H⁺-ATPasas vacuolares (V-ATPasas), las

cuales son transportadores primarios presentes en todos los eucariontes, importantes para energizar las membranas celulares y mantener el pH en el sistema endomembranal (14). Estos complejos multi-enzimáticos están conformados por la porción V₁ (subunidades A a H) catalizadora de ATP, y la porción V₀ (subunidades a, c, c', c'', d, e) unida a la membrana y translocadora de protones. Conc A se une a la subunidad c de la porción V₀ inhibiendo la rotación del complejo y por lo tanto la translocación de protones. El uso de Conc A como un inhibidor del tráfico vesicular en plantas, inició al analizar la localización subcelular de la subunidad a de la V-ATPasa (VHA-a1) (14). En este estudio, se identificó que la VHA-a1 se localiza tanto en la membrana de la vacuola, como en TGN. Por medio del uso de Conc A se demostró que en plantas TGN también funciona como el EE ya que es el sitio celular donde las vías endocíticas y de secreción convergen en las células vegetales (14). Conc A bloquea el transporte de protones en la porción V₀ de la V-ATPasa, produciendo la deformación del AG, también induce la acumulación de material recién endocitado y sintetizado en el TGN, lo cual bloquea su transporte hacia la vacuola o hacia la MP, respectivamente. Así mismo, utilizando Conc A fue posible determinar que el TGN madura para formar el MVB (15). Por lo tanto, el uso de este inhibidor permitió elucidar aspectos relevantes del funcionamiento del sistema endomembranal en las células vegetales y constituye, así como la BFA, una herramienta para inhibir de manera indirecta la vía endocítica.

Wortmanina

Wortmanina (Wm) es un metabolito esteroideo aislado de diferentes especies de hongos, entre ellos *Penicillium wortmanni*, *Talaromyces wortmannii*, *Myrothecium roridum* y *Fusarium oxysporum* (2, 16). Se identificó como un inhibidor específico que se une covalentemente a la subunidad catalítica de la cinasa de fosfatidil-inositol 3-fosfato, enzima que produce el fosfatidil-inositol 3-fosfato, a partir de fosfatidil-inositol 4, 5-bisfosfato (2, 17). Debido a que el fosfatidil-inositol 3-fosfato es un lípido característico de las membranas endosomales, se analizó su efecto en la vía endocítica en mamíferos, donde se observó que inhibe la endocitosis. El uso de Wm para el estudio de la endocitosis en plantas inicio con el trabajo de Emans y col (9), quienes utilizaron este inhibidor para caracterizar los marcadores fluorescentes FM como indicadores de endocitosis en plantas y observaron que, al tratar a las células vegetales con este compuesto la toma de FM1-43 se inhibe (9). En la actualidad, se conoce

que el tratamiento con Wm en células vegetales induce la fusión homotípica y el abultamiento del compartimento prevacuolar (PVC, por siglas en inglés, Pre-Vacuolar Compartment). Además de funcionar como MVB o LE (Multivesicular bodies en plantas, PVC es el sitio celular donde las rutas de síntesis y de endocitosis convergen para dirigirse hacia la vacuola (2). A partir de estos datos, el uso de Wm para analizar la ruta endocítica ha permitido demostrar, que este inhibidor bloquea la CME por medio de la agregación y estabilización de las fosas de clatrina en la MP, lo que detiene la formación de CCV. Simultáneamente, debido a que el TGN madura a MVB/LE/PVC y este, a su vez, está implicado en el tráfico de proteínas hacia la vacuola, Wm interfiere de manera global en la ruta endosomal de muchas de las proteínas que son endocitadas (2, 15) (Fig. 1). Así mismo, Wm ha sido utilizada para caracterizar la endocitosis promovida por estrés salino en la raíz de *A. thaliana*, y para analizar la endocitosis dependiente de ligando del receptor de flagelina, FLS2 (2).

En resumen, BFA, Conc A y Wm inhiben de manera indirecta la endocitosis, ya que los tres compuestos detienen el tráfico subcelular entre los endosomas (TGN/EE y MVB/LE/PCV), debido a que el flujo normal de vesículas endocíticas se detiene. Este efecto resulta útil al momento de analizar proteínas de interés, ya sea para caracterizar su participación en la endocitosis o como cargo endocítico.

c) Inhibidores del citoesqueleto y su efecto en la endocitosis: latrunculina B, citocalasina D y oryzalina.

El proceso de endocitosis no solo depende de las señales y las proteínas implicadas en la formación de las vesículas endocíticas, sino que también requiere la movilización de las vesículas. Para ello, es necesaria la participación del citoesqueleto, el cual provee las vías moleculares por las cuales las vesículas endocíticas son guiadas a lo largo del sistema endomembranal (18). En las células eucariontes existen tres diferentes tipos de elementos del citoesqueleto, los filamentos de actina, los microtúbulos (MTs) y los filamentos intermedios. De estos, los filamentos de actina y los MTs se han identificado como elementos que participan en la endocitosis en mamíferos, levaduras y también en plantas (2, 18). En plantas, la función de los filamentos de actina en el proceso de la endocitosis se ha estudiado ampliamente por medio del uso de toxinas como latrunculina B y citocalasina D, ambos inhibidores de la polimerización de los filamentos de actina (2) (Fig. 1). Latrunculina B

es una toxina que fue aislada de la esponja roja de mar, *Latrunculia magnifica*, mientras que las citocalasinas son metabolitos aislados de hongos como: *Aspergillus*, *Phomopsis*, *Penicillium* y *Xylaria*, entre otros (2). Ambos compuestos inhiben la polimerización de los filamentos de actina, aunque su mecanismo de acción difiere. Citocalasina D se une al extremo barbado y de crecimiento rápido de los filamentos poliméricos de actina evitando la asociación o disociación de la actina monomérica y globular al filamento. En cambio, latrunculina B se asocia solo a la actina monomérica lo que provoca la inhibición de la polimerización de nuevos filamentos (19) (Fig. 1). Utilizando estos dos inhibidores fue posible determinar la importancia de los filamentos de actina en el proceso de endocitosis, por ejemplo, al agregar latrunculina B se inhibe la endocitosis del marcador Lucifer Yellow y de pectinas de la pared celular en el meristemo de la raíz en maíz. También se inhibe la endocitosis de proteínas de membrana del tubo polínico en *Nicotiana tabacum*. Por su parte, citocalasina D inhibe el transporte endocítico de esteroides en *A. thaliana* (2). Por lo tanto, el uso de estas toxinas permite estudiar la dependencia de la endocitosis a los filamentos de actina y como estos influyen en el tráfico de las proteínas endocitadas.

La función de los MTs dentro de la vía endocítica en las células vegetales, ha sido investigada utilizando el herbicida oryzalina, el cual se caracteriza por ser un agente despolimerizante de MTs, ya que se une y forma complejos con tubulina, evitando su polimerización (20). El efecto de este inhibidor sobre la endocitosis se ha analizado en células de la epidermis de *A. thaliana*, en donde se observó que oryzalina afecta el movimiento lateral de las fosas de clatrina en la MP. La oryzalina también inhibe la endocitosis del receptor FLS2 en respuesta a su ligando y al transportador PIN1 durante la formación de la placa celular (11, 2). Además, oryzalina inhibe la endocitosis dependiente de flotilina, ya que el tratamiento, restringe la movilidad de las vesículas de flotilina en la MP en células de la raíz de *A. thaliana*. Asimismo, como la endocitosis es un proceso que provee muchos de los componentes que se necesitan para la formación de la placa celular en células en división, ya que la función de los MTs junto con la actina cortical, indican el lugar donde se formará la placa celular (2, Fig. 1). Se ha utilizado, oryzalina para determinar que los MTs son las vías moleculares más importantes para dirigir el material endocitado al sitio de formación de la placa celular en las células en división, lo que difiere en las células en interfase, donde la vía más importante para la movilización de las vesículas endocíticas son los filamentos de actina (2).

d) Inhibidores de la endocitosis dependiente de clatrina.

Ikarugamicina

Ikarugamicina (IKA) es un antibiótico con actividad antiprotista aislado de *Streptomyces phaeochromogenes* sp. *ikaruganensis*. El efecto de la IKA sobre la CME se descubrió al analizar la internalización de versiones oxidadas de lipoproteínas de baja densidad en macrófagos (2, 21). En un estudio posterior, se encontró que en células monocíticas el tratamiento con IKA inhibe la endocitosis de CD4 inducida por la fosfoproteína Nef del virus del VIH (22). El modo de acción de IKA sobre la CME no se tiene bien definido, pero se conoce que la presencia de IKA provoca la redistribución de la CHC y del complejo hetero-tetramérico adaptador de clatrina 2 (AP2), claves para la formación de las CCV, del citoplasma a la MP. El tratamiento con IKA conlleva a la agrupación proteica no funcional que evita la maduración a CCVs y altera la morfología del AG, el cual se observa más desorganizado y vesiculado (22). Su uso en plantas inició al estudiar la endocitosis en protoplastos de tabaco y en los tubos polínicos, lo cual permitió esclarecer que IKA es un compuesto que también inhibe la CME en plantas (Fig. 1), además de que permitió elucidar que en el tubo polínico existen dos zonas endocíticas activas, la zona apical y la zona lateral y la presencia de un mecanismo de endocitosis independiente de clatrina, el cual es insensible a IKA (2, 22). Debido a que no se conoce el blanco molecular de IKA, su uso para estudiar la CME en plantas, debe ser cuidadoso y utilizando los controles necesarios para permitir ver su efecto dentro del sistema con el que se está trabajando.

Tirfostina A23

Tirfostina A23 (TyrA23), un inhibidor de la CME, es un análogo estructural a la fosfotirosina (2) (Fig. 1). Este inhibidor fue inicialmente desarrollado como un sustrato competitivo de cinasas de tirosina. Posteriormente se observó que inhibe la endocitosis del receptor de transferrina en células de mamífero, ya que bloquea la interacción entre la subunidad μ del AP2 y el motivo citosólico YXX $\emptyset$ (donde Y es tirosina, X cualquier aminoácido y $\emptyset$ representa un aminoácido hidrofóbico), presente en muchos de los cargos internalizados por CME (23). La inhibición de esta interacción provoca que los cargos que contienen el motivo YXX $\emptyset$ no puedan incorporarse a las CCVs, inhibiendo así su endocitosis. El uso del TyrA23 en células vegetales, inició al caracterizar la expresión heteróloga del receptor de transferrina de mamífero en protoplastos de *A. thaliana* tratados

con FM4-64 y TyrA23 donde se observó que TyrA23 inhibe la endocitosis de este receptor (24). A partir de este estudio muchos grupos de investigación han utilizado TyrA23 como un inhibidor de la CME, para analizar la regulación de la endocitosis de proteínas de membrana involucradas en procesos tales como: la absorción de nutrientes, la defensa a patógenos y en la respuesta a estrés abiótico. En plantas, se demostró que TyrA23 no solo inhibe la asociación de la subunidad μ a MP sino también de las subunidades α y σ del complejo AP2. Además, interrumpe la asociación a la MP de la subunidad TCP del complejo TPLATE, que participa en la formación de CCVs y en la CME (2). Recientemente se encontró que, además de los efectos ya descritos, TyrA23 produce la acidificación del citoplasma en células de *A. thaliana* y, al parecer, cambios en el pH intracelular conllevan a efectos negativos en la maquinaria implicada en la CME (5).

Endosidinas

Las endosidinas (ES) son un grupo de compuestos orgánicos que forman parte de grandes colecciones o librerías (aproximadamente 60,000) de compuestos bioactivos (interfieren con funciones biológicas) comercializados por Chembridge Corp. y MicroSource Discovery Systems Inc. Las ES fueron identificadas por tamizaje de estas librerías buscando moléculas que afectan la endocitosis y la función endosomal (25). El blanco funcional o molecular de algunas de las endosidinas ha sido caracterizado. Por ejemplo, la endosidina 5 (ES5), inhibe el reciclamiento de proteínas a MP (16). Las ES1, ES2 y ES16 afectan el tráfico *post*-Golgi y la función endosomal (2, 5). Particularmente, ES9 inhibe la CME del receptor de transferrina en células animales y de FM4-64 en células vegetales. Actualmente se conoce que el modo de acción de ES9 es parecido al efecto de TyrA23, ya que actúa como un protonóforo y provoca la acidificación del citoplasma (5) (Fig. 1).

CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

El conocimiento sobre la vía endocítica en plantas ha permitido definirla como un proceso fundamental para el desarrollo, la respuesta a estímulos y la señalización vegetal. Hoy en día sabemos que la endocitosis de proteínas provoca una respuesta a nivel celular que impacta en la homeostasis general de toda la planta. Es por esto que resulta importante caracterizar la maquinaria molecular implicada en este proceso. En los últimos años se han realizado muchos esfuerzos para comprender, a nivel molecular, el funcionamiento de la endocitosis en plantas.

Esto se ha podido lograr, no solamente mediante el análisis de las proteínas que forman parte de la maquinaria y los cargo endocíticos, sino en buena parte gracias al uso de inhibidores de la endocitosis (Tabla 1). El uso de estos compuestos ha permitido elucidar la dinámica, eficiencia y selectividad del sistema endomembranal en las células vegetales. Además, la investigación acerca del efecto de es-

tos compuestos y su clasificación como moléculas que actúan de manera directa o indirecta sobre la endocitosis resulta importante para continuar con la investigación de este proceso. Así mismo, la identificación de más compuestos que inhiban de manera directa la endocitosis a diferentes niveles es una necesidad para continuar la investigación en esta área de la biología vegetal. 

REFERENCIAS

1. Doherty JG, McMahon TH (2009). Mechanism of Endocytosis. *Annu Rev Biochem* 78:857-902.
2. Šamaj J (2012). Endocytosis in plants. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, Germany, p 333.
3. Robinson GD, Jiang L, Schumacher K (2008). The endosomal system of plants: Charting new and familiar territories. *Plant Physiol* 147:1482-1492.
4. Hilmer S, Depta H, Robinson DG (1986). Confirmation of endocytosis in higher-plant protoplasts using lectin-gold conjugates. *Eur J Cell Biol* 41:142-149.
5. Reynolds G, Wang C, Pan J, Bednarek SY (2018). Inroads into internalization: Five years of endocytic exploration. *Plant Physiol* 176:208-218.
6. Norambuena L, Tejos R (2017). Chemical genetic dissection of membrane trafficking. *Annu Rev Plant Biol* 68:197-224.
7. Bolte S, Talbot C, Boutte Y, Catrice O, Read ND, Satiat-Jeunemaitre B (2004). FM-dyes as experimental probes for dissecting vesicle trafficking in living plant cells. *J Microsc* 214:159-173.
8. Dhonuskshe P, Aniento F, Hwang I, Robinson DG, Mravec J, Stierhof YD, Friml J (2007). Clathrin-mediated constitutive endocytosis of PIN auxin efflux carriers in Arabidopsis. *Curr Biol* 17:520-527.
9. Emans N, Zimmerman S, Fischer R (2002). Uptake of a florescent marker in plant cells is sensitive to brefeldin A and wortmannin. *Plant Cell* 14:71-86.
10. Jaillais Y, Fobis-Loisy I, Miège C, Gaude T (2008). Evidence for a sorting endosome in Arabidopsis root cells. *Plant J* 53:237-247.
11. Peyroche A, Antonny B, Robineau S, Acker J, Cherflis J, Jackson CL (1999). Brefeldin A acts to stabilize and abortive ARF-GDP-Sec7 domain proteins complex: Involvement of specific residues of the Sec7 domain. *Mol Cell* 3:275-285.
12. Robinson DG, Langhans M, Saint-Jore-Dupas C, Hawes C (2008). BFA effects are tissue and not just plant specific. *Tr Plant Sci* 13: 405-408.
13. Dröse S, Altendorf K (1997). Bafilomycins and concanamycins as inhibitors of V-ATPases and P-ATPases. *J Exp Biol* 200:1-8.
14. Dettmer J, Hong-Germesdorf A, Stierhof YD, Schumacher K (2006). Vacuolar H⁺-ATPase activity is required for endocytic and secretory trafficking in Arabidopsis. *Plant Cell* 18:715-730.
15. Scheuring D, Viotti C, Krüger F, Künzl F, Sturm S, Bubeck J, Hillmer S, Frigerio L, Robinson DG, Pimpl P, Schumacher K (2011). Multivesicular bodies mature from Trans-Golgi network/early endosome in Arabidopsis. *Plant Cell* 23: 3463-3481.
16. Brian PW, Curtis PJ, Hemming HG, Norris GLF (1957). Wortmannin, and antibiotic produced by *Penicilium wortmannin*. *Trans Br Mycol Soc* 40: 365-368.
17. Arcaro A, Wymann MP (1993). Wortmannin is a potent phosphatidylinositol 3-kinase inhibitor: the role of phosphatidylinositol 3,4,5-trisphosphate in neutrophil responses. *Biochem J* 296: 297-301.
18. Jeng RL, Welch MD (2001). Cytoskeleton: Actin and endocytosis- no longer the weakest link. *Curr Biol* 11: R691-R694.
19. Spector I, Shochet NR, Blasberger D, Kashman Y (1989). Latruncilins-novel marine macrolides that disrupt microfilament organization and affect cell growth: I. comparison with cytochalasin D. *Cell Motil Cytoskeleton* 13:127-144.
20. Morejohn LC, Bureau TE, Molè-Bajer J, Bajer AS, Fosket DE (1987). Oryzalin, a dinitroaniline herbicide, binds to plant tubulin and inhibits microtubule polymerization in vitro. *Planta* 172:252-264.

21. Hasumi K, Shinohara C, Naganuma S, Endo A (1992). Inhibition of the uptake of oxidized low-density lipoprotein in macrophage J774 by the antibiotic ikaguramycin. *Eur J Biochem* 205: 841-846.
22. Moscatelli A, Ciampolini F, Rodighiero S, Onelli E, Cresti M, Santo N, Idilli A (2007). Distinct endocytic pathways identified in tobacco pollen tubes using charged nanogold. *J Cell Sci* 120:3804-3819.
23. Bandury DN, Oakley JD, Sessions RB, Banting G (2003). Tryphostin A23 inhibits internalization of the transferrin receptor by perturbing the interaction between tyrosine motifs and the medium chain subunit of the AP-2 adaptor complex. *J Biol Chem* 278:12022-12028.
24. Ortiz-Zapater E, Soriano-Ortega E, Marcote MJ, Ortiz-Masia D, Aniento F (2006). Trafficking of the human transferrin receptor in plant cells: effects of tryphostin A23 and brefeldin A. *Plant J* 48:757-770.
25. Drakakaki G, Robert S, Szatmari AM, Brown MQ, Nagawa S, Van Damme D, Leonard M, Yang Z, Girke T, Schmid SL, Russinova E, Friml J, Raikhel NV, Hick GR (2011). Clusters of bioactive compounds target dynamic endomembrane networks in vivo. *Proc Nat Acad Sci, USA* 108:17850-17855.

EL PAPEL DE LAS GALNAc-TRANSFERASAS EN EL DESARROLLO DEL CÁNCER DE MAMA*

Luis Miguel García Cruz, Jesús Hernández Juárez, Berenice Fernández Rojas, Pedro Antonio Hernández Cruz, Eduardo Pérez Campos Mayoral y Itandehui Belem Gallegos Velasco*

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

*Autor de correspondencia correo E: ITANBEL@hotmail.com

RESUMEN

El cáncer de mama es la segunda causa de muerte de mujeres en el mundo, sin embargo, si es diagnosticado oportunamente puede ser curado. Recientemente se ha observado que cambios en la estructura de los oligosacáridos de membrana, se relacionan con los procesos de transformación y proliferación celular, los cuales pueden originar el cáncer de mama. La glicosilación incompleta de glicoproteínas, expone nuevos antígenos, particularmente el antígeno Thomsen-Friedenreich (TF), Para la síntesis de este antígeno las células emplean enzimas denominadas glicosiltransferasas, especialmente las GalNac transferasas que adicionan el monosacárido GalNac a un residuo de serina o treonina. En esta revisión nos enfocaremos en el papel de las GalNac transferasas, en el desarrollo del cáncer de mama.

ABSTRACT

Breast cancer is the second cause of death of women in the world and when it is diagnosed opportunely can be cured. Recently it has been observed that changes in the oligosaccharides structures of membrane proteins are related to the transformation processes and cellular proliferation, in addition, the presence of receptor for these carbohydrates, can potentialise the metastatic capacity of the tumor. In this revision a general overview of the glycosylated markers and their receptors, especially galectin-3 that, has been associated to breast cancer.

PALABRAS CLAVE:

Glicosilación, Glicosil transferasas, GalNac transferasas, cáncer de mama.

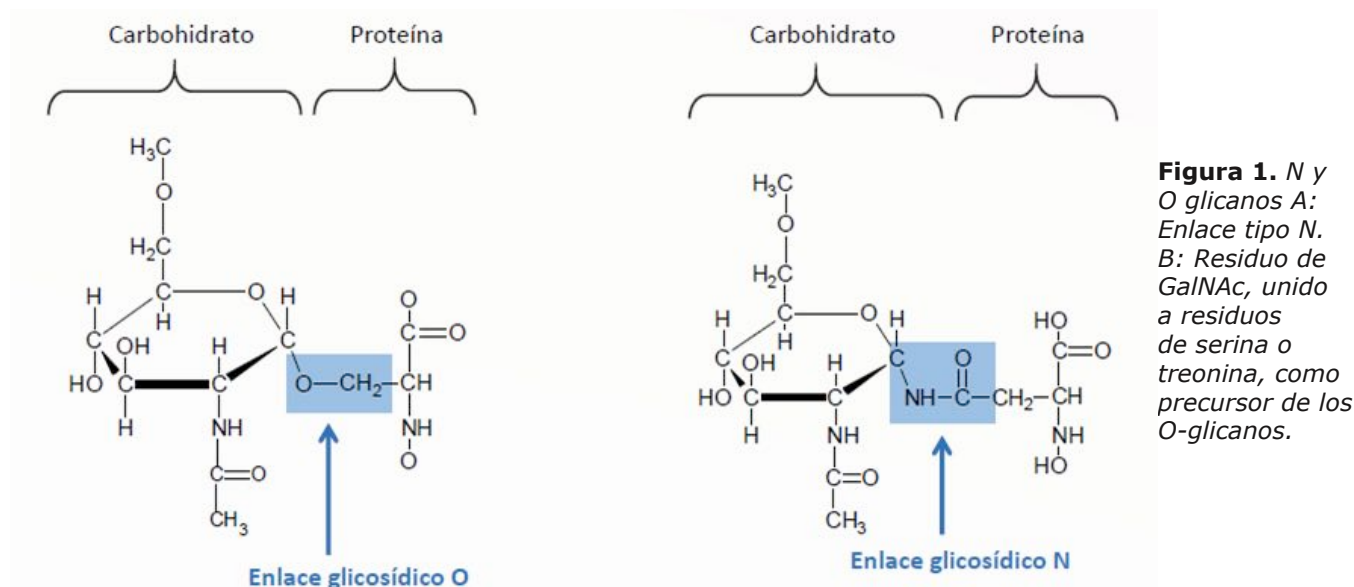
KEY WORDS:

Glycosylation, glycosyltransferases, GalNac transferases, breast cancer.

INTRODUCCIÓN

En la naturaleza existe una gran complejidad de estructuras oligosacáridicas, las cuales son sintetizadas mediante la participación de diferentes enzimas, como las glicosiltransferasas (GTs), glicosidasas, fosforilasas y polisacárido liasas. Dentro de las modificaciones postraduccionales más importantes y complejas, la glicosilación ocupa un lugar muy importante, dicha modificación es un proceso bioquímico en el que se adiciona un glúcido a otra molécula, dicha molécula se denomina aceptora, la cual puede ser de diferente naturaleza, donde las más comunes son las proteínas y lípidos. La glicosilación de proteínas es un proceso esencial en todos los organismos eucariotas, donde una

gran diversidad entre los tipos de glicosilación de proteínas existe en animales, plantas y microorganismos, siendo muy frecuente en proteínas extracelulares de membrana plasmática y secretadas (1). Los azúcares con enlaces del tipo N y O, conforman las dos principales formas de glicosilación observadas en células secretadas y en superficie celular (Fig.1). Los azúcares con unión del tipo N contribuyen al plegamiento, secreción y estabilidad de las proteínas. La respuesta al estrés del retículo endoplásmico y la apoptosis celular se activan cuando la N-glicosilación está alterada. Las proteínas O-glicosiladas también se encuentran en la superficie celular, el suero y en matriz extracelular (MEC). Las O-glicoproteínas alteradas de superficie celular, a menudo están implicados



en proliferación descontrolada, invasión y metástasis, y de manera similar, las proteínas de MEC O-glicosiladas a menudo participan en el desarrollo de una variedad de patologías, como por ejemplo: deficiencias en la adhesión celular, metástasis y desarrollo de cáncer (2). La localización intracelular de las N-acetilgalactosaminiltransferasas puede alterarse en las células cancerosas mediante la redistribución al retículo endoplásmico, en lugar de estar restringido al Golgi.

La O-glicosilación de tipo mucínico, consiste en glicanos unidos vía N-acetilgalactosamina (GalNAc) ligada al grupo hidroxilo de residuos serina (S) y treonina (T), y es una de las formas más abundantes de glicosilación de proteínas en animales. En la mayoría de las proteínas la glicosilación está controlada por uno o dos genes que codifican las enzimas responsables del inicio de la glicosilación, es decir, el paso donde el primer glicano se adiciona al residuo aminoacídico en la proteína. La O-glicosilación de tipo mucínico es un proceso controlado por una gran familia de hasta 20 genes homólogos que codifican UDP-GalNAc: polipéptido GalNAc-transferasa (GalNAc-Ts). Es por ello que la O-glicosilación de tipo mucínico tiene el mayor potencial para la regulación diferencial en células y tejidos, al poder generar una gran variedad de estructuras (3).

Las glicosiltransferasas son las enzimas responsables de la formación del enlace glicosídicos (4). Son enzimas ubicuas, responsables de toda la diversidad y complejidad de oligosacáridos y glicoconjugados encontrados en el mundo vivo, por lo que sus funciones pueden considerarse fundamentales para todos los organismos. Esta diversidad química requiere que las enzimas que

catalizan su síntesis, degradación y modificación sean muy específicos.

Las glicosiltransferasas catalizan la transferencia de azúcares provenientes de moléculas donantes activadas a moléculasceptoras específicas, para formar un O-, N-, S-, o C- glicósido, el cual puede ser parte de un monosacárido, oligosacárido o polisacárido. Azúcares nucleotídicos, azúcares fosfato, lípidos y azúcares fosfato pueden actuar como moléculas donantes activadas, mientras los sustratos aceptores involucran carbohidratos, proteínas, lípidos, DNA, además de numerosas moléculas pequeñas, por ejemplo; antibióticos, flavonoides, esteroides (Fig. 2). Los azúcares transferidos están generalmente en forma de nucleósidos activados. A las GTs y otras enzimas dependientes de nucleótidos de azúcar, se les suele llamar enzimas de tipo Leloir, en honor al premio Nobel en Química (1970), Luis F. Leloir quien descubrió la primera de estas moléculas. Las GTs se vinculan con la biosíntesis de azúcares de superficie que envuelven a la célula, estos azúcares sirven de sitios específicos de unión con otros receptores celulares, bacterias, virus, parásitos, toxinas y hormonas, además de definir los tipos sanguíneos (5-7). Estos azúcares también participan en las interacciones celulares durante la fertilización, desarrollo, diferenciación, transformación oncogénica, inflamación, defensa inmunológica así como muchas enfermedades (8-10).

La formación del enlace glicosídico entre dador y aceptor puede ocurrir con retención o inversión de la configuración del carbono anomérico del dador (Fig. 3).

El mecanismo de inversión es sencillo, ya que requiere un solo ataque nucleófilo del átomo receptor para invertir la estereoquímica.

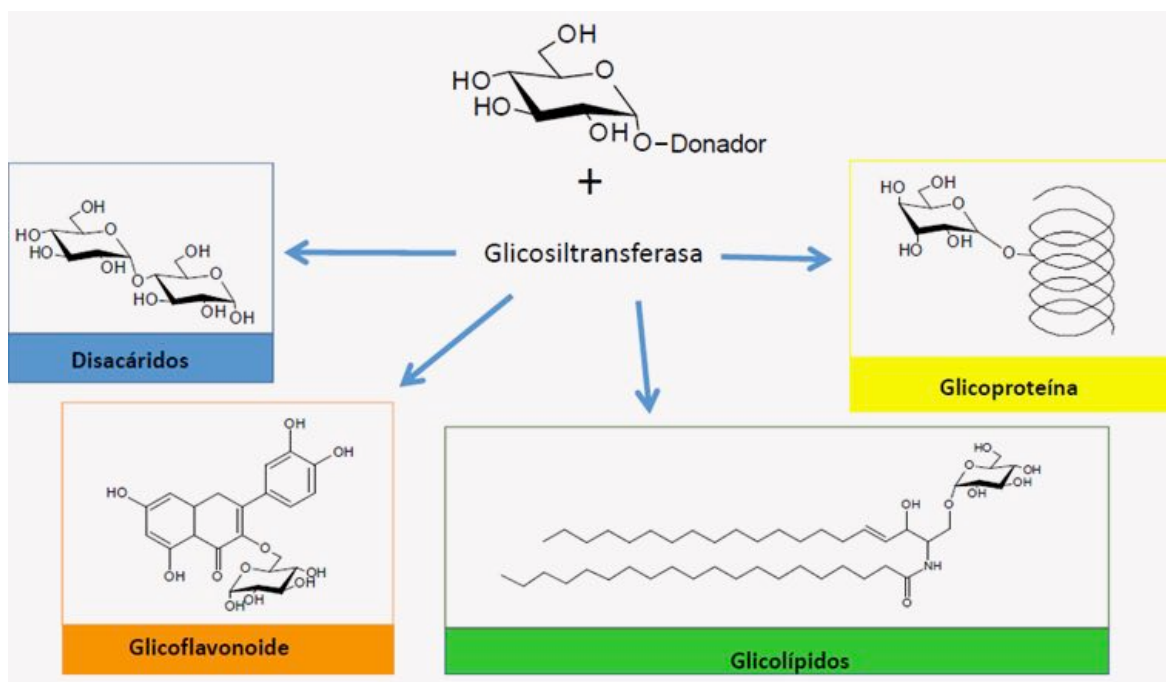


Figura 2. Diferentes grupos aceptores de azúcar, a) proteínas, b) lípidos y c) otros monosacáridos.

El mecanismo de retención ha sido un tema de debate, pero existe una fuerte evidencia contra un mecanismo de desplazamiento doble que causaría dos inversiones sobre el carbono anomérico para una retención neta de estereoquímica o un mecanismo disociativo, una variante prevalente conocida como sustitución nucleofílica tipo 1 (SN1). Se ha

propuesto un mecanismo "asociativo ortogonal" que, similar a las enzimas inversoras, requiere solo un único ataque nucleofílico desde un aceptor desde un ángulo no lineal como se observa en muchas estructuras cristalinas para lograr la retención de anómeros.

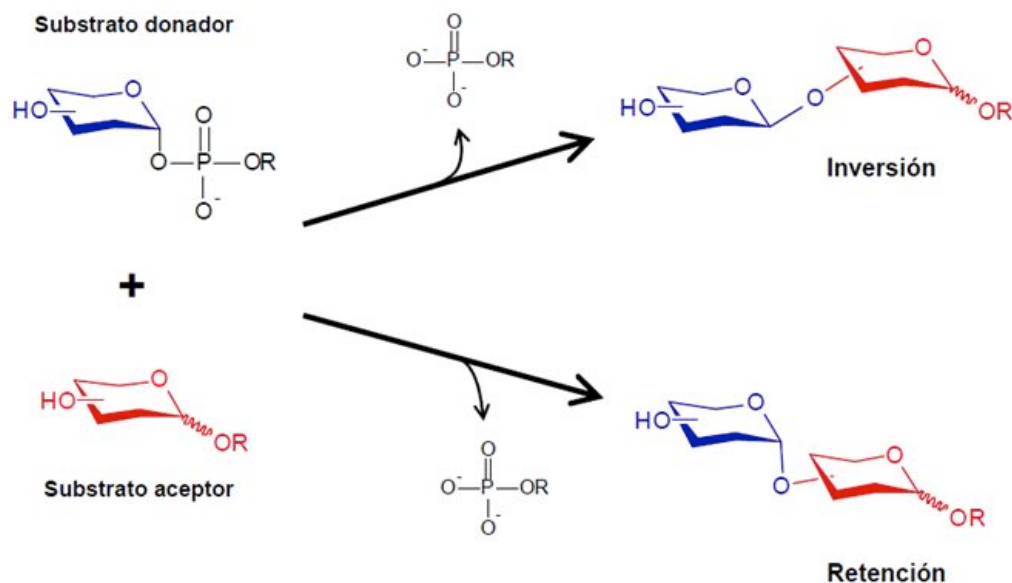


Figura 3. Mecanismos de transferencia del azúcar por las glicosiltransferasas. El azúcar se transfiere al oxígeno nucleofílico de un hidroxilo sustituyente en el aceptor, formando un enlace O-glicosídico, también puede hacerlo a un nitrógeno nucleofílico (enlace N-glicosídico). Un ejemplo del mecanismo de inversión sería: $\alpha \rightarrow \beta$ (A) un ejemplo del mecanismo de retención sería: $\alpha \rightarrow \alpha$ (A)

CLASIFICACION DE LAS GLICOSILTRANSFERASAS

La familia de enzimas GTs es muy antigua, son encontradas en todos los tres dominios de la vida y se pueden clasificar considerando tres criterios: identidad de secuencia, mecanismo de acción y tipo de plegamiento, primariamente se clasifican según el azúcar que transfieren, y la estereoquímica del producto catalizado. Así, se denominan "de retención" las enzimas que mantienen la configuración del carbono anomérico del dador y "de inversión" las que lo invierten. Las GTs tienen como característica que presentan muy baja identidad de secuencia. Sin embargo, basándose en análisis de secuencias, que incluyen gapped BLAST, HMMER y modelos ocultos de Markov, se creó la base de datos CAZy (Carbohydrate-Active Enzymes, <http://www.cazy.org/>) (11-13). Esta base de datos agrupa a las GTs en familias. Aquellas GTs que no pudieron ser caracterizadas ni poseen suficiente homología como para pertenecer a alguna familia existente fueron agrupadas bajo el nombre de GT0. Esta base de datos es actualizada constantemente, debido a la caracterización de nuevas proteínas que generan nuevos tipos de familias. A pesar de la baja identidad de secuencia, la mayoría de las GTs, poseen uno de los dos plegamientos principales de GTs: Glicosil transferasas tipo A (GT-A) y las glicosiltransferasas tipo B (GT-B) (14,15). Las enzimas agrupadas dentro de una misma familia CAZy, presentan una gran similitud estructural, el plegamiento GT-A como el GT-B presentan miembros que catalizan reacciones de retención y de inversión. En recientes fechas se agregó una tercera superfamilia de glicosiltransferasas denominada GT-C (16,17), que utilizan un lípido-fosfato-azúcar como sustrato dador.

La superfamilia estructural GT-A presenta un dominio con plegamiento tipo Rossmann ($\alpha/\beta/\alpha$), estructuralmente el dominio Rossmann es $\beta/\alpha/\beta$, los miembros de esta superfamilia necesitan la presencia de cationes divalentes para su actividad. Las estructuras resueltas presentan metales coordinados, esta coordinación se da por la presencia del motivo DXD (Asp-X-Asp), conservado en esta superfamilia. El proceso de coordinación del metal produce cambios conformacionales en el bucle flexible número 3 de cada GT estos cambios conformacionales dan lugar a la formación del sitio de unión del sustrato aceptor (18). El plegamiento GTA se describió por primera vez en la GT de *Bacillus subtilis*, de la cual se resolvió la estructura tridimensional, la cual está constituida por una lámina β rodeada por hélices α en los costados, la arquitectura global de del plegamiento (GT-A) es muy parecido a la de dos

dominios tipo Rossmann adyacentes. Dos dominios $\alpha/\beta/\alpha$ fuertemente asociados, con una hoja β central y continua, por esa razón, a veces se describe al plegamiento GTA, como un plegamiento con un único dominio (19).

La superfamilia con plegamiento GTB presenta dos dominios tipo Rossmann, sin embargo, están menos relacionados y se asocian a través del centro activo. Existen al menos dos tipos más de plegamiento para las GTs; uno es el de las proteínas de la superfamilia GTC, que son proteínas integrales de membrana y presentan un motivo DXD modificado. La mayoría utiliza fosfolípidos azucarados como donadores (20). A esta superfamilia pertenecen las oligosacariltransferasas (OST), proteínas que realizan la transferencia del azúcar, mediante enlace N-glicosídico, a la Asn de otras proteínas con el motivo Asn-X-Ser/Thr. plegamiento GTD se ha propuesto para una proteína relacionada con la glicosilación de adhesinas en *Streptococcus parasanguinis* que estructuralmente es diferentes a todos los anteriores y cuya función es todavía desconocida (21).

GaINAc TRANSFERASAS Y CANCER

Las enzimas GaINAc-Ts, representan la más grande familia que se encargan de adicionar un residuo de GaINac al hidroxilo de los aminoácidos serina o treonina, y está altamente conservada a lo largo de la evolución animal, aunque ausente en bacterias, levadura y plantas. Los diferentes genes de GaINAc-transferasas (GALNT) parecen conservarse en la evolución, tanto estructural como funcionalmente (Fig. 4). Las GaINAc-Ts están ampliamente distribuidas en múltiples tejidos humanos. La diferencia en la distribución por tejidos y la especificidad del sustrato hacia los péptidos se ha relacionado con las diversas funciones de estas variantes de GaINAc-Ts. En muchos aspectos durante el desarrollo de múltiples enfermedades, alteraciones genéticas y epigenéticas llegan a afectar a los genes que codifican GaINAc-Ts y pueden causar cambios patológicos. La familia de GaINAc-Ts está estrechamente relacionada con la invasión, metástasis y proliferación de muchas células carcinomatosas. Así mismo la O-glicosilación se altera ya sea por una síntesis incompleta de los O-glicanos unidos a las proteínas, lo que ocasiona que antígenos ocultos queden expuestos o por una síntesis de nuevos O glicanos, en procesos de transformación maligna, en donde el desarrollo tumoral suele estar asociado a alteraciones en los carbohidratos de la superficie celular. Los cambios en el perfil de glicosilación en las células se presentan en el proceso de transformación maligna, e influyen en el crecimiento

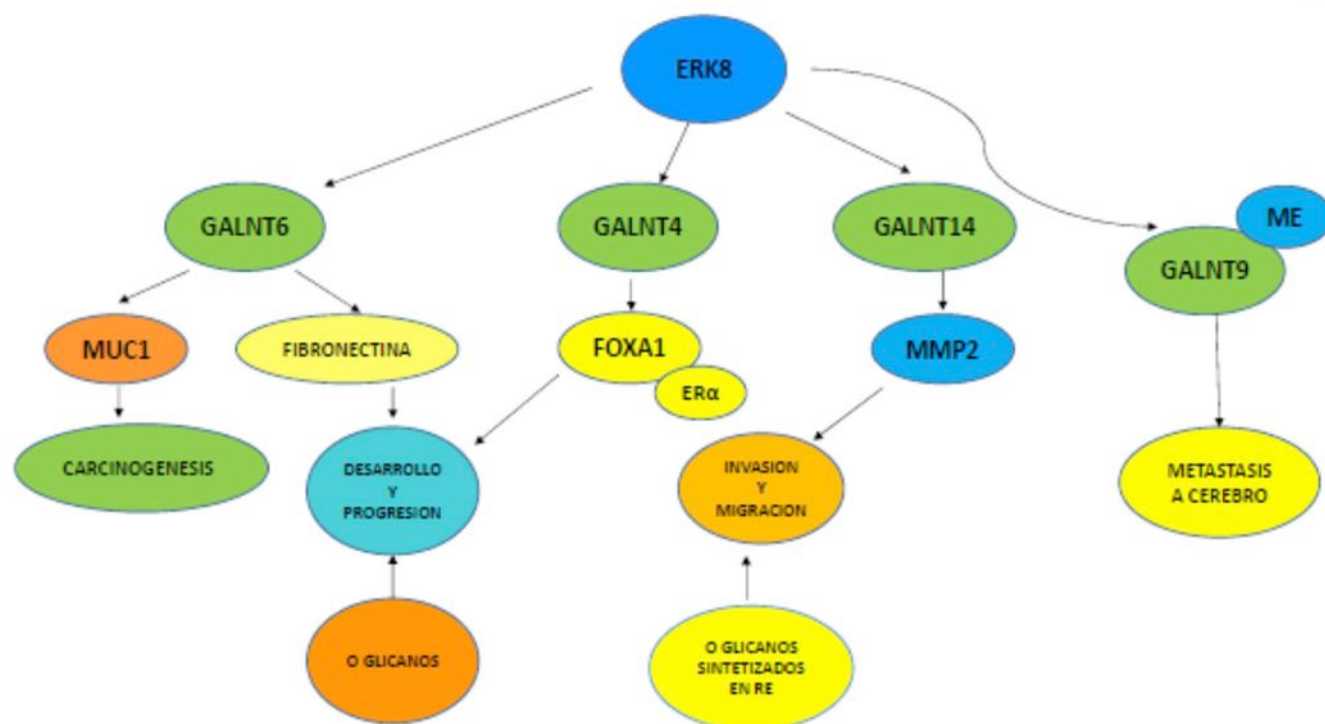


Figura 4. GalNAc transferasas, su función en el cáncer de mama. ERK8: Cinasa regulada por señal extracelular 8. GALNT6: GalNAc transferasas 6. . GALNT4: GalNAc transferasas 4. GALNT14: GalNAc transferasas 14. GALNT19: GalNAc transferasas 9. MUC1: Mucina 1. FOXA1: Factor nuclear de hepatocito 3-alfa. MMP-2: Metaloproteinas de matriz tipo 2. ME: Metilación. RE: Retículo endoplasmático.

celular, así como la diferenciación, adhesión e inmunogenicidad de las células cancerosas. Se producen antígenos de carbohidratos asociados a tumores debido a la desregulación de las glicosiltransferasas, lo cual resulta en cambios en la actividad y especificidad enzimática para sustratos específicos (22). Las GalNAc-Ts sintetizan primero el antígeno Tn, cuya expresión se da solamente con la falta de la correspondiente extensión de las cadenas de O-glicanos, la cual puede depender de las reacciones catalizadas por las subsecuentes glicosiltransferasas. La O-glicosilación y por tanto la biosíntesis del antígeno Tn es un proceso complejo que está regulado por una serie de factores: la disponibilidad de GalNAc-Ts, ya que algunas de ellas muestran selectividad por determinado sitio y son expresadas de una manera órgano-específica; las secuencias de ciertos aminoácidos y el estado de glicosilación alrededor del potencial sitio de glicosilación que puede tanto promover como prevenir la unión de las transferasas; las modificaciones postraduccionales del péptido sustrato incluyendo la sustitución inicial del GalNAc y la glicosilación en sitios preferidos, que pueden influenciar la calidad de los sustratos próximos a los residuos de serina y treonina; y las estructuras secundarias y terciarias de las proteínas entrando al aparato de Golgi, que

pueden provocar que los sitios blancos sean inaccesibles (23). Las GalNAc-Ts se caracterizan por poseer una cola N-terminal citosólica, un dominio transmembrana de tipo II, una región variable, un dominio catalítico, un dominio de reconocimiento Gal/GalNAC y un dominio tipo lectina. Este dominio tipo lectina se encuentra en la cola carboxilo terminal y se utiliza para la unión de los residuos de N-acetilgalactosamina que ya han sido agregados a la glicoproteína. La amplia cantidad de GalNAc-Ts es exclusiva de la O-glicosilación, así mismo la múltiple cantidad de isoformas conservadas en la evolución de los metazoos sugiere la necesidad de isoformas específicas en células y tejidos. Las GalNAc-Ts generan antígenos. El inusualmente gran número de GalNAc-Ts es exclusivo de O-glicosilación y la multiplicidad de isoformas conservadas en la evolución de los metazoos sugiere la necesidad de isoformas específicas de células o tejidos.

Los genes de las GalNAc-Ts tienen un número variable de exones codificantes y una organización cromosómica dispersa. Análisis de los límites intrón/exón sugieren que la familia de las GalNAc-Ts surgieron por duplicación de genes con una previa divergencia (24). En la Tabla 1, se muestran, las GalNAc transferasas y sus distribución en diferentes tejidos.

TABLA 1
GALNACTRANSFERASA Y SU DISTRIBUCION EN TEJIDOS

ENZIMA	GEN	TEJIDOS	SUSTRATO
GALNT1	18q12.1	Cerebro, Huesos, Tejido adiposo, Hígado, Pulmones, Riñones, Páncreas, Aparato Digestivo y Aparato reproductor masculino, Femenino y glándulas	Proteína sin glicosilar
GALNT2	1q41-q42	Cerebro, Huesos, Tejido adiposo, Hígado, Pulmones, Riñones, Páncreas, Aparato Digestivo y Aparato reproductor masculino, Femenino y glándulas	Proteína sin glicosilar
GALNT3	2q24-q31	Cerebro, Huesos, Tejido adiposo, Hígado, Pulmones, Riñones, Páncreas, Aparato Digestivo y Aparato reproductor masculino, Femenino y glándulas	Proteína glicosilada con GalNAc
GALNT4	12q21.33	Aparato Digestivo, Aparato Reproductor femenino y glándulas	Proteína glicosilada con GalNAc
GALNT5	2q24.1	Aparato Digestivo y pulmones	Proteína glicosilada con GalNAc
GALNT6	12q13	Aparato Digestivo, Aparato Reproductor femenino y masculino	Proteína glicosilada con GalNAc
GALNT7	4q34.1	Cerebro, Huesos, Tejido adiposo, Hígado, Pulmones, Riñones, Páncreas, Aparato Digestivo, Aparato reproductor masculino, Femenino y glándulas	Proteína glicosilada con GalNAc
GALNT8	12p13.3	Cerebro, Huesos, Hígado, Pulmones, Riñones, Páncreas, Aparato Digestivo y Aparato reproductor masculino, Femenino y glándulas	Proteína glicosilada con GalNAc
GALNT9	12q24.33	Cerebro	No se conoce
GALNT10	5q33.2	Cerebro, Huesos, Tejido adiposo, Hígado, Pulmones, Riñones, Páncreas, Aparato Digestivo y Aparato reproductor masculino, Femenino y glándulas	Proteína glicosilada con GalNAc
GALNT11	7q36.1	Cerebro, Huesos, Tejido adiposo, Hígado, Pulmones, Riñones, Páncreas, Aparato Digestivo y Aparato reproductor masculino, Femenino y glándulas	Proteína glicosilada con GalNAc
GALNT12	9q22.33	Cerebro, Huesos, Tejido adiposo, Hígado, Pulmones, Riñones, Páncreas, Aparato Digestivo y Aparato reproductor masculino Femenino y glándulas	Proteína glicosilada con GalNAc
GALNT13	2q24.1	Cerebro, Pulmones, Aparato digestivo	No se conoce
GALNT14	2q23.1	Glándulas, Cerebro y riñones	No se conoce
GALNT15	3p25.1	Cerebro, tejido adiposo, Aparato reproductor femenino	No se conoce
GALNT16	14q24.1	Cerebro, Huesos, Tejido adiposo, Hígado, Pulmones, Riñones, Páncreas, Aparato Digestivo y Aparato reproductor masculino, Femenino y glándulas	No se conoce
GALNT17	4q34.1	Cerebro, aparato reproductor Masculino y Aparato reproductor Femenino	No se conoce
GALNT18	11p15.3	Cerebro, Huesos, Tejido adiposo, Hígado, Pulmones, Riñones, Páncreas, Aparato Digestivo y Aparato reproductor masculino, Femenino y glándulas	No se conoce
GALNT19	7q11.23	No se conoce	No se conoce
GALNT20	7q36.1	No se conoce	No se conoce

Cada enzima tiene una distribución discreta en los tejidos adultos al igual que una regulación espacial y temporal durante el desarrollo. Algunas de estas isoformas se encuentran en un amplio rango de tejidos y actúan sobre un gran repertorio de sustratos en el caso de las enzimas GalNAc transferasas 1 y 2 (GalNAc -T1 y -T2), el sustrato es una cadena polipeptídica sin ningún residuo de carbohidrato unido a ella, mientras otras están más restringidas tanto en expresión como en la preferencia por el sustrato (GalNAc -T5 -T7 -T10 -T11 -T12), estas enzimas requieren la presencia de uno o más residuos de GalNAc unidos a la cadena polipeptídica (25). Las enzimas GalNAc-T1 y -T2 se expresan baja o moderadamente en todos los órganos humanos examinados, incluyendo corazón, cerebro, placenta, pulmón, hígado, músculo esquelético, riñón y páncreas. La similitud de estas 2 enzimas es de un 44% diferenciándose en la secuencia amino terminal, pero teniendo una importante similitud en el área central de los dominios catalíticos se ha detectado en una variedad de tejidos humanos normales, pero en niveles diferentes, pero la expresión parece estar más restringida que para T1 y T2 ya que se expresa más en intestino delgado y estómago. La expresión de GalNAc-T3 se observa principalmente en epitelios glandulares como páncreas, testículos, riñón, próstata, ovario, bazo, intestino.

La sobre expresión de GALNT1 en el carcinoma hepatocelular, se ha asociado a la capacidad de las celulares tumorales para migrar a otros tejidos, por un aumento en la O-glicosilación del factor de crecimiento epidérmico, igualmente una disminución en la expresión de esta enzima disminuye el poder invasivo de las células tumorales (25).

La sobreexpresión de GALNT2 se relaciona con una alterada expresión del antígeno Tn en células de neuroblastoma, lo que favorece su proliferación, debido a una pérdida en la dimerización del receptor del factor de crecimiento insulínico tipo 1 (IGF-1R) (26). La sobre expresión de GALNT3 en cáncer gástrico, correlaciona con su grado de diferenciación (26).

La GALNT4 es una enzima que está relacionada con el cáncer de mama, debido a que participan en la vía de señalización de los estrógenos (25). La expresión de la enzima GALNT5 correlaciona con la diferenciación del cáncer gástrico, encontrándose muy expresada en carcinoma gástrico bien diferenciado, mientras que en el grado moderado y leve su expresión es muy baja (26). GALNT6, se asocia con el cáncer de mama, mientras que la enzima GALNT7 se relaciona con el cáncer de laringe, carcinoma hepatocelular y carcinoma cervicouterino (26). La participación de GALNT8 y

TABLA 2
GALNAC TRANSFERASAS ASOCIADAS AL CÁNCER DE MAMA

ENZIMA	TIPO DE CANCER DE MAMA
GALNT1	carcinoma <i>in situ</i> y carcinoma ductal infiltrante
GALNT2	carcinoma <i>in situ</i> y carcinoma ductal infiltrante
GALNT4	fibroadenoma, carcinoma <i>in situ</i> y carcinoma ductal infiltrante
GALNT6	fibroadenoma, carcinoma <i>in situ</i> y carcinoma ductal infiltrante
GALNT9	carcinoma <i>in situ</i> y carcinoma ductal infiltrante
GALNT14	fibroadenoma, carcinoma <i>in situ</i> y carcinoma ductal infiltrante

GALNT9 en el desarrollo del algún tipo de cáncer no es muy clara, mientras que GALNT10 se ha asociado al desarrollo de carcinoma hepatocelular donde exista la presencia del virus de hepatitis B, GALNT11 se relaciona con la leucemia crónica linfocítica, GALNT12 se encuentra asociado al cáncer colon rectal hereditario, la GALNT13, está implicada en el desarrollo de neuroblastoma y la GALNT14 implicada en el desarrollo de cáncer ovario, páncreas y pulmón (25).

EL PAPEL DE LAS GalNAc-TRANSFERASAS EN CÁNCER DE MAMA

El carcinoma ductal infiltrante es el tipo de cáncer de la glándula mamaria más frecuente en las mujeres y el que ocasiona la mayoría de las muertes, la mayoría de las GalNAc transferasas se han reportado en este tipo de carcinoma, alterando la glicosilación de las mucinas. En la Tabla 2 se muestran las GalNAc transferasas que se han asociado al cáncer de mama. Las mucinas glicoproteínas que se encuentran de manera soluble o unida a membrana. Se encuentran ampliamente distribuidas en los epitelios, presentan una gran cantidad de O-glicanos que representan más del 50% del peso de la proteína, con regiones repetidas y de tamaño variable, con aminoácidos Ser/Thr/Pro (VNTR, por sus siglas en inglés). Alteraciones en la síntesis de los O-glicanos característicos de estas proteínas, influye en el crecimiento y la capacidad de metastatizar hacia otros órganos, así por ejemplo: La GNT1, es responsable de la formación del antígeno Tn (GalNAc-O-Ser/Thr), cuando esta glicosiltransferasa es inhibida usando

RNAi, provoca una disminución en la terminación de ácido sálico en posición $\alpha 2,3$ del O-glicano, lo cual se ha asociado con la auto proteólisis de MMP-14, disminuyendo la capacidad invasivas de las células tumorales (26).

Mensajeros de RNA de GALNT6, pueden ser utilizados como marcadores específicos de diagnóstico para la diseminación del cáncer de mama (26). La O-glicosilación de la fibronectina se debe principalmente a la acción de la GALNT6, estudios en células epiteliales, a las cuales se la había sobre expresado GALNT6, se observó, que eliminando la expresión de fibronectina, se abatía la capacidad de las células de proliferar (27).

La GALNT4, regula la red de respuesta a estrógenos a través de FOXA1, un factor de transcripción cuya función es la de promover, la expresión de genes de respuesta a estrógenos, actúa como cofactor del receptor de estrógenos alfa, al parecer la GALNT4, está implicada en la glicosilación de FOXA1, como lo ha demostrado la eliminación de esta enzima en células epiteliales mamarias sensibles a estrógenos (27). Recientemente se ha reportado que el uso del micro RNA-365 (miR-365), tiene como blanco la GALNT4, así que la disminución de miR-365 favorece la carcinogénesis vía la activación de GALNT4 (28).

La metilación de genes que codifican para las GALNTs, puede ser de importancia para el desarrollo del cáncer de mama, así por ejemplo: el gen de la GALNT9 se encuentra metiliado en el 55% de las veces, de esta manera la metilación promueve el silenciamiento de este gen, en la mayoría de los tumores primarios que migran hacia cerebro, se ha observado que el gen de la GALNT9 no está metiliado, lo que provoca que la enzima se encuentre

funcional en este tipo de tumores, favoreciendo la glicosilación de proteínas que promueven la migración de la glándula mamaria hacia el cerebro (27).

GALNT14 se expresa heterogéneamente en fibroadenoma, carcinoma *in situ*, carcinoma lobulillar y principalmente en el carcinoma ductal infiltrante, juega un papel importante en la migración e invasión de las células tumorales, debido a que regula la actividad de la metaloproteinasas de matriz tipo 2 y la expresión de N-caderinas, vimentina y factor de crecimiento endotelial (27).

CONCLUSIONES

La O-glicosilación es una de las modificaciones más abundante en las proteínas. El inicio de esta modificación es catalizado por al menos 20 GalNAc-transferasas. En los últimos años, el papel que juegan las enzimas que inician la O-glicosilación de las proteínas se ha ido documentando. GALNT6 es la enzima más estudiada y contribuye al desarrollo y progresión del cancer de mama. GALNT4 y GALNT14 actúan como reguladoras para el desarrollo del cáncer de mama, invasión y migración, uno de los reguladores negativos reportados es. ERK8. La metilación también podría actuar como un mecanismo de regulación de las GALNTs y podría contribuir a la metástasis del cáncer de mama. Sin embargo, el papel de otros miembros de la familia de GALNTs en el desarrollo del cáncer de mama, no ha sido reportado, debido a la gran diversidad y especificidad de la O-glicosilación. Las oncoproteínas que sufren O-glicosilación podrían ser utilizadas como blancos terapéuticos para el tratamiento del cáncer de mama. 

REFERENCIAS

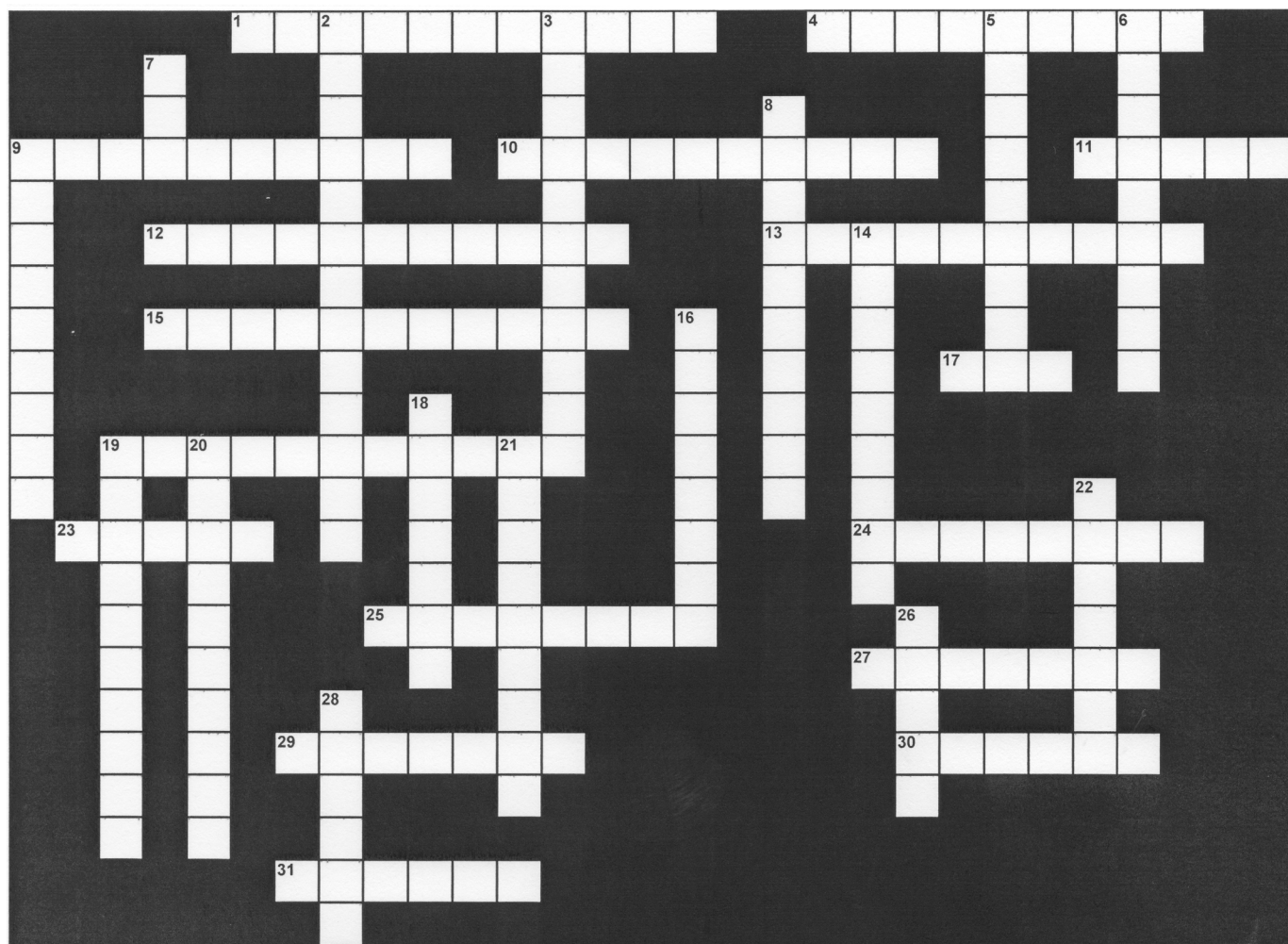
1. Zhang H, Zhu F, Yang T, Ding L, Zhou M, Li J, Haslam SM, Dell A, Erlandsen H y Wu H (2014). The highly conserved domain of unknown function 1792 has a distinct glycosyltransferase fold. *Nat. Commun.* 5: 4339
2. Varki A y Kornfeld S (2017). *Essentials of Glycobiology*, 3rd edition (Tercera ed.). Cold Spring Harbor (NY), E.U.: Cold Spring Harbor Laboratory Press.
3. Bennett E, Mandel U, Clausen H, Gerken T, Fritz T y Tabak, L. (2012). Control of mucin-type O-glycosylation: A classification of the polypeptide GalNAc-transferase gene family. *Glycobiology*. 22: 736-756.
4. Lairson L, Henrissat B, Davies G, y Withers, S. (2008). Glycosyltransferases: Structures, Functions, and Mechanism. *Annual Review of Biochemistry* 77: 521-55.
5. DeAngelisE, WatkinsA, SchäferM, Brümmendorf T y Kenwright S (2002). Diseaseassociated mutations in L1 CAM interfere with ligand interactions and cell-surface expression. *Hum. Mol. Genet.* 11: 1-12
6. Markine-Goriaynoff, N (2004). Glycosyltransferases encoded by viruses. *J. Gen. Virol.* 85: 2741-2754

7. Yamamoto F, Clausen H, White T, Marken J. y Hakomori, S (1990). Molecular genetic basis of the histo-blood group ABO system. *Nature* 345: 229–233.
8. Talbot P (2002). Cell Adhesion and Fertilization: Steps in Oocyte Transport, Sperm-ZonaPellucida Interactions, and Sperm-Egg Fusion. *Biol. Reprod.* 68: 1–9
9. Hakomori S (2002).. Glycosylation defining cancer malignancy: new wine in an old bottle. *Proc.Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 99: 10231–10233
10. Becker DJ y Lowe JB (2003). Fucose: biosynthesis and biological function in mammals. *Glycobiology* 13: 41R–53R
11. Rudd PM. (2001). Glycosylation and the Immune System. *Science.* 291: 2370–2376
12. Cantarel B, Coutinho P, Rancurel C, Bernard T, Lombard V y Henrissat B (2009). The Carbohydrate-Active EnZymes database (CAZy): an expert resource for Glycogenomics. *Nucleic Acids Res* 37: 233–238.
13. Campbell JA, Davies GJ, Bulone V y Henrissat B (1997). A classification of nucleotide-diphospho-sugar glycosyltransferases based on amino acid sequence similarities. *Biochem. J* 326: 929–939.
14. Coutinho PM, Deleury E, Davies GJ, y Henrissat B (2003). An evolving hierarchical family classification for glycosyltransferases. *J Mol Biol* 328: 307–17.
15. Breton C, Fournel-Gigleux S, G y Palcic MM (2012). Recent structures, evolution and mechanisms of glycosyltransferases. *Curr Opin Struct Biol* 22: 540–549.
16. Breton C, Snajdrova L, Jeanneau C, Koca J, e Imberty A (2006) Structures and mechanisms of glycosyltransferases. *Glycobiology* 16: p. 29R–37R.
17. Henrissat B, Sulzenbacher G, y Bourne Y (2008).Glycosyltransferases, glycoside hydrolases: surprise, surprise! *Curr Opin Struct Biol* 18: 527–5233.
18. Lizak C, Gerber S, Numao S, Aebi M y Locher KP (2011). X-ray structure of a bacterial oligosaccharyltransferase. *Nature.* 474: 350–355.
19. Qasba PK, Ramakrishnan B, y Boeggeman E (2005) Substrate-induced conformational changes in glycosyltransferases. *Trends Biochem Sci* 30: 53–62.
20. Charnock SJ y Davies GJ (1999) Structure of the nucleotide-diphospho-sugar transferase, SpsA from *Bacillus subtilis*, in native and nucleotide-complexed forms. *Biochemistry* 38: 6380–6385.
21. Liu J y Mushegian A (2003). Three monophyletic superfamilies account for the majority of the known glycosyltransferases. *Protein Sci.* 12: 1418–1431.
22. Wu C, Guo X, Wang W, Wang Y, Shan Y, Zhang B y Zhu, M. (2010). RNes-eAarcch eartticylelgalactosaminyltransferase-14 as a potential biomarker for breast cancer by immunohistochemistry. *BMC* 10: 1–8.
23. Freire T, Berois N, Sónora C, Varangot M, Barrios E, Osinaga E (2006) UDP-N-acetyl-D -galactosamine: polypeptide N-acetylgalactosaminyltransferase 6 (ppGalNAc-T6) mRNA as a potential new marker for detection of bone marrow-disseminated breast cancer cells. *International Journal of Cancer* 119:1383–1388.
24. Hang HC, Bertozzi CR (2005) The chemistry and biology of mucin-type O-linked glycosylation. *Architecture* 13:5021–5034.
25. Pratt MR, Hang HC, Hagen KGT, Rarick J, Gerken TA, Tabak LA, Bertozzi CR (2004) Deconvoluting the Functions of Polypeptide N-alpha-Acetylgalactosaminyltransferase Family Members by Glycopeptide Substrate Profiling. *Chemistry & Biology* 11:1009–1016
26. Qiu H, Xu X, Liu M, Wang Z, Yuan Y, Liu C, Xu, L y Wu, S. (2017). RNA interference-mediated silencing of ppGalNAc-T1 and ppGalNAc-T2 inhibits invasion and increases chemosensitivity potentially by reducing terminal α2,3 sialylation and MMP14 expression in triple-negative breast cancer cells. *Molecular Medicine Reports* 15: 3724–3734. <https://doi.org/10.3892/mmr.2017.6449>
27. Yang R, Zhang H, Ma Y, Gong S, Niu J, Ma J, Zhong A (2015) The role of ppGalNAc-T family in breast cancer development and progression. *Indian Journal of Cancer* 52: 144–147.
28. Zhang J, Zhang Z, Wang Q, Xing XJ, Zhao Y. (2016). Overexpression of microRNA-365 inhibits breast cancer cell growth and chemoresistance through GALNT4. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 20:4710–4718.

CRUCIBIOQ[®]

CONCEPTOS DE BIOLOGÍA CELULAR

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



HORIZONTALES

- 1** Ocurre al final de la fase M del ciclo celular, el citoplasma de una célula animal se divide en dos, ayudado por filamentos de actina y miosina, la célula se estrangula y da lugar a dos células hijas conteniendo cada una de ellas su núcleo.
- 4** Las _____ son procariontes, su reproducción es por fisión binaria, su capacidad reproduc-
- 9** Estas se realizan debido a una alteración en el DNA, ya sea por sustitución, delección o inserción de una de las bases nitrogenadas, lo que da lugar a un codón diferente que conduce a que se presente un aminoácido incorrecto.
- 10** La DNA _____ es la enzima que sintetiza a la molécula que posee la información genética utilizando las cadenas parentales como molde; adiciona los nucleótidos al extremo 3' de la

tiva es muy alta. En un lapso de 12 horas, por reiteradas divisiones, una sola de esas entidades puede dar lugar a una progenie de 8 000 millones.

cadena en crecimiento mediante la formación de un enlace fosfodiéster entre ese extremo y el fosfato 5' del nucleótido que se adiciona.

- 11** Entidades parasitarias infecciosas, constituidas generalmente por RNA o DNA rodeadas por proteína; sin capacidad reproductora y para llevar a cabo los procesos de su propagación, aprovechan los recursos de la célula huésped.
- 12** Orgánulo de la célula eucarionte, ahí se genera la energía química necesaria para que se realicen las funciones celulares, el mecanismo por el cual se realiza este proceso es mediante la oxidación de metabolitos que conducen a la producción de ATP y la liberación de CO₂.
- 13** Una vez que la información genética del DNA ha sido codificada en el mRNA, por este proceso en los ribosomas se seleccionan los aminoácidos para sintetizar una secuencia polipeptídica.
- 15** Las dos bandas del DNA son complementarias, con este término se identifica el proceso mediante el cual cada una de ellas sirve de patrón para la formación de una nueva, una vez que la doble hélice se ha abierto.
- 17** Siglas de la molécula que posee la información genética mediante una secuencia lineal de tripletes de nucleótidos, en el humano aproximadamente el 90% de los cerca de 3,000 millones de pares de bases (3×10^9), no lleva información codificante.
- 19** Son los organismos que contienen células con núcleo, su nombre proviene del griego eu que significa verdadero y *karyon*, grano o núcleo, en este orgánulo se encuentran los cromosomas que están constituidos por DNA y proteínas.
- 23** Es la secuencia de tres nucleótidos en el DNA que codifica a un aminoácido determinado para la síntesis de proteínas o puede tener información para la terminación de la traducción.
- 24** En la mayoría de los genes eucariontes, la secuencia de nucleótidos con codificación genética se encuentran interrumpidas por la presencia de secuencias no codificadoras, estos _____ son eliminados antes de la traducción.
- 25** Término derivado del griego γένεσις que significa origen, es la ciencia que estudia cómo se transmite la herencia biológica de generación en generación mediante la participación del DNA y de los diferentes RNA.
- 27** Se designa ciclo _____ al proceso constituido de cuatro fases mediante el cual las células eucariontes se dividen: la S que es la síntesis de DNA, en la G₂ se sintetizan proteínas nuevas y la célula aumenta su tamaño, la tercera es la M corresponde a la mitosis y citocinesis, finalmente la G₁ que corresponde a la interfase

entre el final de la fase M y el inicio de la S; todas las fases están reguladas por proteínas codificadas por genes reguladores.

- 29** Dependiendo de la complejidad de los organismos se tiene el número de genes, en _____ es alrededor de 30,000, mientras que en *Drosophila* son aproximadamente 14,000; en *E coli* 4,289 y 10 genes en un bacteriófago pequeño.
- 30** Como regla general los genes de los organismos superiores están estructurados en secciones de secuencias codificantes llamados _____ y no codificantes llamados intrones.
- 31** Es la biblioteca donde se tiene toda la información genética, con este término que engloba todo el material genético de un organismo, tanto el que se expresa en el fenotipo como el que puede expresarse en futuras generaciones.

VERTICALES

- 2** Este mecanismo se realiza debido a que una cadena del DNA transporta la información a una molécula de RNA, cuando éste es mRNA, la secuencia de bases de esta molécula sirve como molde para que con la participación de tRNA se lleve a cabo la selección de los aminoácidos que constituyen una proteína.
- 3** Nombre del proceso por el cual la célula eucarionte introduce líquidos o partículas grandes, el material ingerido primero es encerrado en una porción de la membrana plasmática, mediante una invaginación se desprende como una vesícula y posteriormente es enviado a los lisosomas donde es digerido.
- 5** Proceso por el cual los organismos a través de miles de millones de generaciones se han ido modificando y adaptando a su medio ambiente a partir de mutaciones.
- 6** En la molécula del RNA de transferencia es la secuencia de tres nucleótidos que es complementaria al codón del RNA mensajero, mediante este apareamiento es seleccionado un aminoácido para la síntesis de una proteína.
- 7** La _____ polimerasa es la enzima que al desplazarse sobre el DNA lo desenrolla y va agregando nucleótidos a la cadena que se está sintetizando conforme al molde de la cadena de origen. El transcrito es monocatenario y complementario a un segmento de una de las dos bandas del DNA.
- 8** Complejo proteínico de las células eucariontes presente en el citosol mediante el

cual las proteasas degradan a las proteínas de vida corta y las mal plegadas, si estas últimas no se degradan pueden ocasionar trastornos neurodegenerativos, como las enfermedades de Huntington, Alzheimer y Creutzfeldt-Jacob.

- 9** Es el RNA que por la acción de una polimerasa específica, capta la información retenida en el DNA para posteriormente transmitirla a otras moléculas, el proceso culmina en la síntesis de proteínas.
- 14** Así se define a la muerte celular programada la cual puede ocurrir ya sea para eliminar una célula que ha dejado de ser necesaria durante el desarrollo o bien para eliminar una que ha sido dañada.
- 16** Término que involucra aspectos que tienen relación con la biología molecular y celular, además de múltiples conceptos: secuenciación de ácidos nucleicos, almacenamiento, recopilación y manejo de datos, evolución e identificación génica, entre otros.
- 18** Las mutaciones peligrosas ocurridas en los genes hacen que éstos se activen excesivamente, tienen un efecto dominante y sólo una copia mutada de un gen con estas características, basta para producir problemas que desencadenan en cáncer.
- 19** Por este mecanismo los carbohidratos, lípidos y proteínas sintetizados en la célula salen de ella a través de vesículas que se fusionan con la membrana plasmática y permiten su secreción; en los diferentes pasos de este proceso se controla el adecuado plegamiento de las proteínas para ser exportadas correctamente.
- 20** Estructuras filiformes presentes en el núcleo de las células eucarióticas, constituidas por DNA y proteínas; en los 46 que tiene la especie humana está contenida toda su información genética.
- 21** La _____ génica es el proceso mediante el cual la información presente en un gen influye sobre una célula u organismo induciendo la síntesis de una proteína con una función específica.
- 22** Es una de las etapas de la mitosis, en ella las dos cromátidas hermanas de cada cromosoma se separan y el huso las desplaza hacia los polos opuestos de la célula.
- 26** Así se define a los segmentos de DNA que dentro de los cromosomas codifica la información para sintetizar una proteína en particular o en ocasiones varias proteínas con parentesco.
- 28** En la célula eucarionte es el orgánulo que contiene moléculas de DNA y proteínas asociadas constituyendo a los cromosomas, encargados de transportar la información genética.

Sydney Brenner: el Hombre Visionario que nos hizo Mirar al *Caenorhabditis elegans*

M en C. Laura Silvia Salinas y Dra. Rosa Estela Navarro

Departamento de Biología Celular y Desarrollo
Instituto de Fisiología Celular, Universidad Nacional Autónoma de México

Los grandes descubrimientos científicos a veces ocurren por serendipia, es decir son accidentales o casuales, sin embargo en ocasiones gente visionaria marca el rumbo de la investigación y la dirige hacia descubrimientos revolucionarios. La gran visión de Sydney Brenner nos enseñó que para hacer contribuciones importantes a la ciencia no se necesitan preguntas sofisticadas ni modelos complejos.

Sydney Brenner nació el 13 de Enero de 1927, en la ciudad de Germiston, al este de la provincia de Gauteng en Sudáfrica. Recibió su educación en medicina en Johannesburgo en la Universidad de Witwatersrand. Su doctorado lo realizó en Inglaterra, en la Universidad de Oxford en donde obtuvo el grado en 1952. En su doctorado realizó diversos estudios enfocados a entender las bases de la biología molecular usando modelos sencillos como bacteriófagos y bacterias.

Durante casi dos décadas, Sydney trabajó arduamente de la mano de Francis Crick estudiando las bases genéticas y el desciframiento del código genético en el Laboratorio de Biología Molecular de Cambridge. En aquella época, el tema candente en la investigación era entender como funcionaba el DNA. Junto con Francois Jacob y Matthew Meselson descubrió al RNA mensajero, el intermediario en la lectura del DNA y la producción de una proteína. Con Francis Crick demostró que el código genético está compuesto de tripletes y cada triplete es leído durante el proceso de traducción como un aminoácido para hacer una proteína.

En 1962, el Premio Nobel de Medicina fue entregado a Francis Crick, James Watson y Maurice Wilkins "por sus descubrimientos concernientes a la estructura molecular de los ácidos desoxirribonucleicos (DNA) y su importancia para la transferencia de la información en la materia viva". Después de que la información básica de cómo se transfiere la información de los genes a las proteínas había

sido discernida, Brenner decidió buscar una nueva pregunta para continuar su investigación, su pregunta era cómo los genes pueden dar lugar a ciertas características en los individuos. Así fue como al inicio de la década de los 60s, el joven Brenner, a los treinta años, comenzaría la búsqueda de un modelo animal que le permitiera contestar sus inquietudes acerca de cómo se desarrolla un organismo y cómo se determina el comportamiento.

A inicios de los 60s George Streisinger y Seymour Benzer habían comenzado a realizar estudios genéticos utilizando al pez cebra y a la mosca de la fruta pero Sydney Brenner consideró que estos organismos eran muy complejos para responder las preguntas que él quería hacer. Basándose en su experiencia con las bacterias y sus bacteriófagos, él buscaba un organismo pequeño, de fácil mantenimiento en el laboratorio, que contara con un número reducido de neuronas, que pudiera ser visualizado con facilidad bajo el microscopio y en que se pudiera hacer genética. Estas características las cumplía el nematodo *Caenorhabditis elegans*, lo que lo llevó a utilizarlo como modelo en su investigación. Su meta fue establecer las bases genéticas para poder cultivarlo en el laboratorio y hacer mutagénesis que permitieran identificar la función de los genes.

Sydney Brenner reclutó a un grupo de científicos entusiastas y talentosos como John Sulston y Robert Horvitz quienes mapearon el destino de cada una de las células del organismo y realizaron mutagénesis que los llevaría más adelante a descubrir los mecanismos básicos de la muerte celular programada o apoptosis. En 1967, junto con John Sulston y Robert Horvitz, comenzó con la identificación de cada una de las células que conforman al gusano y construyó con ello el primer linaje celular del desarrollo de un organismo. Casi una década más tarde, en 1974 publicaron en la revista *Genetics* su artículo titulado "*The Genetics of Caenorhabditis elegans*" en donde Brenner y sus colaboradores abordaron una de las

preguntas mas visionarias para su época, cómo los genes pueden especificar estructuras complejas en los organismos superiores. En este trabajo, reportó el aislamiento de cientos de mutantes de *C. elegans*, en dónde realizando ensayos de complementación y de mapeo, Brenner describió cerca de cien genes asociados a los fenotipos reportados. Por sus grandes contribuciones a la ciencia, Sydney Brenner, Jonh Soulston y Robert Horvitz recibieron el premio Nobel de Medicina en el 2002.

Además del arduo trabajo genético, Sydney Brenner lanzó un proyecto junto con Nichol Thompson para determinar la estructura del nematodo por microscopía electrónica que fue completado por John White y Eileen Southgate, quienes más tarde lograron tener la descripción del sistema nervioso de un organismo por primera vez.

En 1975, en una conferencia en Asilomar, en los Estados Unidos de Norteamérica, anuncio que secuenciaría el genoma del *C. elegans*. Junto con John Sulston había determinado que el genoma del *C. elegans* era únicamente 20 veces más grande que el genoma de la bacteria *E. coli* y, en 1998, se publicó el primer genoma completo de este animal, el primero en su tipo.

En 1996, Sydney Brenner fundó el Instituto de Ciencias Moleculares en Berkeley, California y durante muchos años fue profesor distinguido en el Instituto Salk en La Jolla, California. Brenner escribió numerosos libros, entre los que destacan

"Complex genetic programmes" (1976), "Loose ends from current biology" (1997) así como "In the Spirit of science: Lectures by Sydney Brenner on DNA, worms and brains" (2018), entre otras obras. La obra completa de Sydney Brenner así como sus aportaciones al campo de la biología molecular y del desarrollo siguen vigentes en un siglo en el que la clonación de genes, la secuenciación genética y la obtención de animales mutantes son actividades cotidianas en diversos laboratorios en todo el mundo.

El 5 de Abril de este año, a la edad de 92 años, Sydney Brenner murió en Singapur. Nos queda su legado, el *C. elegans* uno de los organismos más utilizados en el campo de la biología del desarrollo.

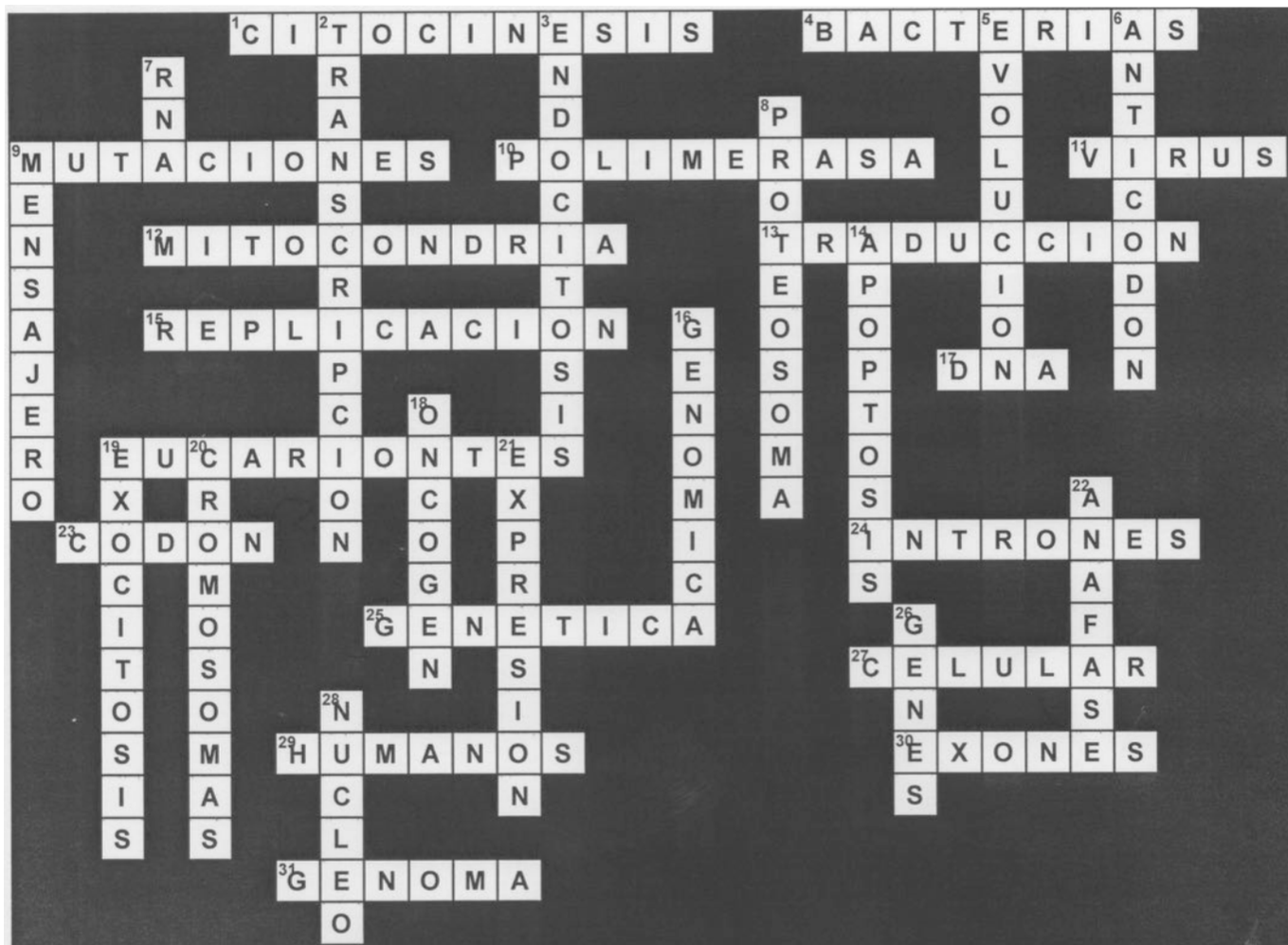
Referencias

1. Goldstein B. (2016). Sydney Brenner on the Genetics of *Caenorhabditis elegans*. Genetics. 204:1-2.
2. Chadarevian, S. (2009). Interview with Sydney Brenner. Studies in history and Philosophy of Biological and Biomedical Sciences. 40: 65-71.
3. Brenner, S. Nature's Gift to Science (Nobel Lecture). 2003 ChemBioChem. 4:683-687.
4. Brenner, S. Nature's Gift to Science. 2002. Bioscience Reports. 23:225-237.

SOLUCIÓN AL CRUCIBIOQ[®]

CONCEPTOS DE BIOLOGÍA CELULAR

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



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

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

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

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

- 1) Portada. En el primer párrafo incluir el título, el cual debe de ser claro, simple, atractivo y evitar las abreviaturas o en su caso, definir las al inicio del texto. En el siguiente párrafo se anotarán los nombres completos de los autores, iniciando por el nombre propio completo. La afiliación de los autores se escribirá en el siguiente párrafo, indicando departamento, institución, ciudad, estado y país y la dirección de correo electrónico del autor responsable. La afiliación de los autores se indicará con números entre paréntesis. Se proporcionará un título breve con un máximo de 60 caracteres.
- 2) Resumen. Se deberán incluir dos resúmenes, uno en idioma español y uno en inglés (Abstract) de no más de 350 caracteres.
- 3) Palabras clave. Se deberá proporcionar de tres a seis palabras clave en idioma español y en inglés.
- 4) Texto. El artículo deberá ser escrito en el procesador de textos "Word", con una extensión máxima recomendada de 15 cuartillas a doble espacio, en "Times New Roman 12" como fuente de la letra, sin formato de texto, tabuladores o pies de página. Las figuras y tablas se presentarán separadas del texto.
- 5) Referencias. Se indicarán en el texto con números entre paréntesis de acuerdo a su orden de aparición. Las referencias se enlistarán al final del trabajo y deben contener para los artículos: apellidos e iniciales de todos los autores, año

de publicación entre paréntesis, título completo del artículo y después de un punto, el nombre oficial de la revista abreviado como aparece en el Current Contents, número del volumen y antecedido por dos puntos, el número de la primera y última páginas, de acuerdo con el siguiente ejemplo: Martin GM, Austad SN, Johnson TE (1996) Generic analysis of ageing: role of oxidative damage and environmental stresses. Nature Gen 113:25-34. Los artículos en libros deberán citarse de la siguiente forma: Wood KJ (1992) Tolerance to alloantigens. En: The Molecular Biology of Immunosuppression. Editor: Thomson A W. John Wiley and Sons Ltd, Ann Arbor, Michigan, USA, pp 81-104. Los libros podrán incluir las páginas totales o las consultadas y se citarán de acuerdo con este ejemplo: Lehninger AL, Nelson DL, Cox MM (1993) Principles of Biochemistry. Worth Publishers, New York, NY, USA, p 1013.

- 6) Figuras y Tablas. Las figuras se pueden presentar en formato "jpg" o integradas en un archivo de "Power Point" o del mismo "Word" separadas del texto del artículo. Las figuras pueden presentarse en colores, con fondo y sombreado. Las tablas deben de estar en "Word" sin formatos especiales y separadas del texto del artículo. Las figuras y las tablas se deberán numerar con arábigos. Las leyendas y los pies de figuras se deberán presentar en una hoja aparte. Se deberá considerar que las figuras y las tablas se reducirán a la mitad o a un cuarto de las dimensiones de una hoja tamaño carta; las letras y números más pequeños no deben ser menores de dos milímetros después de la reducción. En caso de emplear figuras previamente publicadas, deberá darse el crédito correspondiente y en su caso

obtener el permiso para su publicación. Las figuras dentro del texto deberán mencionarse con minúsculas, la palabra entera y sin paréntesis; cuando se haga referencia a ellas deberá citarse con la abreviatura, la primera letra mayúscula y entre paréntesis (Fig. 2). Las tablas siempre llevarán la primera letra a mayúscula y entre paréntesis (Tabla 2).

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

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

- 1) El contenido deberá ser desarrollado en forma resumida y de una manera explícita.
- 2) Se aceptará un máximo de 10 referencias que se citarán entre paréntesis en el texto, como se indica en el inciso I-5. Se podrán incluir figuras o tablas, con las características que se indican en el inciso I-6.

Los manuscritos que no cumplan con las especificaciones de la Revista no serán aceptados de primera instancia para su revisión.

Los manuscritos serán evaluados por lo menos por tres revisores seleccionados por el Comité Editorial a quienes se les enviará el trabajo con los autores en anónimo y quienes en todo momento permanecerán anónimos para los autores y entre

ellos; los revisores opinarán sobre la relevancia del trabajo en un lapso no mayor a un mes. Las correcciones y sugerencias de los revisores serán enviadas con anonimato entre ellos al Editor en Jefe. El resultado de la evaluación puede ser: rechazado, enviado para correcciones o aceptado. Una vez obtenida una evaluación global, el Editor en Jefe enviará las evaluaciones al autor responsable para que corrija e incorpore en el manuscrito las diferentes observaciones o en su caso, indique su opinión a observaciones que considere discutibles en los dictámenes de los revisores. El manuscrito corregido por los autores deberá ser devuelto a la Revista, en un lapso no mayor a 30 días naturales; de otra forma se considerará como un manuscrito enviado por primera vez. De ser necesario el Comité Editorial podrá enviar nuevamente el manuscrito corregido a los revisores para tener una nueva ronda de revisión, todo ello continuando con el anonimato. Una vez aceptado el trabajo, las pruebas de galera, se enviarán al autor responsable.

Los archivos electrónicos se deberán enviar a la Revista de Educación Bioquímica como archivos adjuntos (reb@bq.unam.mx), con atención al Editor en Jefe y a partir de una dirección de correo electrónico que será considerada como la dirección oficial para la comunicación con los autores. El autor responsable deberá indicar plenamente su adscripción con teléfono, dirección electrónica y postal para comunicaciones posteriores. En el texto del mensaje enviado se deberá expresar la solicitud para considerar la posible publicación del artículo, el título del mismo, los nombres completos de los autores y su adscripción institucional, así como el número, tipo y nombre de los archivos electrónicos enviados. En el mismo texto se debe de aclarar que el trabajo no ha sido enviado a otra revista en su forma total o parcial, para su evaluación o que el mismo está en proceso de publicación en otra revista o en otro tipo de publicación. De igual manera se debe de aclarar que no existe conflicto de intereses entre los autores que envían el trabajo.